

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TAPAK LIMAN SEMU  
(*Pseudelephantopus spicatus*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*  
DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

Oleh

**RATNA PUSPITA SARI**

**NIM. 15620064**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TAPAK LIMAN SEMU  
(*Pseudelephantopus spicatus*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*  
DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

Oleh

**RATNA PUSPITA SARI**

**NIM. 15620064**

**Diajukan kepada :**

**Fakultas Sains dan Teknologi**

**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang**

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**

**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TAPAK LIMAN  
SEMU (*Pseudelephantopus spicatus*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**RATNA PUSPITA SARI**  
NIM. 15620064

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:  
Tanggal 4 Desember 2020

**Dosen Pembimbing I**



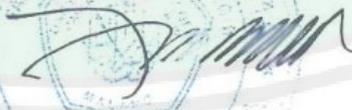
**Dr. Nur Kusmiyati, M. Si**  
NIP. 198908 16201601082061

**Dosen Pembimbing II**



**Dr. Ahmad Barizi, MA**  
NIP. 19731212 199803 1 008

**Mengetahui**  
**Ketua Program Studi Biologi**



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
NIP. 19741018 200312 2 002

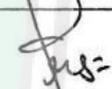
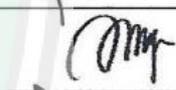
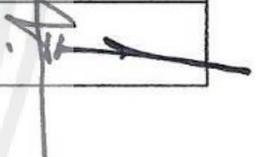
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TAPAK LIMAN  
SEMU (*Pseudelephantopus spicatus*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

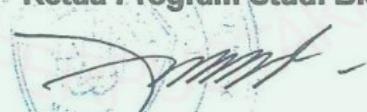
Oleh:  
**RATNA PUSPITA SARI**  
NIM. 15620064

telah dipertahankan  
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima  
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 16 Desember 2020

<b>Penguji Utama</b>	<b><u>Ir. Liliek Harianie AR. M.P</u></b> NIP. 196209011998032001	
<b>Ketua Penguji</b>	<b><u>Priya Dewi Sari. M.Sc</u></b> NIPT. 1990042820160801 2062	
<b>Sekretaris Penguji</b>	<b><u>Dr. Nur Kusmiyati. M.Si</u></b> NIP. 19890816 20160108 2 061	
<b>Anggota Penguji</b>	<b><u>Dr. Ahmad Barizi. M.A</u></b> NIP. 19731212 199803 1 008	

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi

  
**Dr. Evika Sandi Savitri. M.P**  
NIP. 19741018 200312 2 002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah, penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufiq, serta hidayah-Nya atas segala nikmat yang tidak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Agung Muhammad SAW karena Beliau lah yang merubah kegelapan peradapan jahiliah menjadi terang benderang melalui cahaya Islam dan ilmu pengetahuan.

Kiranya penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini mendapatkan banyak bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Slamet Wijaya dan Ibu Wiji yang yang tiada hentinya telah memberikan semangat, doa, nasehat dan materi atas kelancaran skripsi ini. Doa di setiap sujud sholatmu tak lupa menyebut nama kedua anakmu, semoga Allah SWT menghadiahkan surga untukmu. Tak lupa kepada adek tersayang Dicky Saputra terima kasih telah menghibur kakakmu, memberikan dorongan dan semangat. Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk Ony Hendy Nurcahyono tunanganku yang selalu mendukung dan tak lelah memberikan semangat dan menghibur dikala gelisah mengerjakan skripsi.
2. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi. Terimakasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, nasihat, pengarahan, dan dorongan dalam menyusun skripsi ini, semoga Ibu selalu diberi kesehatan, kelancaran rezeki, dan umur yang barokah.
3. Dr. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen pembimbing agama. Terimakasih atas pengarahan, pelajaran, serta teguran atas kelalaian penulis dalam substansi nilai-nilai moral dan agama. Semoga Bapak selalu diberi kesehatan, kelancaran rezeki, dan umur yang barokah.

4. Terimakasih banyak kepada sahabat-sahabatku Ria, Ainun, Ashifa, dan azifa yang selalu menemani dalam suka dan duka. Semoga kita menjadi manusia yang sukses dan bermanfaat di masa depan.
5. Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk sahabat-sahabatku satu angkatan dan teman seperjuanganku “GENETIST 15” dan Kelas “BIOLOGI B 15” untuk dukungan, doa serta semangat dalam setiap langkahku menuntut ilmu hingga sampai pada titik ini.
6. Terimakasih teruntuk teman bimbinganku Wahyu Krisna Aji yang selalu support memberikan banyak pelajaran dan bantuan selama penelitian berlangsung, sehingga tercapailah pada cita-citaku dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teruntuk warga asrama Rahmani khususnya orang tua kosku di Malang Ustadz Fahkrudin, Ibu Rina, terimakasih yang sebesar-besarnya atas dukungan, bimbingan, perlindungan serta ilmu yang telah diberikan kepada saya. Untuk teman-teman asrama Rahmani Fadhila, Whika, Lia, Burhana, Yuli, Taya, Intan, Sa'diyah, dan Hilda yang telah memberikan motivasi dan semangat selama menempuh pendidikan di Malang, sehingga menjadikanku sangat terhibur dikala mulai lelah dalam berjuang.

## MOTTO

*Allah SWT tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat pahala (dari kebajikan) yang diusahakan dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang diperbuatnya.*

*(QS. Al-Baqarah : 286)*

خير الناس أنفعهم للناس

“*Khairunnas anfa’uhum linnas*”

*Sebaik baik manusia adalah yang bermanfaat bagi manusia lainnya*



**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ratna Puspita Sari

NIM : 15620064

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Ntibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Desember 2020

Yang membuat pernyataan

  
Ratna Puspita Sari  
NIM. 15620064

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” merupakan karya tulis yang tidak dipublikasikan dengan hak cipta oleh penulis dan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Akan tetapi, karya tulis ini tersedia dalam lingkungan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan diperkenankan digunakan sebagai sumber referensi dengan pengutipan harus seizin penyusun dan sesuai dengan kaidah penulisan karya tulis ilmiah.



## ABSTRAK

### Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Ratna Puspita Sari, Nur Kusmiyati, Ahmad Barizi

Tumbuhan tapak liman semu (*Pseudelephantopus spicatus*) merupakan tanaman liar yang sering dianggap gulma, tetapi mengandung senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, steroid, dan alkaloid yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tujuan penelitian ini antara lain untuk mengetahui potensi ekstrak *P. spicatus* dalam aktivitas antibakteri, nilai KHM dan KBM terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif kualitatif dan kuantitatif yang terbagi menjadi dua tahap. Tahap pertama untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *P. spicatus* yang diamati dari diameter zona hambat yang dihasilkan. Tahap kedua untuk mengetahui konsentrasi terendah dari kelima konsentrasi (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL ekstrak *P. spicatus* dalam menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan menghitung nilai KHM dan KBM. Nilai KHM dilihat dari selisih nilai OD sebelum dan sesudah inkubasi, sedangkan nilai KBM dilihat dari jumlah koloni bakteri yang hidup pada media NA. Data yang didapatkan dianalisis statistika, diawali dengan uji normalitas dan homogenitas. Data yang normal dan homogen dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah, sedangkan data yang tidak normal dan homogen dilakukan uji Kruskal Wallis. Hasil dari penelitian ini antara lain uji antibakteri ekstrak *P. spicatus* memiliki rata-rata diameter zona hambat 13,49 mm terhadap bakteri *E. coli* dan 18,30 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Pada hasil uji KHM konsentrasi terendah ekstrak *P. spicatus* yang mampu menghambat bakteri *S. aureus* adalah 250 mg/mL dan bakteri *E. coli* adalah 350 mg/mL. Hasil uji KBM masih ditemukan koloni bakteri yang hidup pada semua konsentrasi yang diujikan. Kesimpulannya adalah ekstrak *P. spicatus* memiliki potensi antibakteri, memiliki nilai KHM, tetapi nilai KBM belum ditemukan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

**Kata kunci:** antibakteri, *Pseudelephantopus spicatus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## ABSTRACT

### **Antibacterial Activity Test of Pseudo Tapak Liman (*Pseudelephantopus spicatus*) Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***

Ratna Puspita Sari, Nur Kusmiyati, Ahmad Barizi

Pseudo Tapak liman (*Pseudelephantopus spicatus*) plant is wild plant that are often considered weeds, but has active compounds such as saponins, flavonoids, steroids, and alkaloids which can be used as antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The objectives of this study were to determine the potential of *P. spicatus* extract in antibacterial activity, as well as the MIC and MBC values against *S. aureus* and *E. coli* bacteria. This research was conducted using qualitative and quantitative descriptive methods which are divided into two stages. The first step was to determine the antibacterial activity of *P. spicatus* extract which was observed from the resulting inhibition zone diameter. The second stage was to determine the lowest concentration of the five concentrations (200, 250, 300, 350, 400) mg / mL of *P. spicatus* extract in inhibiting *S. aureus* and *E. coli* bacteria by calculating the MIC and MBC values. The MIC value was seen from the difference in OD values before and after incubation, while the MBC value was seen from the number of bacterial colonies living on NA media. The data obtained were analyzed statistically, beginning with the normality and homogeneity test. Normal and homogeneous data were followed by one-way ANOVA test, while data that was not normal and homogeneous were carried out by the Kruskal Wallis test. The results of this study included the antibacterial test of extract of *P. spicatus* which had an average inhibition zone diameter of 13.49 mm against *E. coli* and 18.30 mm against *S. aureus*. In the MIC test results, the lowest concentration of *P. spicatus* extract which was able to inhibit *S. aureus* bacteria was 250 mg / mL and *E. coli* bacteria was 350 mg / mL. The results of the KBM test were still found living bacterial colonies at all tested concentrations. The conclusion is that *P. spicatus* extract has antibacterial potential, has MIC value, but the value of MBC has not been found against *S. aureus* and *E. coli*.

**Key word:** antibacterial, *Pseudelephantopus spicatus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## الملخص

إختبار نشاط مضاد بكتيريا مستخلص أثر ليمان سامو (*Pseudelephantopus spicatu*) على بكتيريا

*Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*

راتنا فوسفيت. ساري, الدكتور نور كوسمياني, الماجستير والدكتور الحاج أحمد باريزي

إن نبات أثر ليمان سامو (*Pseudelephantopus spicatu*) هو نبات بري غالبا ما يعتبر من الأعشاب الضارة، ولكنه يحتوي على مركبات نشطة مثل الصابونين والفلافونويد والستيرويدات والقلويدات التي يمكن استخدامها كعوامل مضادة للجراثيم على بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. الهدف من هذا البحث لمعرفة إمكانات مستخلص *P. spicatus* في النشاط المضاد للبكتيريا، بالإضافة إلى قيم KBM و KHM على بكتيريا *S. aureus* و *E. coli*. تم إجراء هذا البحث باستخدام الأساليب الوصفية النوعية والكمية التي تنقسم إلى مرحلتين. كانت المرحلة الأولى هي لمعرفة نشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص *P. spicatus* الملاحظة من قطر منطقة التثبيط الناتج. أما المرحلة الثانية لمعرفة أقل تركيز للتركيزات الخمسة (200، 250، 300، 350، 400) ملجم/ مل من مستخلص *P. spicatus* في تثبيط بكتيريا *S. aureus* و *E. coli* عن طريق حساب قيم KBM و KHM. عرفت قيمة KHM من الاختلاف في قيم OD قبل الحضانة وبعدها، أما قيمة KBM عرفت من عدد المستعمرات البكتيرية التي تعيش على وسط NA. وتحليل البيانات التي تم الحصول عليها إحصائيا، بدءا من اختبار الطبيعية والتجانسية. تم اتباع البيانات الطبيعية والمتجانسية من خلال اختبار ANOVA أحادي الاتجاه، والبيانات غير الطبيعية والمتجانسية بواسطة اختبار Kruskal Wallis. دلت نتائج هذا البحث على أن اختبار المضاد للبكتيريا لمستخلص *P. spicatus* الذي يبلغ قطر منطقة التثبيط فيه 13.49 ملم ضد بكتيريا *E. coli* و 18.30 ملم ضد بكتيريا *S. aureus*. في نتائج اختبار KHM، كان أقل تركيز لمستخلص *P. spicatus* الذي يقدر أن يتثبط بكتيريا *S. aureus* هو 250 مجم/ مل وبكتيريا *E. coli* هو 350 مجم / مل. لا تزال نتائج اختبار KBM موجودة في مستعمرات بكتيرية حية في جميع التركيزات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: مضاد بكتيريا، *Pseudelephantopus spicatus*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*

## KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang penulis panjatkan segala syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, tauhid, dan hidayahNya, sehingga kami dapat menyelesaikan rangkaian penyusunan skripsi dengan judul penelitian “Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”. Sholawat serta salam semoga selalu terlimpah curahkan bagi baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa cahaya kebenaran bagi umatnya.

Penulis haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanan jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini, sehingga dengan hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Dr. Nur Kusmiyati, M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen Pembimbing Utama dan dosen Pembimbing Agama, yang senantiasa memberikan pengarahan, nasihat, dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
5. Ir. Liliek Harianie A.R, M.P dan Prilya Dewi Sari, M.Sc selaku penguji utama dan ketua penguji skripsi yang senantiasa memberikan pengarahan, nasehat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi.
6. Ir. Liliek Harianie A.R, M.P selaku Dosen Wali yang senantiasa memberikan motivasi, nasihat, dan pengarahan.
7. Segenap Dosen dan Sivitas Akademika Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Kedua orang tua penulis Bapak Slamet Wijaya dan Ibu Wiji yang telah sabar memberikan motivasi, doa, serta dorongan semangat sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.

9. Teman-teman Biologi angkatan 2015 terima kasih atas bantuan serta kerjasamanya dalam menyelesaikan studi selama perkuliahan di Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

10. Semua pihak yang telah memberikan banyak inspirasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Tiada balasan yang dapat penulis berikan selain ucapan terima kasih dan doa semoga Allah SWT menerima amal baik, serta imbalan yang lebih atas jerih payahnya. Sebagai akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan juga bagi para pembacanya amiin Ya Robbal Alamin  
Wassalamualaikum wr.wb

Malang, 10 Desember 2020

Ratna Puspita Sari



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iv
<b>MOTTO</b> .....	vi
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	vii
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI</b> .....	viii
<b>ABSTRAK</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>الملخص</b> .....	xi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xviii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xix
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Hipotesis .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
1.6 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Quran .....	7
2.2 Tumbuhan <i>Pseudelephantopus spicatus</i> .....	8
2.2.1 Deskripsi <i>Pseudelephantopus spicatus</i> .....	8
2.2.2 Kandungan Kimia <i>Pseudelephantopus spicatus</i> .....	10
2.2.3 Manfaat <i>Pseudelephantopus spicatus</i> .....	12
2.3 Ekstraksi .....	12
2.3.1 Prinsip Esktraksi .....	12

2.3.2 Pelarut Etanol .....	14
2.4 Bakteri Patogen.....	16
2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
2.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....	17
2.5 Uji Konfirmasi Bakteri .....	18
2.6 Aktivitas Antibakteri .....	20
2.7 Analisis Data.....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
3.1 Rancangan Penelitian.....	26
3.2 Waktu dan Tempat.....	26
3.3 Alat dan Bahan.....	26
3.3.1 Alat .....	26
3.3.2 Bahan .....	26
3.4 Variabel.....	27
3.5 Tahap Penelitian.....	27
3.6 Prosedur Penelitian .....	28
3.6.1 Pembuatan Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> .....	28
3.6.1.1 Preparasi Sampel .....	28
3.6.1.2 Ekstraksi Maserasi.....	29
3.6.2 Pengujian Konfirmasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	29
3.6.3 Peremajaan dan Pembuatan Inokulum Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	30
3.6.3.1 Pembuatan Media.....	30
3.6.3.2 Peremajaan Biakan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	31
3.6.3.2 Pembuatan Inokulum bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	32
3.6.4 Uji Aktivitas Antibakteri .....	32
3.6.5 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) .....	33
3.6.6 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) .....	33
3.6.7 Analisis Data.....	34

<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .....	35
4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh (KBM) Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .....	38
4.2.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .....	38
4.2.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Data hasil uji konfirmasi .....	32
Tabel 4.2 uji aktivitas antibakteri ekstrak <i>P. spicatus</i> terhadap bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	39
Tabel 4.3 Rata- rata hasil khm beberapa konsentrasi ekstrak <i>P. spicatus</i> terhadap bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> .....	43
Tabel 4.4 Hasil uji KBM.....	48



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 *Pseudelephantopus spicatus*. Gambar A bagian aerial, B daun, C  
bunga .....10



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan penelitian.....	53
Lampiran 2 Perhitungan .....	53
2.1 Perhitungan Media <i>Nutrient Agar</i> dan <i>Nutrient Broth</i> .....	54
2.2 Perhitungan Stok konsentrasi ekstrak <i>P. spicatus</i> .....	54
2.3 Perhitungan Rumus Ulangan Perlakuan .....	56
2.4 Rumus Perhitungan Zona Hambat.....	56
2.5 Rumus Perhitungan Uji KHM.....	56
2.6 Rumus Perhitungan Koloni Bakteri.....	56
2.7 Uji Konfirmasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	56
2.8 Uji Antibakteri Ekstrak <i>Pseudelephantopus spicatus</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....	56
2.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) .....	60
2.10 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) .....	62
Lampiran 3 Gambar Penelitian .....	62

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Allah menciptakan bumi dengan berbagai komponen kompleks didalamnya, baik berupa komponen tidak hidup (abiotik) maupun komponen hidup (biotik), komponen biotik misalnya saja tumbuhan. Segala jenis tumbuhan yang ada di bumi ini diciptakan Allah pasti memberikan kebaikan bagi para makhluk-Nya. Sebagaimana yang tersurat dalam QS. Asy- Syuara [26] : 7 sebagai berikut :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya:

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

Quthb (2004) menjelaskan bahwa sebagai makhluk yang mampu mengamati dan mempelajari alam sekitar, sudah seharusnya manusia mampu memikirkan tentang Kekuasaan Allah, salah satunya dengan mengamati tumbuhan. Menurut Shihab (2002) Kalimat *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* yang artinya *“Apakah mereka tidak memperhatikan bumi...”* memiliki maksud bahwa Al-Quran mampu menyatukan antara kemampuan indra pada manusia, alam sekitar, serta hati. Indra mampu memperhatikan keindahan tumbuhan sekitar, hati yang terkunci dapat terbuka dan menyadari akan Kebesaran Kuasa Allah dalam menciptakan alam dan seisinya. Sehingga penting bagi manusia untuk mempelajari dan meneliti ciptaan Allah yang ada di bumi termasuk tumbuh-tumbuhan.

Kata *زَوْجٍ* dalam penggalan ayat tersebut memiliki arti *“pasangan”* maksud pasangan dalam ayat ini adalah tumbuhan diciptakan berpasangan, seperti serbuk sari dengan kepala putik dalam proses penyerbukan. Begitu juga tumbuhan diciptakan memiliki kelebihan dan kekurangan. *Pseudelephantopus spicatus* memiliki kekurangan yaitu hidup liar dan sering dianggap pengganggu, akan tetapi juga memiliki kelebihan yaitu berpotensi sebagai antibakteri yang

memberikan manfaat bagi manusia. Semua itu hanya dapat dipahami oleh manusia yang membuka mata dan memperhatikan kekuasaan Allah. Kata كَرِيم dalam penggalan ayat tersebut menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya, tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Dari penjelasan tafsir para tokoh tersebut, dapat disimpulkan bahwa setiap tumbuhan yang subur dan bermanfaat itu termasuk dalam tumbuhan yang baik bagi makhluk Allah, termasuk juga tumbuhan liar yang sering dianggap tidak berguna karena hidup disembarang tempat, dari ayat ini dapat diambil pelajaran bahwa tumbuhan liar pun dapat memberikan kebaikan bagi makhluk Allah lainnya, salah satu contohnya adalah tumbuhan *P. spicatus* yang mampu tumbuh subur dan memberikan manfaat bagi makhluk Allah lainnya termasuk manusia.

*Pseudelephantopus spicatus* merupakan tumbuhan liar yang sering ditemukan dipinggir jalan, dipekarangan rumah, dan banyak orang yang menganggap *P. spicatus* sebagai tumbuhan pengganggu. Ragasa (1999) memaparkan bahwa *P. spicatus* dianggap sebagai salah satu tumbuhan gulma yang berasal dari Amerika, tersebar sampai Filipina dan negara Asia lainnya termasuk Indonesia. *Pseudelephantopus spicatus* yang dianggap sebagai tumbuhan liar ini ternyata memiliki berbagai macam manfaat bagi manusia, termasuk dalam bidang pengobatan. *Pseudelephantopus spicatus* dapat digunakan sebagai antifungi dan antibakteri (Ragasa, 1999), memiliki aktivitas melawan *leishmania amazonensis* (Khatun dkk, 2016), dan memiliki potensi anti jamur terhadap *Candida albicans* (Jeda, 2014).

Beberapa hasil penelitian diatas mengungkapkan bahwa *P. spicatus* memiliki potensi obat yang sangat baik dan masih perlu dikembangkan agar dapat dimanfaatkan secara optimal. Potensi obat yang dimiliki oleh *P. spicatus* tidak terlepas dari adanya senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam *P. spicatus*. Beberapa penelitian sebelumnya seperti Khatun, dkk (2016) menjelaskan bahwa pada *P. spicatus* memiliki beberapa komponen senyawa aktif antara lain alkaloid, steroid, tanin, dan flavonoid. Adebayo, dkk (2013) menyatakan bahwa *P. spicatus* memiliki senyawa aktif seperti saponin, triterpen, polifenol. Selain itu Simanjuntak (2015) menjelaskan bahwa sebagian

besar famili Asteraceae memiliki senyawa aktif seperti triterpen, tanin, alkaloid, dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri. Menurut Rosyidah,dkk (2010) antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen. Penghambatan bakteri tidak terlepas dari senyawa aktif yang terdapat di dalam tumbuhan itu sendiri. Senyawa-senyawa aktif tersebut dapat dikeluarkan dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan teknik ekstraksi.

Ekstraksi merupakan suatu teknik yang dapat memisahkan bagian aktif dari jaringan tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut yang selektif dalam prosedur ekstraksi yang sesuai (Susanty dan Bachmid, 2016). Ekstraksi ada beberapa jenis, salah satunya adalah maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi dengan merendam sampel dengan pelarut dalam wadah kaca pada suhu ruangan. Metode maserasi banyak digunakan dalam mengekstrak bahan karena metode maserasi mampu meminimalisir rusaknya senyawa yang tidak tahan panas (Mukhriani, 2014). Ada beberapa hal yang mempengaruhi ekstraksi antara lain adalah pelarut yang digunakan (Hidayah dkk, 2016), pelarut menjadi hal yang penting untuk diperhatikan dalam ekstraksi karena keberhasilan terlarutnya zat terlarut dalam ekstrak bergantung pada kecocokan antara pelarut dan zat terlarut (Widarta dkk, 2013).

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang mana memiliki kemampuan melarutkan beberapa jenis senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Rahmawati, 2016). Etanol yang dipakai adalah etanol 70% hal ini berdasarkan penelitian dari Mubarak dkk (2018) mengungkapkan bahwa etanol 70% pada ekstrak *Benincasa hispida* Thunb mampu menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar (25,223 mm) bila dibandingkan dengan etanol 96% (6,815 mm) dan etanol 50% (tidak terdapat zona hambat). Dengan menggunakan pelarut 70% dalam ekstraksi diharapkan ekstrak *P. Spicatus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan optimal, karena dapat melarutkan senyawa antibakteri yang terdapat didalamnya.

Senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan *P. spicatus* seperti alkaloid, steroid, tanin, saponin, triterpen, polifenol dan flavonoid memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan

*E. coli*. Keberadaan bakteri sesungguhnya sudah dijelaskan dalam Al-Quran secara tersirat pada surrah Q.S Yunus [10]: 61 sebagai berikut :

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya:

“Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah (atom) di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)”

Menurut Imam Jalaluddin al-Mahali dalam *Tafsir Jalalain* menjelaskan bahwa, pada lafadz ( وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ ) menjelaskan bahwa tidak terlepas pengetahuan dari Rabbmu hal apapun walau sebesar atau seberat *dzarrah*, melainkan semua sudah tercatat di lauh mahfuzh (Jalaluddin, 2002). Lafadz ذَرَّةٌ dalam *Tafsir Al-Misbah* diartikan sebagai bentuk perumpamaan dari perihail kecil apapun yang telah dilakukan oleh umat manusia, dimana Allah SWT tidak akan samar dalam melihat serta mengetahui segala sesuatu yang dilakukan oleh Makhluk-Nya (Shihab, 2002). Dalam Al-Qur'an istilah *dzarrah* merupakan wujud zat atau substansi materi terkecil yang disebutkan dalam Al-Qur'an dan merupakan petunjuk untuk mempelajari hal tersebut, termasuk dalam mempelajari mikroorganisme. Tumbuhan dan mikroorganisme memiliki keterkaitan satu sama lain seperti halnya tumbuhan *P. spicatus* yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Kemampuan antibakteri dalam ekstrak *P. spicatus* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi yang digunakan. Perbedaan konsentrasi ekstrak *P. spicatus* maupun tumbuhan Asteraceae dapat mempengaruhi proses penghambatan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* berdasarkan perhitungan zona hambat. Penelitian Quiming dkk (2019) mengungkapkan bahwa ekstrak *P. spicatus* pada konsentrasi 300 mg/mL dengan metode kertas cakram mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*,

dengan diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus* 9,33 mm dan pada bakteri *E. coli* 11,33 mm. Dalam penelitian ini menggunakan metode sumuran, menurut Prayoga (2013) diameter zona hambat pada metode sumuran memiliki rata-rata yang lebih besar bila dibandingkan dengan zona hambat metode kertas cakram. Untuk konsentrasi dalam penelitian ini menggunakan acuan konsentrasi 300 mg/mL, dengan beberapa perbandingan konsentrasi dibawah dan diatas 300 mg/mL yaitu 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL. Beragamnya konsentrasi yang dapat menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* maka perlu adanya standar konsentrasi terendah, agar penggunaan antibakteri agar tidak berlebihan.

Penggunaan zat antibakteri yang berlebihan terhadap bakteri patogen mampu memberikan dampak resisten. Untuk mengurangi terjadinya resistensi bakteri maka perlu upaya dalam penetapan standard penggunaan dosisnya. Sehingga perlu adanya Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang berfungsi untuk mengurangi terjadinya resistensi bakteri akibat penggunaan dosis antibakteri yang berlebihan (Salni dkk, 2011). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam pembuatan skripsi ini antara lain:

1. Apakah ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?
2. Berapakah nilai KHM dan KBM pada ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan diadakannya penelian skripsi ini antara lain:

1. Untuk mengetahui ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Untuk mengetahui nilai KHM dan KBM pada ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini antara lain:

1. Adanya aktivitas antibakteri dalam ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Ada nilai KHM dan KBM pada ekstrak tapak liman semu (*P. spicatus*) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dalam penelitian ini antara lain:

- 3 Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kemampuan aktivitas ekstrak *P. spicatus* sebagai antibakteri sehingga mampu dijadikan sebagai antibakteri alternatif yang berasal dari tumbuhan.
- 4 Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat perbedaan nilai KHM dan KBM pada ekstrak *P. spicatus* sebagai antibakteri sehingga dapat membantu pihak farmasi dan kedokteran dalam menetapkan dosisnya.

#### 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Sampel tumbuhan tapak liman semu (*P. spicatus*) yang digunakan berasal dari sekitar pinggir jalan daerah kecamatan Lowokwaru, Malang.
2. Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Ekstraksi yang digunakan jenis maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% (Mubarak dkk,2018).
4. Bagian tumbuhan *P. spicatus* yang digunakan untuk ekstrak adalah bagian daun (Ragasa, 1999).
5. Konsentrasi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang digunakan dalam penelitian ini adalah (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Al-Quran

Allah menciptakan tumbuhan di bumi ini beranekaragam dan jenisnya. Penciptaan tumbuhan-tumbuhan tersebut pasti memiliki makna dan memberikan manfaat bagi makhluk Allah lainnya. Sebagaimana yang dijelaskan dalam Al-Quran tentang tumbuhan dalam surah Thaaha [20]:53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا  
مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى

Artinya:

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

Abdullah (2003) menyatakan bahwasanya makna dari *فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى* adalah keberagaman jenis pada tumbuh-tumbuhan. Pada ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan beragam jenis tumbuhan dengan aneka rasa yang berbeda-beda pada masing-masing rasanya, yaitu asam, pahit, dan manis serta dengan manfaat yang sangat beragam pada masing-masing jenis tumbuhan termasuk *Pseudelephantopus spicatus*. Al-Quran merupakan kitab Agung yang sangat kompleks, banyak hal didalamnya yang saling berkaitan satu sama lain, seperti halnya yang tersirat dalam surrah Ali Imron ayat 191 sebagai berikut

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُوبًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا  
خَلَقْتَ هٰذَا بَطِيْلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya :

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka senantiasa memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka”

Lafadz وَيَتَفَكَّرُونَ memiliki arti “memikirkan” dan lafadz فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ yang memiliki arti “dalam penciptaan langit dan bumi” ayat diatas menjelaskan bahwa tanda orang yang berakal itu senantiasa mengingat Allah dalam setiap keadaannya baik dalam keadaan berdiri, duduk, bahkan berbaring. Mereka memikirkan apa yang telah diciptakan Allah. Menurut Qurtubi (2008) menyatakan bahwa di dalam ayat tersebut Allah SWT memerintahkan manusia untuk melihat, menelaah, dan mengagumi segala ciptaan Allah yang mana memberikan manfaat dan tidak ada yang sia-sia. Dari penjelasan kedua tafsir ayat Al-Quran tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia termasuk tumbuhan. Setiap tumbuhan memiliki peran dan fungsi masing-masing dan mampu memberikan kebaikan bagi makhluk Allah lainnya, termasuk tumbuhan liar seperti *P. spicatus*. Oleh karena itu perlunya penelitian tentang *P. spicatus* agar tumbuhan ini dapat dimanfaatkan secara optimal demi kemaslahatan masyarakat.

## 2.2 Tumbuhan *Pseudelephantopus spicatus*

### 2.2.1 Deskripsi *Pseudelephantopus spicatus*

Klasifikasi *P. spicatus* menurut *United Stated Departement of Agriculture (USDA)*, 2019

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Pseudelephantopus</i> Rohr
Spesies	: <i>Pseudelephantopus spicatus</i>

*Pseudelephantopus spicatus* termasuk dalam kingdom Plantae karena memiliki ciri seperti tumbuhan, memiliki akar, batang, daun dan bunga. Tjitrosoepomo (2011) bahwa tumbuhan memiliki tiga bagian pokok yakni akar, batang, dan daun yang mendukung kelangsungan hidup tumbuhan. USDA (2019) menyatakan bahwa *P. spicatus* termasuk dalam sub kingdom Tracheobionta karena termasuk tumbuhan yang memiliki pembuluh. Superdivisi yang dimiliki oleh *P. spicatus* yaitu Spermatophyta karena memiliki biji. *Pseudelephantopus spicatus* tergolong divisi Magnoliophyta disebabkan karena memiliki bunga sebagai alat reproduksinya, warna bunga pada *P. spicatus* adalah putih, selain itu termasuk dalam kelas Magnoliopsida yang berisi dari golongan tumbuhan dengan biji berkeping dua (dikotil). *Pseudelephantopus spicatus* tergolong dalam famili Asteraceae, Simanjuntak (2017) menjelaskan bahwa Asteraceae memiliki beberapa ciri antara lain daun tunggal yang letaknya tersebar atau berhadapan, bunganya terdapat dua bentuk yaitu bunga tepi berbentuk pita dan bunga cakram yang berbentuk tabung serta memiliki daun pembalut, mahkota daun terlepas, biji keras yang bersatu dengan kulit buah.

*Pseudelephantopus spicatus* termasuk tumbuhan herba. Memiliki batang yang tegak lurus, bentuknya bulat, teksturnya kaku, permukaannya halus. Susunan daun berseling, struktur daun tunggal, bentuk daun lonjong, tepi daun rata, pangkal daun runcing, ujung daun tumpul, pertulangan daun menyirip. Bunga *P. spicatus* berupa bunga tunggal yang berbentuk bonggol, terletak pada bagian terminal dan aksilar. bunganya terdiri atas bunga pita dan bunga tabung dengan petal berwarna putih (Ardianingsih,2015). Karakteristik *P. spicatus* memiliki karakteri seperti kepala 1-6 berkerumun di axils, daun cauline kecil, sessile, lax, terminal spike, homogamous, bunga hermiprodit, braktea dalam 4 pasang 2 pasangan terluar jauh lebih pendek dari 2 terdalam. wadah kecil, telanjang, corolla tubular dengan diperluas bagian atas, yang selama anthesis, diputar ke arah margin kepala, kepala bagian bawah tumpul di puncak, dengan dasar singkat sagittate, aurikula basal tumpul. gaya lengan fiiform, panjang, berbulu, lonjong sempit. Bulu pappus beberapa terbesar di dekat puncak, daun bergantian (paling bawah dalam roset radikal), agak kaku (Backer dan Brink,1965).



Gambar 2.1 *Pseudelephantopus spicatus*. Gambar A bagian aerial, B daun, C bunga (iNaturalist, 2019)

*Pseudelephantopus spicatus* merupakan tumbuhan herba yang banyak ditemukan didaerah tepian sungai (Monteron dan Tampus, 2016). *Pseudelephantopus spicatus* tumbuh liar yang sering ditemukan dipinggir jalan dan dipekarangan rumah, tak sedikit orang yang menganggap *P. spicatus* sebagai tumbuhan pengganggu, menurut Ragasa (1998) *P. spicatus* dianggap sebagai salah satu tumbuhan gulma yang berasal dari Amerika dan sekarang penyebarannya sampai Filipina dan Asia.

#### 2.2.2 Kandungan Kimia *P. spicatus*

Khatun, dkk (2016) menjelaskan bahwa pada *P. spicatus* memiliki beberapa komponen senyawa aktif antara lain asam ursolik dan hirsutinolide. Pada bagian aerial dari tumbuhan ini mengandung alkaloid, steroid, Tanin, dan flavonoid. Adebayo, dkk (2013) mengungkapkan bahwa aktivitas antileismanial pada *P. spicatus* tidak terlepas dari adanya senyawa aktif seperti saponin, triterpen, polifenol. Beberapa jenis tanaman famili Asteraceae dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, hal ini disebabkan karena famili Asteraceae memiliki komponen senyawa bioaktif, seperti seskuiterpen, lakton, triterpen pentasiklik, alkohol, alkaloid, tanin, polifenol, saponin, dan sterol yang dapat digunakan untuk bahan pengobatan (Simanjuntak, 2017).

Senyawa-senyawa aktif mampu menjadi antibakteri, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid dan lain sebagainya. Hal ini dikarenakan masing-masing senyawa tersebut memiliki kemampuan untuk mengganggu maupun merusak komponen yang ada pada bakteri. Senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri memiliki kemampuan untuk merusak dinding sel

sehingga penyaluran nutrisi bakteri menjadi terganggu dan bakteri kekurangan nutrisi sehingga menghambat pertumbuhannya (Ernawati, 2015).

Peran flavonoid dalam antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena berinteraksi langsung dengan DNA bakteri sehingga mengganggu beberapa organela sel bakteri seperti lisosom, mikrosom dan dinding bakteri (Sarfina dkk, 2017). Peranan flavonoid mampu membuat transport nutrisi bakteri menjadi tidak optimal, hal ini karena gugus hidroksil pada flavonoid bisa menjadi toksik terhadap bakteri dan membuat perubahan komponen organik pada bakteri (Fitriah dkk,2017)

Tanin mampu mengganggu pada membran sel terutama pada pengangkutan protein, mengganggu kerja adhesin sel pada mikroba, serta menginaktivkan enzim, selain itu tanin jg mengganggu pertahanan dinding sel bakteri sehingga bakteri kurang kuat dalam keseimbangan osmotik (Setiawan dkk,2017). Tanin dalam antibakteri berperan dalam mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga membuat dinding sel bakteri menjadi kurang bekerja optimal dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Fitriah dkk,2017).

Peran yang dimiliki oleh steroid dalam antibakteri berhubungan dengan ion-ion pada membran sel, seperti ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{Mg}^{2+}$  yang dapat meningkatkan permeabilitas pada membran luar sel bakteri (Setiawan dkk,2017). Terpenoid mudah menembus dinding sel bakteri karena sifatnya yang mudah larut, selain itu berperan dalam hal mengganggu proses sintesis protein pada bakteri sehingga pembentukan komponen sel bakteri menjadi terganggu (Sarfina dkk, 2017). Kerja senyawa antibakteri kebanyakan mengganggu aktivitas yang ada dalam sel, salah satunya adalah dinding sel bakteri yang dapat rusak akibat adanya senyawa flavonoid, selain dinding sel sintesis DNA bakteri juga bisa terganggu akibat adanya senyawa alkaloid, penghambatan ineraksi antara komponen polisakarida dan dinding sel bakteri juga diakibatkan oleh adanya senyawa saponin. Semua kerusakan dan gangguan dari adanya senyawa-senyawa tersebut mampu menjadikan bakteri terhambat pertumbuhannya sehingga mengakibatkan kematian (Andriani dkk, 2016).

### 2.2.3 Manfaat *P. spicatus*

*Pseudelephantopus spicatus* memiliki potensi sebagai antileishmanial, obat sakit perut, nyeri otot, nyeri sendi dan juga kelelahan yang berlebihan (Adebayo dkk, 2013; Arquion dkk, 2015). Selain itu daun *P. spicatus* dapat digunakan sebagai obat anti inflamasi yang sering diterapkan untuk menyembuhkan luka pada ular, serta berpotensi sebagai antifungi dan antibakteri (Ragasa, 1999). Khatun, dkk (2016) memaparkan bahwa *P. spicatus* memiliki aktivitas melawan *Leishmania amazonensis* serta memiliki aktivitas sitotoksik. Jeda (2014) memaparkan bahwa pemanfaatan *P. spicatus* juga diterapkan diberbagai belahan dunia seperti di India yang memanfaatkan *P. spicatus* sebagai obat untuk gigitan ular, negara Jamaika menggunakan *P. spicatus* sebagai obat demam, sakit mata, sedangkan di Taiwan dimanfaatkan sebagai obat kudis, nefritis, edema, pneumonia, dan memiliki anti jamur terhadap *Candida albicans* serta aktivitas anti leishmanial.

## 2.3 Ekstraksi

### 2.3.1 Prinsip Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu teknik yang dapat memisahkan bagian aktif dari jaringan tumbuhan atau hewan dari komponen inaktif atau *inert* dengan menggunakan pelarut yang selektif dalam prosedur ekstraksi standar (Susanty dan Bachmid, 2016). Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen yang ada pada bahan yang berupa senyawa aktif, vitamin, zat warna, protein, dan lain-lain (Mukaromah, dkk, 2010). Prinsip ekstraksi yaitu pada bahan yang diekstraksi melarutkan senyawa aktif yang terdapat didalam bahan dengan menggunakan pelarut tertentu dalam kurun waktu tertentu (Septiana dan Asnani, 2012). Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dua atau lebih komponen yang diinginkan dengan menambahkan suatu pelarut untuk melarutkan komponen tersebut, prinsip ekstraksi pelarut yaitu berdasarkan kelarutan komponen tersebut dalam pelarut yang digunakan (Maanaria dkk, 2014). Ekstraksi memiliki berbagai macam, misalnya saja maserasi.

Maserasi merupakan salah satu metode yang digunakan dalam proses ekstraksi. Pada metode maserasi pelarut akan berdifusi dalam sel dan senyawa aktif akan keluar akibat proses osmosis, agar lebih cepat berjalannya proses

ekstraksi maka dilakukan pengadukan (Maleta, dkk, 2018). Maserasi dilakukan dengan memasukkan bahan yang sudah dihaluskan bersama dengan pelarut dalam suatu wadah kaca tertutup dan disimpan dalam suhu ruangan selama waktu yang telah ditetapkan (Mukhriani,2014). Dalam ekstraksi maserasi penentuan volume pelarut dan lama perendaman ekstrak yang digunakan juga perlu diperhatikan, sebab akan mempengaruhi kualitas dari ekstraksi tersebut.

Volume pelarut mempengaruhi senyawa aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi, hal ini disebabkan karena banyaknya pelarut mempengaruhi kemampuannya dalam merusak membran plasma dan dinding sel karena perbedaan tekanan didalam dan diluar sel, akan tetapi penggunaan volume pelarut yang berlebihan juga tidak efektif karena pergerakan cairan dalam sel tidak lancar sebab sudah didominasi oleh pelarut. Penelitian dari Yulianingtyas & Kusmartono (2016) menjelaskan bahwa ekstrak blimbing wuluh 10 gr dengan volume pelarut etanol 250 mL mampu melarutkan flavonoid terbanyak dengan berat flavonoid terekstrak 57,93 mg. Hasil ini paling banyak bila dibandingkan dengan volume pelarut 200 mL dengan berat flavonoid terekstrak 56,09 mg dan 300 mL dengan berat flavonoid terekstrak 49,33 mg. Dari penjelasan tersebut 10 gr ekstrak dengan 250 mL pelarut (1:25), oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan ukuran 3 x lipat dari penelitian Yulianingtyas & Kusmartono (2016) sehingga yang digunakan adalah 30 gr ekstrak *P. spicatus* dengan 750 mL pelarut etil asetat.

Pemilihan waktu dalam proses maserasi juga sangat penting, apabila kurang dari 18 jam akan membuat zat yang terlarut belum terlarut sempurna, sedangkan apabila waktu maserasi yang terlalu lama juga kurang efektif karena zat terlarut sudah terlarut semua dan sudah jenuh serta berpotensi untuk mengguapnya senyawa-senyawa yang terlarut. Yulianingtyas & Kusmartono (2016) memaparkan bahwa waktu maserasi terbaik untuk menentukan berat terbanyak flavonoid yang berhasil diekstraksi pada ekstrak daun belimbing wuluh adalah 48 jam dengan berat flavonoid terekstrak 72,31 mg bila dibandingkan dengan 24 jam dengan berat flavonoid terekstrak 57,93 mg dan pada 78 jam berat flavonoid terekstrak 59,96 mg. Amelinda (2018) menyatakan semakin lama waktu ekstraksi membuat hasilnya semakin menurun, begitu juga

dengan hasil antioksidannya. Setelah proses pemisahan zat terlarut dan pelarut selesai maka dibutuhkan *rotary evaporator vacuum* untuk memisahkan pelarut dan zat terlarut.

Ekstraksi maserasi pada umumnya menggunakan alat *rotary evaporator vacuum* untuk memisahkan antara pelarut dan zat terlarut. Penggunaan alat ini dipilih karena mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung didalam ekstrak tidak rusak oleh suhu tinggi. *Rotary evaporator vacuum* adalah instrumen yang menggunakan prinsip destilasi (pemisahan). Prinsip utama dalam instrumen ini terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutaran labu alas bulat sehingga membuat pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya (Damayanti dan Fitriana,2012). Sehingga diperoleh ekstrak yang sudah terpisah dari pelarutnya. Setiap metode ekstraksi pasti memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing, begitu pula dengan ekstraksi maserasi.

Kekurangan metode maserasi antara lain, waktu yang dibutuhkan relatif lama (Maleta, dkk, 2018), selain itu pelarut yang digunakan relatif banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang (Mukhriani,2014). Kelebihannya yaitu biaya yang dibutuhkan murah dan termasuk metode dengan langkah kerja yang sederhana dan mudah (Maleta, dkk, 2018), meminimalisir rusaknya senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani,2014). Dalam proses ekstraksi maserasi terdapat berbagai macam faktor yang berperan dalam keberhasilan ekstraksi, salah satunya adalah pelarut yang digunakan.

### 2.3.2 Pelarut Etanol

Pelarut merupakan zat yang dapat melarutkan suatu zat yang terlarut. Dalam proses ekstraksi adanya pelarut merupakan salah satu faktor yang penting karena kelarutan suatu zat dalam suatu pelarut sangat ditentukan oleh kecocokan sifat antara zat terlarut dengan pelarut. Pelarut yang sesuai akan melarutkan zat dengan optimal sesuai dengan sifat kepolarannya, misalnya saja zat dengan sifat yang lebih dominan bersifat polar akan optimum terlarut dengan pelarut yang bersifat polar juga, begitu pula dengan zat yang bersifat semi polar dan non polar (Widarta dkk, 2013). Setiap tumbuhan memiliki senyawa aktif masing-masing dan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi juga

menyesuaikan dengan kecocokan pada tiap tumbuhan, termasuk *P. spicatus* yang memberikan hasil optimum pada beberapa jenis pelarut yang sesuai dengan senyawa yang terkandung didalam *P. spicatus* maupun tumbuhan yang satu famili dengan *P. spicatus*.

Penelitian sebelumnya mengenai pelarut yang cocok untuk ekstraksi tumbuhan *P. spicatus* maupun yang satu famili dengan *P. spicatus* ada beberapa penelitian, seperti penelitian Quiming, dkk (2019) yang menggunakan pelarut etanol dalam pengujian aktivitas antibakteri dalam ekstrak *P. Spicatus* yang mana mampu menghambat bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dan bakteri Gram negative seperti *E. coli* yang mana sesuai dengan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini. Selain itu, penelitian satu genus yang mirip dengan *Pseudelephantopus* adalah *Elephantopus scaber* atau tapak liman juga bisa digunakan sebagai acuan, seperti yang dilakukan oleh Prasetyorini, dkk (2019) mengungkapkan bahwa penggunaan pelarut etanol pada ekstrak *E. scaber* mampu menghambat perkembangan bakteri *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Vibrio sp*, dan *S. aureus*. *Elephantopus scaber* Linn merupakan tumbuhan yang termasuk satu famili dengan *Pseudelephantopus spicatus* sebagaimana yang dijelaskan oleh Krisna, dkk (2014) menyatakan bahwa berdasarkan pendekatan kekerabatan, tumbuhan dalam satu genus atau famili memiliki kandungan senyawa yang hampir sama, dimana senyawa itu tidak terakumulasi pada bagian tertentu melainkan tersebar pada semua bagian. Pelarut etanol memiliki kemampuan melarutkan beberapa jenis senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Rahmawati, 2016).

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 70 % Mubarak dkk (2018) mengungkapkan bahwa etanol 70% pada ekstrak *Benincasa hispida* Thunb mampu menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar (25,223 mm) bila dibandingkan dengan etanol 96% (6,815 mm) dan etanol 50% (tidak terdapat zona hambat). Dengan menggunakan pelarut 70% dalam ekstraksi diharapkan ekstrak *P. Spicatus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan optimal, karena dapat melarutkan senyawa antibakteri yang terdapat didalamnya.

## 2.4 Bakteri Patogen

Bakteri adalah makhluk hidup berukuran mikroskopik berbentuk spiral (heliks), batang (basilus), bulat dan elips (kokus). termasuk uniseluler, sel prokariotik, dan tidak mengandung membran pembatas di sitoplasmanya. Bakteri memiliki diameter berkisar 0,5 – 10  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5 – 2,5  $\mu\text{m}$ . Melanjutkan keturunannya dengan cara pembelahan biner. Bakteri dapat ditemukan pada suhu 0<sup>o</sup>C sampai 90<sup>o</sup>C, kemampuan hidup bakteri pada tempat yang dingin dan panas karena didukung dengan adanya dinding sel yang tebal sekitar 10nm sampai 35nm. Dinding sel pada bakteri terdapat perbedaan komposisi dan struktur sehingga bakteri terbagi menjadi 2 golongan yaitu bakteri Gram negatif dan positif (Pelczar dan Chan, 2013).

Salah satu yang membedakan bakteri gram positif dan gram negatif adalah pada proses pewarnaan, terjadi hasil akhir yang berbeda pada proses pewarnaan. Pada bakteri gram positif dinding selnya memiliki peptidoglikan yang tebal tanpa lapisan lipopolisakarida atau lipoprotein. Sedangkan pada bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis dimana terdapat lapisan liposakarida atau lipoprotein sebagai pembungkusnya (Karimela,2017).

Bakteri memberikan dampak positif maupun negatif pada manusia. Dampak positif bakteri misalnya saja bakteri memiliki peran pada berbagai misalnya saja pada bidang pertanian, dimana bakteri mampu menyuburkan tanah, dalam industri berperan pada pembuatan senyawa-senyawa penting, dalam bidang makanan dapat membantu fermentasi dan juga merusak makanan. Bakteri yang memberikan dampak negatif misalnya saja golongan bakteri patogen, yaitu bakteri yang memiliki potensi untuk menimbulkan berbagai penyakit bagi hewan maupun manusia. Contoh bakteri patogen yang menyerang manusia dan hewan antara lain *S. aureus* dan *E. coli* (Pelczar & Chan, 2013; Karlina, dkk., 2013).

### 2.4.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* termasuk dalam golongan bakteri gram positif, yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. *Staphylococcus aureus* terlihat seperti buah anggur, berkoloni, tidak bergerak, tidak membentuk spora, kadang membentuk rantai pendek. *Staphylococcus aureus* memiliki diameter berkisar 0,5 – 10  $\mu\text{m}$  (Karimela,2017). *Staphylococcus aureus* merupakan

bakteri gram positif memiliki diameter sekitar 0,7 – 1,2  $\mu\text{m}$  dan berbentuk bulat, fakultatif anaerob (Rahmi dkk, 2015). Berikut klasifikasi *S. aureus* sebagai berikut (Brooks, 2007):

Filum	: Firmicutes
Kelas	: Cocci
Ordo	: Bacillales
Familia	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang menyebabkan berbagai macam penyakit seperti infeksi saluran kemih, pneumonia, mastitis, endokarditis, penyebab utama pada sindrom syok toksik, selain itu juga menginfeksi organ reproduksi, sering mengontaminasi spermatozoa dan menyebabkan infertil pada manusia dan hewan (Rahmi, dkk, 2015). *Staphylococcus aureus* dalam jumlah  $10^5$  CFU/mL mampu menghasilkan zat racun (Karlina, dkk., 2013). *Staphylococcus aureus* salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Gejala keracunan makanan akibat *Staphylococcus* adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang diikuti oleh diare (Karimela, 2017).

#### 2.4.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif dan termasuk dalam bakteri aerob atau fakultatif anaerob (Wahyuningsih, 2017). Bakteri *E. coli* bentuk seperti batang, tidak menghasilkan spora, memiliki peptidoglikan yang tipis serta dapat menfermentasikan laktosa dan glukosa, serta menghasilkan gelembung udara (Firdaus, 2018). Bakteri *E. coli* merupakan salah satu flora yang memiliki peran dalam pencernaan manusia, termasuk juga penyebab diare (Afriserawati, dkk, 2016). Berikut klasifikasi menurut *E. coli* Brooks (2007):

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri *E. coli* biasanya hidup disaluran pencernaan salah satunya pada daerah usus (Nataro dan Kaper, 1998). *Escherichia coli* merupakan salah satu flora normal yang biasa ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Selain itu juga bisa ditemukan pada daging, unggas, produk olahan susu, dan konsumsi air yang tanpa melalui proses pemasakan yang baik (Akbar dan Anal, 2011). *Escherichia coli* tumbuh dengan baik pada pH 7 – 7,5 dapat mentoleransi pH maksimum 9,0 dan minimum 4,0. Bakteri ini sangat peka terhadap suhu, tumbuh dengan baik pada suhu 37<sup>0</sup>C dan dapat mentoleransi pada suhu minimum 10<sup>0</sup>C dan suhu maksimum 40<sup>0</sup>C (Firdaus, 2018).

Pada kondisi melemahnya imun tubuh dan meningkatnya jumlah *E. coli* dapat menyebabkan infeksi, beberapa penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *E. coli* antara lain adalah infeksi diare, saluran kemih, dan sepsis atau meningitis (Nataro dan Kaper, 1998). Dalam kondisi normal keberadaan bakteri *E. coli* dianggap tidak membahayakan, akan tetapi pada jumlah 10<sup>5</sup> CFU/mL mampu menghasilkan zat racun (Karlina, dkk., 2013), selain itu kelompok tertentu yang dikenal dengan sebutan STEC (Shiga Toxin *Escherichia coli*) yang mana berpotensi menyebabkan diare berdarah (Akbar dan Anal, 2011).

## 2.5 Uji Konfirmasi Bakteri

Pengujian konfirmasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian murni bakteri uji, tidak ada kontaminasi dari mikroba lainnya. Dalam penelitian ini uji konfirmasi dilakukan dengan 3 jenis pengujian antara lain uji pewarnaan Gram, uji endospora, dan uji katalase.

## 1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk memisahkan bakteri menjadi bakteri Gram positif dan negatif. Reagen yang digunakan dalam pewarnaan Gram ini ada beberapa antara lain, kristal violet, lugol, alkohol, safranin dan aquades. Perbedaan pada dinding sel bakteri Gram positif dan negatif inilah yang mempengaruhi kemampuan bakteri dalam menyerap reagen. Pada bakteri Gram positif mampu mempertahankan pewarna kristal violet sehingga berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif mampu menyerap pewarna safranin sehingga berwarna merah (Pratita dan Putra, 2012).

Perbedaan respon warna antara bakteri Gram positif dan negatif dalam uji pewarnaan Gram ini disebabkan karena komponen dinding sel bakteri Gram positif dan negatif berbeda. Pewarna kristal violet yang diberikan pada masing-masing bakteri diserap dengan baik didalam sel, baik itu bakteri Gram positif maupun negatif. Selanjutnya pemberian alkohol memberikan respon yang berbeda, pada bakteri positif pemberian alkohol membuat dinding sel bakteri mudah untuk terdehidrasi karena lipid yang relatif rendah membuat pori-pori mengecil dan permeabilitasnya menjadi kurang optimal sehingga kristal violet tetap berada dalam sel dan menyebabkan bakteri Gram positif berwarna ungu (Putri dkk, 2018).

## 2. Pewarnaan Endospora

Endospora hanya dimiliki oleh bakteri tertentu. Endospora bakteri memiliki dinding yang tebal, sangat resisten, dan sangat refraktif. Bakteri yang memiliki endospora mampu bereproduksi dalam beberapa generasi sebagai sel vegetatif, contoh bakteri yang memiliki endospora antara lain *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina* (Pelczar dan Chan, 2013). Pewarna yang digunakan dalam pewarnaan endospora khusus, yaitu malachite green. Bakteri yang memiliki endospora tidak mudah menyerap pewarna, akan tetapi pewarna malachite green mampu diserap. Dalam pewarnaan ini pewarna yang digunakan adalah malachite green dan safranin. Pewarna safranin digunakan sebagai pewarna pembanding untuk bakteri yang tidak memiliki endospora. Hasil positif bakteri yang memiliki endospora akan

berwarna hijau karena mempertahankan malachite green, sedangkan bakteri yang tidak memiliki endospora akan berwarna merah, pewarna malachite green yang terserap akan luntur saat dibilas dengan safranin dan pewarna safraninlah yang terserap sebagai hasil akhirnya sehingga berwarna merah (Pratita dan Putra, 2012).

### 3. Uji Katalase

Pengujian katalase menggunakan  $H_2O_2$  (Hidrogen Peroksida) dan kerja enzim katalase. Hidrogen Peroksida bersifat racun dalam sel karena mampu mengganggu kerja enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut. Enzim katalase mampu mengurai  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  sehingga aman untuk sel. Pengujian katalase biasanya dilakukan pada beberapa bakteri yang berbentuk bulat seperti *Staphylococcus* dan hampir semua galur *Staphylococcus* merupakan katalase positif (Dewi, 2013).

### 2.6 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah kumpulan senyawa yang dapat dimanfaatkan menanggulangi infeksi terhadap bakteri penyebab infeksi (Wardhani & Sulistyani, 2012). Antibakteri juga terdapat pada obat-obatan yang berperan dalam mengobati beberapa penyakit yang diakibatkan oleh bakteri (Adfa, 2008). Antibakteri juga berperan dalam penghambatan pertumbuhan dan perkembangan bahkan membunuh bakteri (Wahyuningsih, 2017).

Metode difusi merupakan salah satu metode untuk menguji kemampuan aktivitas antibakteri. Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan semuran dan kertas cakram, yang diletakkan dalam media pembiakan, nilai konsentrasi dilihat dari adanya zona jernih disekitar kertas cakram (Soleha, 2015). Perbandingan besar zona hambat pada metode kertas cakram (disk difusion) dan sumuran berbeda, diameter zona hambat pada metode sumuran memiliki rata-rata yang lebih besar bila dibandingkan dengan zona hambat metode kertas cakram. Prayoga (2013) mengungkapkan bahwa perbandingan uji antibakteri *S. aureus* pada ekstrak daun sirih hijau antara

metode sumuran dan kertas cakram. Konsentrasi yang digunakan antara lain 25%, 50%, 75%, dan 100% dan memberikan hasil bahwa diameter metode sumuran lebih besar daripada kertas cakram, secara berurutan hasil perhitungan diameter zona hambat sumuran adalah 25,3 mm; 26,6 mm; 28,3 mm; 31 mm. Sedangkan pada metode kertas cakram hasil diameter zona hambatnya secara berurutan adalah 15 mm; 17,6 mm; 19,6 mm; 21,3 mm. Metode sumuran memiliki zona hambat yang lebih besar disebabkan karena ekstrak langsung bersentuhan dengan media dan bakteri uji, sehingga lebih efektif dalam pengujian aktivitas antibakteri. Berdasarkan penelitian Prayoga inilah sehingga uji aktivitas antibakteri pada ekstrak *P. spicatus* menggunakan metode sumuran.

Metode difusi sumuran dapat dilakukan dengan beberapa langkah, yang pertama yaitu dilakukan proses pengenceran, dengan cara menambahkan 1-2 ose bakteri yang akan diuji ke tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl 0,9% lalu dihomogenkan. Kekeruhan disesuaikan dengan standard konsentrasi 0,5 Mc Farland yaitu jumlah bakteri  $10^5 - 10^8$  /mL (Prayoga, 2013). Standard pembuatan konsentrasi 0,5 Mc Farland dapat dibuat dengan mencampurkan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,95 mL dan larutan BaCl 1,175% sebanyak 0,05 ml lalu dihomogenkan bisa dengan dikocok, larutan yang terbentuk akan setara dengan kekeruhan bakteri dengan kepadatan  $10^6$  CFU/mL. Larutan standard Mc Farland yang sudah jadi disimpan dalam tempat yang gelap, pada suhu 20-25°C dan harus stabil selama 6 bulan. Penggunaan standard Mc Farland tidak cocok untuk ragi dan jamur, tetapi cocok untuk bakteri seperti *E. coli* (Sutton, 2011). Pembuatan suspensi bakteri yang sesuai standard Mc Farland dengan cara mengambil 4-10 ose bakteri yang akan diuji kedalam tabung yang sudah berisi NaCl 0,9% lalu dihomogenkan lalu suspensi disetarakan dengan larutan Mc Farland. Suspensi bakteri yang sudah sesuai standard Mc Farland kemudian diencerkan dengan cara mengambil 0,1 mL suspensi bakteri dimasukkan kedalam tabung yang berisi 9,9 mL NaCl 0,9 % dan didapatkan suspensi bakteri dengan kepadatan  $10^6$  CFU/mL (Zen dkk, 2015).

Pengenceran dapat dilakukan dengan cara manual yaitu dengan Pertama dilakukan proses pengenceran  $10^{-1}$  dengan diambil suspensi bakteri

sebanyak 0,1 mL lalu dimasukkan kedalam tabung yang berisi 0,9 mL larutan pepton kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex, pengenceran  $10^{-2}$  dengan diambil 0,1mL hasil pengenceran  $10^{-1}$  lalu dimasukkan kedalam kedalam tabung yang berisi 0,9 mL larutan pepton steril kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex. Proses pengenceran ini dilakukan kembali hingga diperoleh hasil pengenceran  $10^{-6}$ . Menurut Mubarak, dkk (2016) mengungkapkan bahwa hasil pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  pada perhitungan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* memberikan hasil yang sesuai dengan syarat jumlah koloni 30-300 CFU/cawan dengan hasil pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  berturut-turut adalah 222 CFU/cawan dan 74 CFU/cawan. Semakin banyak proses pengenceran maka semakin sedikit jumlah bakteri yang ada dalam larutan, sehingga memudahkan dalam proses perhitungan koloni bakteri (Ariyanti dkk, 2016). Setelah selesai pengenceran kemudian dilakukan perhitungan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm Kekeruhan yang sesuai standart dengan Mc Farland 0,5 yaitu dengan nilai absorbansi 0,08 – 0,1 (Mubarak dkk, 2016)

Pada ekstrak *P. spicatus* dilakukan pengenceran pada dengan konsentrasi (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL, hal ini berdasarkan penelitian Penelitian Quiming dkk (2019) mengungkap bahwa ekstrak *P. spicatus* pada konsentrasi 300 mg/mL dengan metode kertas cakram mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dengan diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus* 9,33 mm dan pada bakteri *E. coli* 11,33 mm. Akan tetapi dalam penelitian ini menggunakan metode sumuran, menurut Prayoga (2013) diameter zona hambat pada metode sumuran memiliki rata-rata yang lebih besar bila dibandingkan dengan zona hambat metode kertas cakram.

Pembuatan sumuran bukan hanya pada kelima perlakuan tetapi ada pula bagian yang mengontrol sebagai standard dan acuan yang disebut dengan kontrol. Kontrol dalam uji antibakteri ini ada 2 jenis yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif berperan sebagai acuan perlakuan antibakteri yang sudah diketahui mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji, dalam hal ini menggunakan obat antibakteri kloramfenikol. Penelitian Suciari, dkk (2017) mengungkapkan bahwa kloramfenikol merupakan salah satu zat

antibakteri yang berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Kloramfenikol memiliki kemampuan dalam menghalangi penggabungan asam amino bakteri sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri. Kloramfenikol efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang dilihat dari perhitungan zona hambatnya yaitu 27,3 mm. Menurut Suryati dkk (2017) menjelaskan bahwa penggunaan antibiotik kloramfenikol lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dari pada amoksisilin (14 mm), yang dilihat dari hasil perhitungan diameter zona hambat yaitu kloramfenikol 16,3 mm dan amoksisilin 14 mm.

Setelah bahan dan larutan sudah siap maka pada NA yang sudah dituangkan pada cawan petri kemudian dibuat sumuran untuk dimasukkan ekstrak dengan konsentrasi (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL dan kontrol positif dan negatif kemudian diamati zona hambat yang ada dengan jangka sorong atau penggaris. Rumus perhitungan zona hambat menurut Surjowardojo, dkk (2016) yaitu  $Zona\ hambat = \frac{d_1+d_2}{2} - x$  dengan  $d_1$  adalah diameter vertikal zona hambat pada media,  $d_2$  adalah diameter horizontal zona hambat pada media, dan  $x$  adalah diameter lubang sumuran (6 mm). Dari perhitungan zona hambat yang diperoleh dapat diketahui ekstrak *P. spicatus* pada konsentrasi mana yang memiliki potensi antibakteri paling baik, dengan mengacu pada standard, Ngajow dkk (2013) menyebutkan kriteria potensi antibakteri, antara lain:

1. Sangat kuat = daerah hambatan 20 mm atau lebih.
2. Kuat = daerah hambatan 10 – 20 mm
3. Sedang = daerah hambat 5 – 10 mm
4. Lemah = daerah hambatan 5 mm atau kurang

Adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen ini perlu adanya Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). KHM dan KBM berfungsi untuk mengurangi terjadinya resistensi bakteri akibat penggunaan dosis antibakteri yang berlebihan. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan suatu konsentrasi terendah yang menggambarkan potensi antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri

yang dituju. KHM bertujuan untuk meminimalisir adanya resistensi bakteri akibat penggunaan dosis senyawa antibakteri yang berlebihan serta dapat meningkatkan efektifitas dari kerja senyawa antibakteri tersebut.

KHM dan KBM merupakan metode yang saling berkaitan satu sama lain, KBM merupakan lanjutan dari penentuan KHM. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) atau Minimum Bacteridal Concentration (MBC) adalah salah satu metode yang dapat menggambarkan kadar paling rendah yang dapat membunuh bakteri yang dituju serta pada pengamatan visual dapat memberikan zona jernih pada media yang menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan bakteri di zona tersebut (Efendi dan Hertiani,2013). KBM adalah nilai terendah dari antibakteri dalam membunuh 99,9% pada biakan waktu tertentu, KBM dikatakan efektif ketika tidak terjadi pertumbuhan lagi pada media (Soleha,2015).

Antibakteri dianggap memenuhi standar KBM apabila pertumbuhan koloni bakteri kurang dari 0,1 dari jumlah koloni pada awal inokulum (Bangkele dkk, 2015). Aisy (2016) menjelaskan bahwa satu sel hidup yang dibiakkan pada media agar akan memunculkan koloni bakteri, cara menghitungnya, dihitung 1 koloni apabila bentuk koloni tunggal, sejumlah besar koloni bakteri yang saling terhubung satu sama lain, dan koloni yang bentuknya seperti rantai. Koloni dianggap 2 koloni apabila bentuknya bersinggungan dan melebar, koloni yang bertumpukan dan saling berhubungan, dan koloni yang saling terhubung tapi masih dapat dibedakan. Selain dari perhitungan koloni yang tumbuh pada media, pengamatan KBM juga memperhatikan pada konsentrasi terendah berapakah ekstrak mampu membunuh 99,9 % mikroba biakan dalam waktu tertentu. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan mengamati pertumbuhan koloni bakteri yang diujikan, cawan petri dengan konsentrasi ekstrak terendah yang mampu membunuh bakteri secara total, dan tidak terdapat bakteri pada media maka konsentrasi itulah yang ditentukan sebagai KBM (Munfaati dkk, 2015).

## 2.7 Analisis Data

Data zona hambat, nilai KHM dan KBM yang telah diperoleh perlu adanya analisis statistika untuk membantu mengolah data dan menyimpulkan hasil penelitian. Analisis statistika yang diawali dengan uji homogenitas dan normalitas. Febrianasari (2018) mengungkapkan bahwa uji normalitas dilakukan untuk mengetahui data yang dianalisis memiliki distribusi yang normal atau tidak. Syarat data dianggap normal apabila sesuai dengan taraf signifikansi ( $\alpha = 0,05$ ). Data terdistribusi normal apabila nilai signifikan  $> \alpha$  sedangkan data dianggap tidak terdistribusi normal apabila nilai signifikan  $< \alpha$ . Langkah selanjutnya uji homogenitas yang bertujuan untuk mengetahui sama atau tidak varian pada beberapa populasi. Data dianggap tidak homogen apabila nilai signifikan  $< \alpha$  sedangkan data dianggap homogen apabila nilai signifikan  $> \alpha$ . Arti  $\alpha = 0,05$  menurut Sulisetijono (2016) adalah peluang atau kemungkinan untuk menolak  $H_0$  padahal  $H_0$  benar sebesar 0,05. Maksud dari pernyataan tersebut adalah dalam 100 kali penolakan  $H_0$  terdapat 5 kali menolak  $H_0$  walaupun  $H_0$  benar. Hasil dari analisis ini dapat diketahui data yang diperoleh normal dan homogen atau tidak.

Data yang normal dan homogen akan dilakukan uji ANOVA satu arah, menurut Sulisetijono (2016) syarat untuk melakukan teknik ANOVA antara lain data parametrik yang digunakan sudah diuji normalitas dan homogenitas. Wahyuni, dkk (2016) menggunakan ANOVA satu arah untuk mengetahui ada tidaknya perubahan jumlah bakteri yang digunakan terhadap setiap perlakuan yang diberikan. Selain itu menurut Munfaati, dkk (2015) analisis Anava satu arah dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) ekstrak meniran terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Dalam penelitian ini ANOVA satu arah digunakan untuk mengetahui apakah ada penurunan koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada tiap konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang diberikan.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini deskriptif kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari dua tahap, tahap pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut etil asetat pada ekstrak *P. spicatus* terhadap aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Tahap kedua untuk mengetahui nilai KBM dan KHM. Pada tahap KBM dan KHM menggunakan variasi konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang terdiri dari 5 konsentrasi, antara lain (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL.

#### 3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai Oktober 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.3 Alat dan Bahan

##### 3.3.1 Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini ada beberapa proses antara lain, proses ekstraksi membutuhkan neraca analitik, gelas arlorji, shaker, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, alumunium foil, oven, erlenmeyer, *rotary evaporator vacuum*, corong Buchner, toples kaca, ayakan 60 mesh, pengaduk gelas, blender, plastik wrap, kertas saring.

Uji aktivitas bakteri, dan penghitungan nilai KHM dan KBM membutuhkan autoklaf, *hotplate*, shaker, inkubator, gelas ukur, LAF (*Lamina Air Flow*), kuvet, korek api, erlenmeyer, koloni counter, tabung reaksi, mikro pipet, jangka sorong, jarum aose, cawan petri, spatula drigalsky, stirer, plastik wrap, alumunium foil, kapas, vortex dan bunsen.

##### 3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, ekstrak bagian daun dari *Pseudelephantopus spicatus* yang didapatkan di daerah kecamatan

Lowokwaru, Malang. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Etanol 70 % (Merck), media *nutrient agar* (Merck), media *Nutrient Broth* (Himedia), biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (koleksi UB), alkohol 70%, NaCl 0,9%, Chloramphenicol, safranin, kristal violet, lugol, malachite green kertas label, dan tisu.

### 3.4 Variabel

Penelitian ini memiliki beberapa macam variabel, antara lain variabel bebas (mempengaruhi), variabel terikat (dipengaruhi), dan variabel kontrol. Penjelasannya sebagai berikut:

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas atau yang mempengaruhi hasil perlakuan dalam penelitian ini adalah ekstrak *P. spicatus* yang dibuat dalam beberapa konsentrasi (200, 250, 300, 350, 400) mg/mL.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat atau yang dipengaruhi oleh perlakuan dalam penelitian ini adalah zona hambat yang dihasilkan, nilai KHM dan KBM.

#### 3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang merupakan variabel yang diperlakukan sama dalam penelitian ini adalah media yang digunakan, suhu, waktu inkubasi, serta bakteri yang diujikan.

### 3.5 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan, antara lain:

#### 1. Pembuatan ekstrak *P. spicatus*

#### 2. Pengujian konfirmasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

- a) Pewarnaan Gram
- b) Pewarnaan endospora
- c) Uji katalase

#### 3. Peremajaan dan pembuatan inokulum bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

- a) Pembuatan media
  - b) Peremajaan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*
  - c) Pembuatan Inokulum dan pengenceran bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
4. Uji aktivitas antibakteri ekstrak *P. spicatus* terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*.
  5. Uji KHM dan KBM ekstrak *P. spicatus* terhadap bakteri bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
  6. Analisis data hasil penelitian.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pembuatan Ekstrak *P. spicatus***

##### **3.6.1.1 Preparasi Sampel**

Bahan ekstrak yaitu bagian daun tumbuhan *P. spicatus*, dipisahkan dari bagian yang tidak digunakan maupun dari tumbuhan pengganggu lainya atau disebut dengan proses sortasi, kemudian daun *P. spicatus* dicuci sampai bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada sampel. Sampel lalu dipotong kecil-kecil, agar memudahkan proses ekstraksi, menurut Setiawan dkk (2017) proses penghancuran sampel menjadi bentuk yang lebih kecil mengakibatkan rusaknya dinding sel, sehingga memudahkan pelarut untuk masuk ke dalam sel dan melarutkan senyawa aktif yang terdapat dalam sel keluar, sehingga aktivitas pelarut dan zat terlarut menjadi lebih efektif. *Pseudelephantopus spicatus* kemudian dikeringkan dengan dikering anginkan dalam ruangan sampai layu, lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40<sup>0</sup>C selama 2 hari. Proses pengeringan bertujuan agar sampel memiliki kadar air yang rendah sehingga tidak mudah rusak akibat aktivitas mikroorganisme dan sampel menjadi lebih tahan lama (Setiawan dkk,2017). Simplisia yang sudah jadi kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender atau grinder sampai berbentuk serbuk. Setelah itu dilakukan proses ekstraksi maserasi.

### 3.6.1.2 Ekstraksi Maserasi

Proses ekstraksi dimulai dengan menimbang serbuk *P.spicatus* sebanyak 30 gram, untuk dilarutkan pada pelarut yaitu etil asetat. Masing-masing ekstraksi menggunakan perbandingan 1:25, Ekstraksi terdiri dari 30 gr serbuk *P.spicatus* dan 750 mL etanol 70%. Ekstraksi menggunakan wadah toples kaca, dan ditutup dengan alumunium foil atau koran bekas agar terhindar dari cahaya yang dikhawatirkan dapat mempengaruhi proses ekstraksi. Proses ini dilakukan selama 48 jam dalam suhu ruang dengan sesekali diaduk agar senyawa terlarut dengan optimal. Setelah ekstraksi, larutan disaring dengan menggunakan kertas saring dan corong gelas kemudian filtrat dikumpulkan, kemudian untuk memisahkan pelarut dan zat terlarut menggunakan *rotary evaporator vacuum* (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016).

### 3.6.2 Pengujian Konfirmasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Uji konfirmasi bakteri dilakukan dengan 3 tahapan, yaitu uji pewarnaan Gram, uji pewarnaan endospora dan uji katalase. Uji pewarnaan Gram diawali dengan diambil 1 ose bakteri lalu ditotolkan atau dioleskan pada gelas objek selanjutnya ditetesi 1-2 tetes aquades dan dihomogenkan. Langkah selanjutnya difiksasi dengan cara gelas objek digerakkan kekanan dan ke kiri diatas api bunsen hingga mengering. Setelah itu diberi zat warna kristal violet dan ditunggu selama 60 detik lalu dibilas dengan aquades dan preparat dikeringkan diatas api bunsen. Kemudian diberi larutan 1-2 tetes larutan iodin selama 30 detik lalu dibilas dengan aquades dan preparat dikeringkan diatas api bunsen, kemudian dibilas dengan alkohol selama 15 detik, lalu dibilas dengan aquades. Selanjutnya diberi 1 tetes larutan safranin (zat warna tanding), diamkan selama 1 menit, bilas dengan aquades dan dikeringkan (Fhitryani, 2017). Diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x, dicatat dan disesuaikan dengan ciri Gram positif dan negatif. Bakteri Gram positif (*S. aureus*) akan mempertahankan pewarna kristal violet sehingga berwarna ungu, bakteri Gram negatif (*E. coli*) akan mempertahankan pewarna safranin sehingga berwarna merah (Pratita dan Putra, 2012).

Pewarnaan endospora diawali dengan mengambil 1 ose dan digoreskan pada permukaan gelas objek. Langkah selanjutnya adalah fiksasi, gelas objek yang telah

digores bakteri uji kemudian kertas saring dililitkan pada gelas objek, lalu ditetesi malachite green sebanyak 1 tetes dan didiamkan selama 4 menit. Setelah itu kertas saring dilepaskan dan gelas objek dibilas dengan air mengalir. Setelah itu gelas objek dikeringkan di atas api bunsen. Setelah gelas objek kering, diberikan safranin sebanyak 1 tetes. Gelas objek tersebut kemudian didiamkan selama 5 menit. Kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Bakteri yang memiliki endospora akan berwarna hijau karena mempertahankan pewarna malachite green, sedangkan bakteri yang tidak memiliki endospora akan berwarna merah karena mempertahankan pewarna safranin (Pratita dan Putra, 2012).

Pengujian bakteri Gram positif dan negatif selanjutnya adalah uji katalase. Pengujian ini tergolong mudah dari pada pewarnaan Gram maupun pewarnaan endospora, uji katalase dilakukan dengan menyiapkan gelas objek yang sudah steril kemudian meneteskan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% kemudian ditambahkan biakan bakteri dan dihomogenkan secara perlahan. Hasil positif ditandai dengan munculnya gelembung udara (Dewi, 2013).

### **3.6.3 Peremajaan dan pembuatan inokulum bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

#### **3.6.3.1 Pembuatan Media**

Pembuatan *nutrient agar* (NA) dengan melarutkan 2 gr serbuk NA dengan 100 mL aquades kedalam erlenmeyer, bibir erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Kemudian dihomogenkan dengan stirer serta dipanaskan diatas hot plate hingga mendidih. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf (Rachmawati, 2016). Pembuatan *nutrient broth* (NB) dengan melarutkan 0,8 gr media NB (*Nutrient Broth*) dengan 100mL aquades kedalam erlenmeyer, lalu ujung erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Larutan dalam erlenmeyer dihomogenkan dengan stirer dan diletakkan diatas hot plate hingga mendidih. Setelah itu disterilkan di autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 1 atm selama 15 menit (Dewi, 2010).

#### **3.6.3.2 Peremajaan Biakan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli***

Alat-alat yang akan digunakan beserta media NA disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C dengan tekanan 15psi, setelah itu media

didiamkan selama 60 menit dalam keadaan miring. Peremajaan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan dengan tabung yang berisi media NA didekatkan api pada ujung tabung dan kemudian digoreskan 1 jarus ose yang berisi bakteri ke permukaan media. Setelah itu ujung tabung ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada 37°C selama 1 hari (Rachmawati, 2016).

### 3.6.2.3 Pembuatan Inokulum *S. aureus* dan *E. coli*

Tabung berisi media disterilkan dan dimasukkan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diambil 2 ose kemudian di masukan pada media NB lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Rachmawati, 2016). Setelah pembuatan inokulum selesai kemudian dilanjutkan dengan proses pengenceran bertingkat. Pengenceran dapat dilakukan dengan cara manual yaitu dengan dilakukan proses pengenceran 10<sup>-1</sup> dengan perbandingan 9:1, dimasukkan 9 mL NaCl 0,9% steril kedalam tabung reaksi yang sudah steril, lalu ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 1 mL kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex. Hasil pengenceran tersebut kemudian dicek nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm. Kekeruhan yang sesuai standart dengan Mc Farland 0,5 yaitu dengan nilai absorbansi 0,08 – 0,1 (Mubarak dkk, 2016). Hasilnya berupa tabung berisi bakteri biakan *S. aureus* dan *E. coli* yang sesuai standart dan siap digunakan untuk uji antibakteri, KHM, dan KBM.

### 3.6.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Disiapkan tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang sudah sesuai dengan konsentrasi 0,5 Mc Farland. Suspensi bakteri tersebut diinokulasikan kedalam 2 cawan petri yang sudah berisi 15 mL media NA dengan menggunakan cotton swab steril. Setelah itu dibuat lubang sumuran berdiameter seperti cakram disk (6 mm), pada cawan petri yang pertama dibuat 2 lubang sumuran, untuk kontrol positif dan kontrol negatif, sedangkan pada cawan petri lainnya dibuat 4 lubang sumuran, yang akan diisi 300 mg/mL ekstrak *P.spicatus* sebanyak 50 µl dengan menggunakan mikropipet serta diberi tanda pada cawan petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lalu diamati zona

hambat yang terbentuk dan diukur dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong (Prayoga,2013; Zen dkk, 2015). Rumus perhitungan zona hambat menurut Surjowardojo, dkk (2016) yaitu :

$$\text{Zona hambat (mm)} = \frac{d_1+d_2}{2} - x \dots\dots\dots(\text{Rumus 1})$$

$d_1$  = diameter vertikal zona hambat pada media

$d_2$  = diameter horizontal zona hambat pada media

$x$  = diameter lubang sumuran (6 mm).

Hasil pengukuran zona hambat diketahui kemampuan masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Setelah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri kemudian dilakukan penentuan konsentrasi paling rendah antibiotik dari ekstrak *P. spicatus* untuk menghindari penggunaan antibiotik yang berlebihan yang dapat dilakukan dengan uji KHM dan KBM.

### 3.6.5 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dapat dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair. Pada ekstrak *P.spicatus* yang akan digunakan sudah terlebih dahulu diencerkan dengan aquades steril. Selanjutnya disiapkan 2 tabung reaksi sebagai kontrol, tabung ke-1 digunakan sebagai kontrol negatif *E. coli* yang diisi dengan 9 mL NB, ditambahkan 0,5 mL aquades dan 0,5 mL suspensi bakteri *E. coli*, sedangkan tabung ke-2 digunakan sebagai kontrol negatif *S.aureus* yang diisi dengan 9 mL NB, ditambahkan 0,5 mL aquades dan 0,5 mL suspensi bakteri *S.aureus*. Kontrol positif, digunakan 2 tabung yaitu tabung ke-3, diisi 9 mL NB, 0,5 mL klorampenikol dan 0,5 mL suspensi *E. coli*, tabung ke-4 diisi 9 mL NB, 0,5 mL klorampenikol, dan 0,5 mL suspensi *S.aureus* (Rachmawati, 2016).

Pengujian KHM pada suspensi bakteri *E. coli* tabung diisi dengan masing-masing 9 mL NB steril, ditambahkan 0,5 mL suspensi bakteri *E. coli* dan 0,5 mL ekstrak *P. spicatus* dengan konsentrasi berurutan yaitu 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL yang diulang 4 kali. Pengujian KHM pada suspensi bakteri *S. aureus* masing-masing tabung diisi dengan 9 mL NB dan 0,5 mL suspensi bakteri *S. aureus*, ditambahkan dengan 0,5 mL ekstrak *P. spicatus*, diulang 4 kali. Setelah itu dihomogenkan dengan vortex, dan dihitung nilai OD sebelum inkubasi mengguna

kan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu dihitung nilai OD setelah inkubasi. (Munfaati dkk, 2015). Rumus perhitungan KHM menurut Rachmawati (2016) sebagai berikut:

**KHM (nm) = OD setelah inkubasi – OD sebelum inkubasi ..... (Rumus 2)**

Nilai OD mampu memberikan gambaran tentang pertumbuhan bakteri, karena cahaya yang diserap oleh sel berbanding lurus dengan jumlah sel, sehingga mampu dijadikan acuan dalam melihat banyaknya sel bakteri dari keruhan (Munfaati dkk, 2015). Hasil perhitungan KHM dinyatakan positif apabila selisih nilai OD setelah dan nilai OD sesudah menunjukkan angka negatif (-), hal ini menunjukkan bahwa nilai OD sebelum inkubasi lebih besar (lebih keruh) daripada sesudah inkubasi. Setelah diperoleh data dari uji KHM selanjutnya dilakukan pengujian konsentrasi minimum kemampuan ekstrak *P.spicatus* dalam membunuh bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dalam uji KBM.

### 3.6.6. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Penentuan uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan lanjutan dari uji KHM, diawali dengan menyiapkan media NA kedalam 40 cawan petri steril, ditunggu sampai media NA memadat. Media NA yang sudah memadat kemudian dimasukkan 200 µL larutan hasil uji KHM yang mana telah dipilih konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang sesuai kriteria yang telah ditentukan, serta kontrol positif dan negatif, kemudian diratakan secara *spread plate* menggunakan spatula drigalsky. Perlakuan ini dilakukan pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, masing-masing perlakuan diulangi empat kali ulangan. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi dapat dilihat dan dihitung koloni bakteri yang ada pada cawan petri. Penentuan nilai KBM dengan cara menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada media, diamati pada konsentrasi terendah yang mampu membunuh 99,9 % mikroba biakan dengan ditandai media NA bersih tanpa adanya koloni yang muncul (Munfaati dkk, 2015). Berikut perhitungan jumlah koloni bakteri menurut Mara dan Horan (2013):

**Jumlah bakteri yang hidup (CFU/mL) = (Jumlah koloni x faktor pengenceran): Volume inokulum.....(Rumus 3)**

Keterangan: jumlah koloni yang lebih dari 300 pada pengenceran maka ditulis dengan TBUD (terlalu banyak untuk digitung)

Penentuan perhitungan koloni bakteri menurut Aisy (2016)

1 koloni = bentuk koloni tunggal, sejumlah besar koloni bakteri yang saling terhubung satu sama lain, dan koloni yang bentuknya seperti rantai.

2 koloni = bentuk koloni bersinggungan dan melebar, koloni yang bertumpukan dan saling berhubungan, dan koloni yang saling terhubung tapi masih dapat dibedakan

### 3.6.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa nilai dari uji antibakteri, KHM, dan KBM. Data uji antibakteri diperoleh dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekeliling sumuran. Data yang diperoleh kemudian diuji statistika menggunakan SPSS versi 22 yang diawali dengan uji normalitas dan homogenitas. Data yang terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan uji ANOVA *one way*, kemudian analisis data dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau Tukey untuk melihat perbedaan yang bermakna antar sampel uji dengan diameter zona hambat. Data uji KHM diperoleh dengan menghitung selisih OD sebelum dan sesudah inkubasi, penurunan kekeruhan sesudah inkubasi menggambarkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri uji yang disebabkan oleh ekstrak, dan dilihat konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Data uji KBM ditentukan dengan konsentrasi terkecil yang mampu membunuh mikroba yang dapat diketahui melalui ada tidaknya bakteri yang tumbuh pada media NA, perhitungan koloni bakteri bisa menggunakan *colony counter* atau dihitung secara manual.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri uji termasuk ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* (Wahyuningsih, 2017). Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang digunakan dalam uji antibakteri terlebih dahulu dipastikan identitasnya dengan menggunakan uji konfirmasi bakteri yang terdiri dari tiga jenis yaitu uji pewarnaan Gram, endospora, dan katalase. Data hasil uji konfirmasi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* terdapat pada lampiran 2.4. Berdasarkan uji konfirmasi bakteri di atas menunjukkan bahwa bakteri yang diujikan benar-benar *S. aureus* dan *E. coli*, oleh karena itu dilanjutkan uji antibakteri. Penentuan hasil uji antibakteri dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan. Hasil uji antibakteri ekstrak *P. spicatus* ditunjukkan pada tabel 4.1 berikut:

Tabel 4.1 uji aktivitas antibakteri ekstrak *P. spicatus* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Sampel Uji	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
	Rata-rata	Rata-rata
Ekstrak 300 mg/mL	18,30 ± 1,03 <sup>b</sup>	13,49 ± 1,78 <sup>b</sup>
Kontrol Positif	28,73 ± 1,15 <sup>c</sup>	30,73 ± 1,15 <sup>c</sup>
Kontrol Negatif	0 ± 0 <sup>a</sup>	0 ± 0 <sup>a</sup>

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan uji antibakteri ekstrak *P. spicatus*

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak *P. spicatus* 300 mg/mL memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, dengan diameter zona hambat pada bakteri *E. coli* 13,49 mm dan pada bakteri *S. aureus* berdiameter 18,30 mm. Hal ini didukung oleh penelitian Quiming dkk (2019) yang menyatakan bahwa ekstrak *P. spicatus* mampu mengganggu pertumbuhan bakteri

Gram negatif dan Gram positif seperti *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat, dan kontrol positif (kloramfenikol) memiliki diameter zona hambat 30,73 mm pada bakteri *E. coli*, dan 28,73 pada bakteri *S. aureus* yang mana keduanya tergolong sangat kuat. Menurut Ngajow dkk (2013) menyatakan bahwa zona hambat pada suatu zat digolongkan kuat apabila memiliki nilai 10-20 mm.

Hasil perhitungan diameter zona hambat ekstrak *P. spicatus* 300 mg/mL terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* selanjutnya perlu dianalisis statistika untuk membantu mengolah data dan menyimpulkan hasil uji aktivitas antibakteri pada ekstrak *P. spicatus*. Hasil uji normalitas, homogenitas, dan ANOVA *oneway* ditunjukkan pada Lampiran 2.8. Langkah selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada masing-masing perlakuan, maka perlu dilakukan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) atau Tukey. Pada tabel 4.1 memperlihatkan bahwa adanya notasi yang sama pada hasil zona hambat *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa adanya persamaan pengaruh pembentukan zona hambat ekstrak *P. spicatus* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Namun apabila dilihat dari rata-rata diameter zona hambatnya, diameter zona hambat pada *S. aureus* lebih besar daripada zona hambat *E. coli*.

Berdasarkan hasil penelitian ini, menunjukkan bahwa ekstrak *P. spicatus* 300 mg/mL memberikan pengaruh antibakteri yang lebih tinggi pada bakteri *S. aureus* bila dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Bakteri Gram positif seperti *S. aureus* lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri, karena struktur dindingnya yang lebih sederhana bila dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Menurut Lingga, dkk (2015) menyatakan bahwa struktur dinding bakteri Gram positif lebih sederhana, sebagian besar terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya asam teikoat. Menurut Dewi (2010) menjelaskan bahwa asam teikoat merupakan polimer larut dalam larutan yang polar. Menurut Fitriah, dkk (2017) mengungkapkan bahwa senyawa-senyawa yang tergolong dalam golongan polar antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut terkandung dalam ekstrak *P. spicatus* sehingga membuat dinding sel bakteri *S. aureus* menjadi mudah rusak.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan *P. spicatus* yang dianggap tanaman pengganggu dan liar memiliki manfaat bagi makhluk Allah lainnya termasuk manusia, yang mana dapat membantu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *S. aureus* dan *E. coli*. Al-Quran merupakan kitab Agung yang sangat kompleks, banyak hal didalamnya yang saling berkaitan satu sama lain, seperti halnya yang tersirat dalam surrah Al-Mulk [67]:15 sebagai berikut

هُوَ الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ ذُلُولًا فَامْشُوا فِي مَنَاكِبِهَا وَكُلُوا مِنْ رِزْقِهِ ۗ وَإِلَيْهِ الدُّشُورُ

Artinya :

“Dialah yang menjadikan bumi untuk kamu yang mudah dijelajahi, maka jelajalah disegala penjurunya dan makanlah Sebagian dari rezeki-Nya dan hanya kepada-Nya-lah kamu (Kembali setelah) dibangkitkan.”

Kitab *Tafsir Al-Azhar* mengartikan kata “*Dzalulan*” artinya rendah, dibawah kaki manusia. Maknanya Allah telah menciptakan bumi sebagai pijakan manusia hendaklah manusia memanfaatkan apa yang telah Allah sediakan. Pada kalimat “*Wa kuluu min rizgihii*” artinya dan “*makanlah daripada rezeki-Nya*” yakni usahakanlah dengan segala daya upaya yang ada padamu, termasuk akal dan pikiran (Hamka,1999). Dari penjelasan tafsir ayat Al-Quran tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa Allah telah menyebarkan rezeki-rezeki dimuka bumi ini, untuk diperhatikan dan dipikirkan oleh manusia, termasuk kandungan zat antibakteri yang terdapat pada tumbuhan *P. spicatus*.

Potensi antibakteri pada ekstrak *P. spicatus* 300 mg/mL memang dapat dilihat dari diameter zona hambat yang dimiliki, akan tetapi diperlukan konsentrasi paling rendah untuk diuji KHM (konsentrasi hambat minimum) dari ekstrak *P. spicatus* sehingga dalam penelitian ini dilakukan perbandingan beberapa konsentrasi *P. spicatus* yaitu 200 mg/mL, 250 mg/mL, 300 mg/mL, 350 mg/mL, dan 400 mg/mL. Lima konsentrasi tersebut selanjutnya akan diujikan KHM untuk mengetahui pada konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

## 4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh (KBM) Ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

### 4.2.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Uji konsentrasi hambat minimum atau KHM dilakukan dalam penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi terendah dari ekstrak *P. spicatus* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Untuk mendapatkan hasil dari uji KHM dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebelum maupun sesudah inkubasi yang dilihat dari perbedaan kekeruhan larutan menggunakan spektrofotometer (Rachmawaty, 2016). Berikut hasil uji KHM ditunjukkan pada tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.2 Hasil KHM ekstrak *P. spicatus*, kontrol positif, kontrol negatif terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri Uji	Perlakuan	Hasil
<i>E. coli</i>	Konsentrasi 200 mg/mL	-
	Konsentrasi 250 mg/mL	-
	Konsentrasi 300 mg/mL	-
	<b>Konsentrasi 350 mg/mL</b>	<b>+</b>
	Konsentrasi 400 mg/mL	-
	Kontrol positif	+
	Kontrol negatif	-
<i>S. aureus</i>	Konsentrasi 200 mg/mL	-
	<b>Konsentrasi 250 mg/mL</b>	<b>+</b>
	Konsentrasi 300 mg/mL	+
	Konsentrasi 350 mg/mL	+
	Konsentrasi 400 mg/mL	-
	Kontrol positif	+
	Kontrol negatif	-

Hasil pengamatan uji KHM ekstrak *P. spicatus* pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ditunjukkan pada table 4.2 Konsentrasi terendah yang memiliki hasil positif dalam uji KHM pada bakteri *E. coli* adalah konsentrasi 350 mg/mL, pada bakteri *S.*

*aureus* terdapat pada konsentrasi 250 mg/mL. Sedangkan pada hasil kontrol positif pada kedua bakteri memberikan hasil positif dan kontrol negatif memiliki hasil negatif pada kedua bakteri uji. Nilai positif pada table 4.2 menunjukkan bahwa adanya penurunan nilai selisih OD sebelum dan sesudah inkubasi, penurunan kekeruhan disebabkan karena adanya aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri uji (Zen dkk, 2013). Sehingga konsentrasi 250 mg/mL sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu 350 mg/mL. akan tetapi, pada konsentrai 400 mg/mL nilai uji KHM negatif, kemungkinan ekstrak yang digunakan terlalu pekat, sehingga kekeruhan yang dihasilkan bukan karena penambahan jumlah bakteri melainkan terlalu pekat ekstrak. Menurut Rohma (2020) menyatakan bahwa penggunaan alat spektrofotometer dalam menghasilkan nilai *Optical Density* (OD) berdasarkan tingkat kekeruhan suspensi juga memiliki kekurangan dalam membaca jumlah koloni mikroba, kepekaannya terhadap kekeruhan suspensi yang dapat disebabkan oleh faktor lain selain sel mikroba, seperti halnya konsentrasi ekstrak yang terlalu pekat, sehingga kepekatan ekstrak bisa saja menjadi faktor pengganggu yang dapat terbaca sebagai pertumbuhan mikroba.

#### **4.2.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak *Pseudelephantopus spicatus* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli***

Uji KBM merupakan uji lanjutan dari uji KHM, konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang positif uji KHM (mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*) yang akan melanjutkan ke tahap uji KBM. Konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang positif menghambat *S. aureus* dan lanjut ke tahap uji KBM antara lain konsentrasi 250 mg/mL, 300 mg/mL, 350 mg/mL, dan 400 mg/mL. Pada ekstrak *P. Spicatus* yang positif menghambat *E. coli* dan lanjut ke tahap uji KBM antara lain konsentrasi 350 mg/mL dan 400 mg/mL. Hasil uji KBM diperoleh dari ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media NA, konsentrasi ekstrak *P. spicatus* dianggap positif KBM apabila tidak ditemukan koloni bakteri pada media NA. Hasil uji KBM ditunjukkan pada tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3 Hasil uji KBM ekstrak *P. spicatus*, kontrol positif, kontrol negatif terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri uji	Perlakuan	Jumlah koloni bakteri (CFU/mL)
<i>S. aureus</i>	Ekstrak 250(mg/mL)	$6,5 \times 10^3$
	Ekstrak 300 (mg/mL)	$2,95 \times 10^3$
	Ekstrak 350 (mg/mL)	$5,87 \times 10^2$
	Ekstrak 400 (mg/mL)	$4 \times 10^2$
	Kontrol (+)	0
	Kontrol (-)	$10^4$
<i>E. coli</i>	Ekstrak 350 (mg/mL)	$7 \times 10^2$
	Ekstrak 400 (mg/mL)	$3,12 \times 10^2$
	Kontrol (+)	0
	Kontrol (-)	$1,15 \times 10^4$

Tabel 4.3 menjelaskan jumlah koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang mampu hidup pada media padat NA. Jumlah koloni bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 250 mg/mL, 300 mg/mL, 350 mg/mL, dan 400 mg/mL secara berurutan antara lain  $6,5 \times 10^3$  CFU/mL,  $2,95 \times 10^3$  CFU/mL,  $5,87 \times 10^2$  dan  $4 \times 10^2$  CFU/mL. Pada hasil kontrol positif, yang mana diberikan kloramfenikol tidak ada koloni bakteri *S. aureus* yang tumbuh dan pada kontrol negatif yang tidak diberikan kloramfenikol melainkan hanya aquades steril pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus* mencapai  $10^4$  CFU/mL. sedangkan rata-rata jumlah koloni bakteri *E. coli* pada konsentrasi 350 mg/mL, dan 400 mg/mL secara berurutan antara lain  $7 \times 10^2$  CFU/mL dan  $3,12 \times 10^2$  CFU/mL. Pada hasil kontrol positif, yang mana diberikan kloramfenikol tidak ada koloni bakteri *E. coli* yang tumbuh dan pada kontrol negatif yang tidak diberikan kloramfenikol melainkan hanya aquades steril pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* mencapai  $1,15 \times 10^4$  CFU/mL. Dari penjelasan tersebut dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah koloni bakteri yang hidup semakin sedikit (Pelczar dan Chan,1986).

Pemanfaatan ekstrak *P. spicatus* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* memerlukan konsentrasi terendah yang disebut dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh minimum). KHM dan KBM berfungsi untuk mengurangi terjadinya resistensi bakteri akibat penggunaan dosis antibakteri yang berlebihan. Segala sesuatu memiliki takaran dan ukuran masing-masing termasuk dalam memberikan dosis dalam penggunaan

ekstrak *P. spicatus* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam Al-Quran dalam surah Al- A'raf [7]:31 sebagai berikut.

يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِندَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا ۗ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya:

“Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.”

Al-Jazairi (2007) mengungkapkan bahwa lafadz “*Wala Tusrifu*” artinya makan dan minumlah secukupnya, jangan berlebihan. Serta lafadz “*Israaf*” mengandung arti melebihi batas yang seharusnya. Dari tafsir ini menjelaskan bahwa Allah SWT tidak menyukai segala sesuatu yang berlebihan dan melebihi batas. Segala sesuatu ada ukuran dan batasnya. Begitu pula dengan pemakaian antibakteri, perlu adanya ukuran yang sesuai. Sehingga adanya uji KHM dan KBM penting untuk dilakukan dalam penelitian ini.

Hasil pengujian KHM dan dilanjutkan dengan uji KBM terlihat bahwa ekstrak *P. spicatus* mempunyai aktivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* daripada bakteri *E. coli*. Hal ini terlihat dari hasil uji KHM kedua bakteteri uji, hasil selisih OD sebelum dan sesudah inkubasi lebih banyak terjadi penurunan nilai OD pada bakteri *S. aureus* yang tercatat terdapat pada konsentrasi 250 mg/mL, 300 mg/mL, 350 mg/mL, dan 400 mg/mL. Sedangkan pada bakteri *E. coli* hanya satu konsentrasi yang ditemukan terjadi penurunan nilai OD yaitu konsentrasi 350 mg/mL.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain:

1. Ekstrak tapak liman semu (*Pseudelephantopus spicatus*) memiliki potensi antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dilihat dari diameter zona hambatnya. Rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus* adalah 18,30 mm dan pada bakteri *E. coli* adalah 13,49 mm. Kedua hasil tersebut tergolong dalam kriteria kuat dalam menghambat bakteri uji.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak *P.spicatus* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dilihat dari selisih nilai OD sebelum dan sesudah inkubasi. Konsentrasi terendah ekstrak *P. spicatus* yang positif uji KHM pada bakteri *E. coli* adalah konsentrasi 350 mg/mL, dan untuk bakteri *S. aureus* adalah konsentrasi 250 mg/mL. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilihat dari jumlah koloni bakteri yang hidup pada media NA. Pada semua konsentrasi yang diujikan masih ditemukan koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sehingga konsentrasi terendah dari ekstrak *P. spicatus* yang mampu membunuh bakteri *S. aureus* dan *E. coli* belum ditemukan.

#### **5.2 Saran**

Saran yang perlu dilakukan dalam penelitian selanjutnya antara lain:

1. Perlu dilakukan uji kromatografi untuk mengetahui senyawa aktif dalam ekstrak *P. spicatus* yang paling dominan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Perlu adanya uji lanjutan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak *P. spicatus* yang mampu membunuh bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, m. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam Syafii.
- Adebayo, Oseni Lateef., Suleman, Dawda., dan Samson, Abagale Aba. 2013. Natural Products in Antileishmanial Drug Discovery: A Review. *Journal of Asian Scientific Research*. 3(2).
- Adfa, Morina. 2008. Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Linn.). *Jurnal Gradien*. 4(1).
- Afrisetiawati, Rani., Erly, dan Endrinaldi. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang yang Diproduksi DAMIU di Kelurahan Lubuk Buaya Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(3).
- Agustina, Eva., Andiarna, Funsu., Lusiana, Nova., Purnamasari, Risa., dan Hadi, Moch Irfan. 2018. Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *BIOTROPIC The Journal of Tropical biology*. 2(2).
- Aisy, Rohadatul. 2016. **Ekstraksi Senyawa Antibiotik Akar Plethekan (*Ruellia tuberosa* L) dengan Variasi Pelarut Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrai Bunuh Minimum (KBM)**. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Akbar, Ali dan Anal, Anil Kumar.2011. Food Safety Concerns and Food-Borne Pathogens, *Salmonella, Escherichia coli* And *Campylobacter*. *Fuuast Journal Biology*. 1(1).
- Alegantina, Sukmiyati, danIsnawati, Ani. 2010. Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Kumarin Dalam Ekstrak Metanol *Artemisia Annu L*. Secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 38(1).
- Alen, Yohannes., Agresa, Fitria Lavita., dan Yuliandra, Yori. 2017. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi dan Kimia*. 3(2).
- Al-Jazairi, S.A.B.J.2007. *Tafsir Al-Quran Al-Aisar*.Bandung:ITB
- Al-Qurthubi S.I. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi diterjemahkan oleh Asmuni*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Amaliah, Zakiyah Zahra Nur, Bahri, Saiful dan Amelia, Puteri. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 5(1)
- Amelinda, Ega., Widarta, I Wayan Rai., dan Darmayanti, Luh Putu Trisna. 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*.7(4).
- Andriani, Cut Riska., Oesman, Frida dan Nursanty, Risa. 2016. Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal kedokteran syiah kuala*. 6(1).
- Ardianingsih, Diana. 2015. **Keanekaragaman Famili Asteraceae Di Kawasan Kampus IPB Darmaga, Bogor**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Skripsi

- Ariyanti, Vera Nabila., Supriharyono, dan Widyorini, Niniek. 2016. Hubungan Kerapatan Lamun Dengan Kelimpahan Bakteri Heterotrof Di Perairan Pantai Kartini Kabupaten Jepara. *Diponegoro Journal of Maquares Management of Aquatic Resources*. 5(4).
- Arquion, Rose D., Galanida, Cesario C., Villamor, Brenda., dan Aquilar, Henry T. 2015. Ethnobotanical Study of Indigenous Plants Used by Local People of Agusan Del Sur. Philippines. *APHERJ*. 2(2)
- Asy-Syawi, Syaikh Muhammad Bin Shalih. *Tafsir An-Nafahat Al-Makkiyah*: <https://tafsirweb.com/10287-quran-surat-al-qamar-ayat-49.html> . 3-12-2020 (10.25 WIB)
- Avani, K dan Neeta, S. 2005. A study of the antimicrobial activity of *Elephantopus scaber* Linn. *Indian Journal Pharmacol*. 37(2).
- Azizah, Dyah Nur., Kumolowati, Endang., dan Faramayuda, Fahrauk. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl<sub>3</sub> Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2).
- Bangkele, Ellie Yanie., Nursyamsi., dan Greis, Silvia. 2015. Efek Anti Bakteri Dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [L] Swartz) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*. 1(2).
- Bertan, Cindy Viane., Dundu, A. K. T., dan Mandagi, R.J.M. 2016. Pengaruh Pendayagunaan Sumber Daya Manusia (Tenaga Kerja) Terhadap Hasil Pekerjaan (Studi Kasus Perumahan Taman Mapanget Raya (TAMARA)). *Jurnal Sipil Statik*. 4(1).
- Brooks,GF. 2007. *Medical Microbiology*. USA: Mc Graw Hill.
- Damayanti, Astrilia dan Fitriana, Endah Ayu. 2012. Pemungutan Minyak Atsiri Mawar (Rose Oil) Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 1(2).
- Departement of Science & Technology P.R China. 2010. Principle & Technology of Botanic Extracts Processing. International Training workshop of Botanic Extract Processing Technology.
- Dewi, Amalia Krishna. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2).
- Dewi, Fajar Kusuma. 2010. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Uniersitas Sebelas Maret Surakarta. Skripsi.
- Efendi, Yuli Nurullaili dan Hertiani, Triana. 2013. Antimicrobial Potency Of Ant-Plant Extract (*Myrmecodia tuberosa* Jack.) Against *Candida albicans*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. *Traditional Medicine Journal*. 18(1).
- El-Hadeday, Doaa dan El-Nour, Salwa. 2012. Identification of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from Egyptian Food by Conventional and Moleculare Methode. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Vol 10

- Ernawati, dan Hasmila, Ita. 2015. Uji Fitokimia Dan Aktifitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*). *Jurnal Bionature*. 16(2).
- Febrianasari, Florensia. 2018. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Eguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma. Skripsi.
- Febrianasari, Florensia. 2018. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Eguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma. Skripsi.
- Fhitryani, Sri., Suryanto, Dwi., dan Karim, Abdul. 2017. Pemeriksaan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. pada Jamu Gendong yang Dijajakan Di Kota Medan. *BioLink*. 3(2).
- Firdaus, Anita. 2018. **Pengaruh Konsentrasi Dan Lama Perendaman Jus Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap Kadar Protein dan Total Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella* sp Pada Daging Ayam**. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Fitri, Annisa., Agus Wiranto, Karina, Nur Hawaidah, Deby Eunike Lestari, Alif Nurhidayati, Ibrahim Jut. 2014. Peralatan, Sterilisasi dan Media Pertumbuhan Mikroba. *Jurnal Paktikum Mikrobiologi dasar*
- Fitri, Wichelia Nisya dan Rahayu, Driyanti. 2018. REVIEW: Akitivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan *Melastomataceae* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*. *Farmaka*. 16(2).
- Fitriah, Mappiratu, dan Prismawiryanti. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *KOVALEN*. 3(3).
- Gritter, Roy J., Bobbit, James M., Schwarting, Arthur E. 1991. *Pengantar Kromatografi Jilid kedua*. Bandung: ITP Press.
- HAMKA (Haji Abdul Malik Karim Amrullah). 1999. *Tafsir Al-Azhar*. Jilid 4. Singapura: Pustaka Nasional PTE
- Hidayah, Nikmatul., Hisan, Aisyah Khoirotnun., Solikin, Ahmad., Irawati, dan Mustikaningtyas, Dewi. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*. 1(1).
- iNaturalist.2019. [https://www.inaturalist.org/taxa/167476-Pseudelephantopus-spicatus/browse\\_photos](https://www.inaturalist.org/taxa/167476-Pseudelephantopus-spicatus/browse_photos)
- Jalaluddin, A.I. 2002. *Tafsir Jalalain*. Jakarta: Sinar Baru Al- Gesindo.
- Jeda, Lalisian., Olga, Nuneza., dan Mylene Uy. 2014. Brine Shrimp (*Artemia Salina*) Bioassay of The Medicinal Plant *Pseudelephantopus spicatus* from Iligan City, Philippines. *International Research Journal of Biological Sciences*. 3(9).
- Karimela, Ely John., Ijong, Frans G., dan Dien, Henny Adeleida. 2017. Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *JPHPI*. 20(1).

- Karlina, Chrystie Yudha., Ibrahim, Muslimin., dan Trimulyono, Guntur. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LenteraBio*. 2(1).
- Khatun, Amina., Rahman, Mahmudur., Haque, Tania., Rahman, Md.Mahfizur., Akter, Mahfuja., Akter, Subarna., dan Jhumur, Afrin. 2014. Cytotoxicity Potentials of Eleven Bangladesh Medicinal Plant. *The Scientific World Journal*.
- Khatun, Amina., Rahman, Mahmudur., Uddin, Khaza Nur., Ahsan, Kamrul., Shimu, Sabequn Nahar., Kobra, Khadejatul., Shimu, Shamme Akter., Haque, Wahidul., Rahman, Tobibur., Jessy, Tangila Hoque., dan Akhter, Farzana. 2016. Preliminary Study on Thrombolytic Property of ThirtySix Different Extracts of Eight Bangladeshi Medicinal Plants With Folkloric Relevance. *Springer*.
- Krisna, I Gusti Agung Putu Surya Adi., Santi, Sri Rahayu., dan Rustini, Ni Luh. 2014. Senyawa Steroid pada Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus*) dan Aktivitasnya sebagai Antioksidan terhadap Difenilpikril Hidrazil (DPPH). *Jurnal Kimia*. 8(2).
- Lingga, Ancela Rabekka., Pato, Usman., dan Rossi, Evy. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2(2)
- Lutpiatina, Leka. 2017. Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerogenosa* pada Steteskop di Rumah Sakit. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 6(2).
- Maanaria, Chaleb P., Suryantoa, Edi., dan Pontoh, Julius. 2014. Aktivitas Penangkal Radikal Hidroksil Fraksi Flavonoid dari Limbah Tongkol Jagung pada Tikus Wistar. *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE*. 3(2).
- Malangngia, Liberty P., Sangia, Meiske S., dan Paendonga, Jessy J. E. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 4(1).
- Maleta, Hana Susanti., Indrawati, Renny., Limantara, Leenawaty., Brotosudarmo, Tatas Hardo Panintingjati. 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 13(1).
- Mara, Duncan., dan Horan, Nigel. 2013. *The Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. London: Academic Press
- Monteron, Michaellester O., dan Tampus, Annielyn D. 2016. Discharge Zones Riparian Vegetation: Domains and Characteristics. The Track on Internet of Things of INRIT.
- Mubarak, Fhahri., Sartini, Sartini, dan Purnawanti, Dia. 2018. Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 5(3)
- Mubarak, Zaki., Chismirina, Santi., dan Daulay, Hafizah Humairah. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami Dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentristy Society*. 1(2).

- Mukaromah, Ummu., Susetyorini, Sri Hetty., dan Aminah, Siti. 2010. Kadar Vitamin C, Mutu Fisik, pH Dan Mutu Organoleptik Sirup Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*, L) Berdasarkan Cara Ekstraksi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 1(1).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2).
- Munfaati, Putri Nurul., Ratnasari, Evie., dan Trimulyono, Guntur. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara in Vitro. *LenteraBio*. 4(1).
- Murdianto, Agus Ria., Fachriyah, Enny., dan Kusriani, Dewi. 2013. Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Chem Info Jurnal*. 1(1).
- Mutammima, Nur. 2017. **Uji Aktivitas Antijamur, Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Dan Konsentrasi Bunuh Minimum (Kbm) Serta Klt-Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Plethekan (*Ruellia tuberosa* L.) terhadap *Candida albicans***. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi
- Nataro, James P dan Kaper, James B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Review*. 11(1).
- Ngajow, Mercy., Abidjulu, Jemmy., dan Kamu, Vanda S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2 (2).
- Novard, M. Fadila Arie., Suharti, Netti., dan Rasyid, Roslaili. 2019. Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(2).
- Nugroho, Ary Susatyo., Anis, Tria., dan Ulfah, Maria. 2015. Analisis Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Berbuah Di Hutan Lindung Surokonto, Kendal, Jawa Tengah Dan Potensinya Sebagai Kawasan Konservasi Burung. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(3).
- Nurchayanti, Agustina.D.R., Dewi, Lusiawati., dan Timotius, Kris.H. 2011. Aktivitas antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Polar dan Nonpolar Biji Selasih (*Ocimum sanctum* Linn). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 12(1).
- Nursanty, Risa. 2016. Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat terhadap Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 16(1).
- Pangesti, Rizki Dwi., Cahyono, Edy., dan Kusumo, Ersanghono. 2017. Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak dan Minyak Piper betle L. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(3).
- Pelczar, Michael J dan Chan, E.C.S. 2013. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pendit, Putu Ayu Chintia Devi., Zubaidah, Elok., dan Sriherfyna, Feronika Heppy. 2016. Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1).
- Phondani, Prakash C., Bhatt, Arvind., Elsarrag, Esam dan Horr, Yousef A. 2016. Ethnobotanical Magnitude Towards Sustainable Utilization of Wild Foliage

- in Arabian Desert. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 6(3).
- Prasetyorini., Rahmadini, Anggita., dan Utami, Novi Fajar. 2019. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Dan Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 19(1)
- Pratita, Maria Yulia Indah., dan Putra, Surya Rosa. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Promits*. 1(1).
- Prayoga, Eko. 2013. **Perbandingan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper bitle* L.) dengan Metode Disk Difusi dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus***. Jurusan Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. Skripsi.
- Purwantiningsih , T. I., dan Suranindyah, Y.Y. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*. 38(1).
- Puspitasari, Anita Dwi dan Prayogo, Lean Syam. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. 13(2).
- Putri, Aprilia Mustikaning., dan Kurnia, Pramudya. 2018. Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform Dan Total Mikroba Dalam Es Dung-Dung Di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*. 13(1).
- Putri, Yessi Widya., Putra, Andani Eka., dan Utama, Bobby Indra. 2018. Identifikasi Dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Vagina Wanita Usia Subur. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 7(3).
- Quiming, Noel., Minor, Maribie Reyes., Nicolas, Marioue., Verzosa, Dhenis., dan Alvarez, Michael Russelle. 2019. Antibacterial Activity of *Pseudelephantopus spicatus* (Juss) Rohr Extracts from the West Sub-catchment of Mt. Isarog Natural Park. *Oriental Journal of Chemistry*. 35(6)
- Quthb. 2004. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an di Bawah Naungan Al-Quran Jilid VII*. Jakarta: Gema Insani Press.
- Rachmawati, Dhinary. 2016. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etano, etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung (*Zea mays*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Ragasa, Consolacion Y., Alea, Glenn V, dan Rideout, John A. 1999. An Antifungal Sesquiterpene Lactone from *Pseudoelephantopus spicatus*. *The Manila Journal of Science*. 2(2).
- Rahayu, Mulyati., Sunarti, Siti., Sulistiarini, Diah., dan Prawiroatmodjo, Suhardjono. 2006. Pemanfaatan Tumbuhan Obat secara Tradisional oleh Masyarakat Lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. *Biodiversitas*. 7(3).
- Rahmawati, Ida. 2016. **Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Dari Beberapa Tanaman Di Indonesia Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Serta Bioautografinya**. Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Skripsi

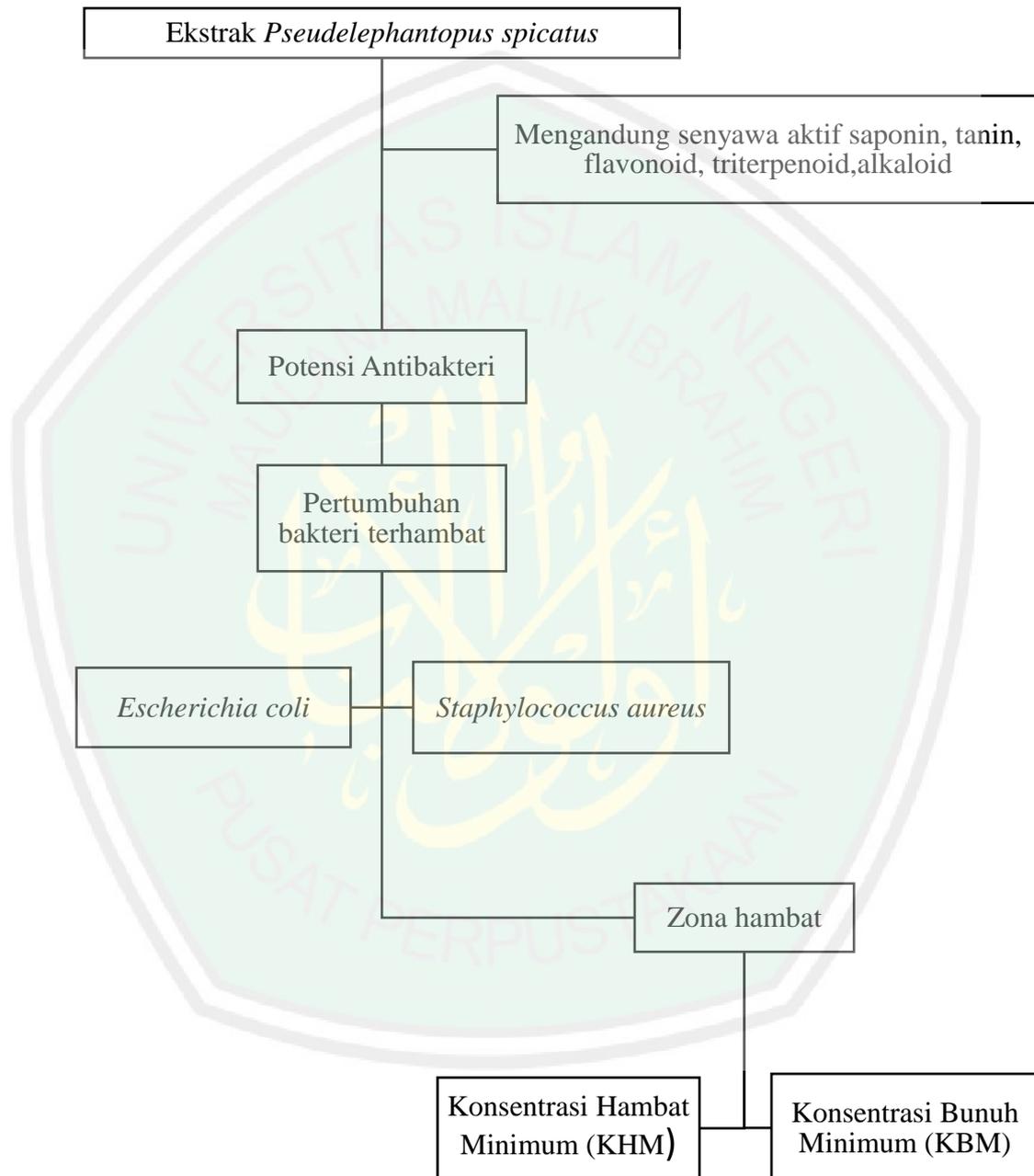
- Rahmi, Yulina., Darmawi., Abrar, Mahdi., Jamin, Faisal., Fakhurrrazi, dan Fahrimal, Yudha. 2015. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium Dan Vagina Kuda (*Equus caballus*). *Jurnal Medika Veterina*. 9 (2)
- Retnowati, Yuliana., Bialangi, Nurhayati., dan Posangi, Nona Wingti. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *SAINTEK*. 6 (2)
- Rita,W. S. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 4(1).
- Rohma, Isneini Sholika. 2020. **Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Jeringau (*Acorus calamus* L.) Tersalut terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans***. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Skripsi.
- Rohman, Abdul dan Gandjar, Ibnu Gholib. 2007. *Metode Kromatografi Untuk Analisis Makanan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S.A., Komari, N., dan Astuti, M.D. 2010. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *ALCHEMY*. 1(2).
- Safitri, Widayanti Ratna. Analisis Korelasi Pearson Dalam Menentukan Hubungan Antara Kejadian Demam Berdarah Dengue Dengan Kepadatan Penduduk Di Kota Surabaya Pada Tahun 2012 – 2014. *Jurnal stikes pemkab Jombang*.
- Salni., Marisa, Hanifa., Mukti, Ratna Wedya. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*. 14(1).
- Sarfina,Julia., Nurhamidah., dan Handani, Dewi. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Daun *Ricinus communis* L (Jarak Kepyar). *ALOTROP Jurnal pendidikan dan ilmu kima*. 1(1).
- Septiana, Aisyah Tri, dan Asnani, Ari. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK*. 6(2).
- Setiawan, Ely., Setyaningtyas,Tien., Kartika, dwi., Ningsih, Dian Ratih. 2017. Potensi Ekstrak Metanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Enterobacter aerogenes* Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Kimia Riset*. 2(2.)
- Setyowati, Widiastuti Agustina Eko., dan Damayanti, Dhika Rizqi. 2014. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk. *SNPS*. Tanpa vol dan no.
- Shauqi, Ahmad. 2017. Penentuan Kuantitas Sel *Saccharomyces cerevisiae* dengan Turbidimetri. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2(2)
- Sheref, Oren., Weisberg, Peter J., dan Provenza, Frederick D. 2017. The Value Of Native Plants And Local Production In An Era Of Global Agriculture. *Frontiers in Plant Science*.
- Shihab,Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Quran*. Vol 10. Jakarta: Lentera Hati.
- Simanjuntak, Helen Anjelina. 2017. Potensi Famili Asteraceae Sebagai Obat Tradisional Di Masyarakat Etnis Simalungun Kabupaten Simalungun Provinsi Sumatera Utara. *BioLink*. 4(1).

- Soleha, Tri Umiana. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *JUKE Unila*. 5(9).
- Stahl, Egon. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB.
- Suciari, Luh Kadek., Mastra, Nyoman., dan Cok. Dewi Widhya. 2017. Perbedaan zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Secara In Vitro. *Mediatory*. 5(2).
- Suheri, Finnie Lutfia. 2015. **Perbandingan Uji Resistensi Bakteri *S. aureus* Terhadap Obat Antibiotik Ampisilin Dan Tetrasiklin**. Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas. Padang. Skripsi.
- Sukandar, Elin Yulinah., Fidrianny, Irda., dan Triani, Rizka. 2014. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, MRSA dan MRCNS. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 39 (3)
- Sulisetijono. 2016. *Statistika*. Malang: UM Press.
- Sumampouw, Oksfriani Jufri. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 2(1).
- Sumiati, Eti. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*. *BIOGENESIS*. 2(1).
- Surjowardojo, Puguh., Susilorini, Tri Eko., dan Benarivo, Vasco. 2016. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Jurnal Ternak Tropika*. 17(1).
- Suryati, Nova., Bahar, Elizabeth., dan Ilmiawa. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Aloe Vera terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 6(3).
- Susanty dan Bachdim, Fairus. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *KONVERSI*. 5(2).
- Sutton, Scott. Measurement of Microbial Cell by Optical Density. *Journal of Validation Technology*.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2011. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Triana, Dessy. 2014. Frekuensi  $\beta$ -Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Gradien*. 10(2).
- Trisia, Adelgrit., Philyria, Regina., dan Toemon, Angeline Novia. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*. 13(2)
- Ulfa, Anjurniza., Aloysius., Situmorang, Anggita Kasih Fianti., Harmileni., dan Fachrial, Edy. 2019. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Khas Batak "Naniura" dan Uji Sensitivitas Terhadap Beberapa Antibiotik. *Seminar Nasional Teknologi KOMputer dan Sains*. ISBN: 978-602-52720-1-1

- Ulfah, Nevi Frilly., Erina, dan Darniati. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* pada Ayam Panggang di Beberapa Rumah Makan di Kecamatan Syiah Kuala Kota Banda Aceh. *JIMVET*. 1(3)
- United States Department of Agriculture of Natural Resources Conservation Service  
<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=PSSP4&display=31> )
- Wahyuni., Armadany, Fery Indradewi., dan Widasri, Mirna. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Secara In Vivo Ekstrak Etanol Daun Pakis Sayur (*Diplazium esculentum* Swartz) Pada Mencit Jantan Galur Balb/C Yang Diinfeksi *Salmonella typhi* ATCC 14028. *Jurnal Farmasi Fakultas Ilmu Kedokteran UINAM*. 4(2).
- Wahyuningsih, Nuriyah. 2017. **Analisis Antibakteri *Talinum triangulae* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung. skripsi
- Wardhani, Lilies Kusuma dan Sulistyani, Nanik. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1)
- Widarta, I.W.R., Nocianitri, K.A., Sari, L.P.I.P. 2013. Ekstraksi Komponen Bioaktif Bekatul Beras Lokal Dengan Beberapa Jenis Pelarut. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(2).
- Yulisningtyas, Aning., dan Kusmartono, Bambang. 2016. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*. 10(2)
- Yunita, Merisa., Hendrawan, Yusuf., dan Yulianingsih, Rini. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistematis*. 10(10).
- Zen, Nur Alfian Muhammad., Queljoe, Edwin de., dan Singkoh, Marina. 2015. Uji bioaktivitas ekstrak *Padina australis* Dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. PRAYOGA. 2(1)
- Zen, Nur Alfian Muhammad., Queljoe, Edwin de., dan Singkoh, Marina. 2015. Uji bioaktivitas ekstrak *Padina australis* Dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1)

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Rancangan penelitian



## Lampiran 2. Perhitungan

### 2.1 Perhitungan Media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* NB

Pembuatan stok awal media NA dengan perhitungan 20 gr/ 1000 mL, untuk membuat 100 mL media NA menggunakan perhitungan berikut :

$$\frac{20 \text{ gr}}{1000 \text{ mL}} = \frac{A}{100 \text{ mL}}$$

$$A = \frac{20 \text{ gr} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$A = \frac{2000 \text{ gr mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$A = 2 \text{ gr}$$

Jadi untuk membuat 100 ml media NA dibutuhkan 2 gr serbuk media NA dan 100 mL aquades.

Pembuatan stok awal media NB dengan perhitungan 8 gr/ 1000 mL, untuk membuat 100 mL media NB menggunakan perhitungan berikut :

$$\frac{8 \text{ gr}}{1000 \text{ mL}} = \frac{B}{100 \text{ mL}}$$

$$B = \frac{8 \text{ gr} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$B = \frac{800 \text{ gr mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$B = 0,8 \text{ gr}$$

Jadi untuk membuat 100 ml media NB dibutuhkan 0,8 gr serbuk media NB dan 100 mL aquades.

### 2.2 Perhitungan Stok konsentrasi ekstrak *Pseudelephantopus spicatus*

Konsentrasi yang diperlukan 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL. Langkah awal yang dilakukan adalah membuat larutan stok yaitu dengan perhitungan berikut:

Larutan stok konsentrasi 4000 mg dalam 10 mL dikarenakan ekstrak yang ada hanya 2, 3 gr maka perhitungan diperkecil menjadi 400/mL berikut perhitungannya:

Larutan Stok =  $\frac{4000 \text{ mg ekstrak}}{10 \text{ mL aquades}}$  diperkecil dengan masing-masing dibagi 10 menjadi:

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok} &= \frac{4000 \text{ mg} : 10}{10 \text{ mL} : 10} \\ &= \frac{400 \text{ mg}}{1 \text{ mL}} \end{aligned}$$

Stok 400 mg/mL belum mencukupi kebutuhan sehingga dikalikan 4 berikut perhitungannya:

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok} &= \frac{400 \text{ mg} \times 4}{1 \text{ mL} \times 4} \\ &= \frac{1600 \text{ mg}}{4 \text{ mL}} \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi 200, 250, 300, 350, 400 mg/mL sebagai berikut :

a. Konsentrasi 200 mg/ml

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1600 \times V_1 &= 200 \times 4 \\ V_1 &= 800 : 1600 \\ V_1 &= 0,5 \end{aligned}$$

Jadi dari larutan stok (4 ml) diambil 0,5 ml kemudian ditambah 3,5 ml aquades steril.

b. Konsentrasi 250 mg/ml

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1600 \times V_1 &= 250 \times 4 \\ V_1 &= 1000 : 1600 \\ V_1 &= 0,625 \end{aligned}$$

Jadi dari larutan stok (4 ml) diambil 0,625 ml kemudian ditambah 3,375 ml aquades steril.

c. Konsentrasi 300 mg/ml

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1600 \times V_1 &= 300 \times 4 \\ V_1 &= 1200 : 1600 \\ V_1 &= 0,75 \end{aligned}$$

Jadi dari larutan stok (4 ml) diambil 0,75 ml kemudian ditambah 3,25 ml aquades steril.

d. Konsentrasi 350 mg/ml

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1600 \times V_1 &= 350 \times 4 \\ V_1 &= 1400 : 1600 \\ V_1 &= 0,875 \end{aligned}$$

Jadi dari larutan stok (4 ml) diambil 0,875 ml kemudian ditambah 3,125 ml aquades steril.

e. Konsentrasi 400 mg/ml

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 1600 \times V_1 &= 400 \times 4 \\ V_1 &= 1600 : 1600 \\ V_1 &= 1 \end{aligned}$$

Jadi dari larutan stok (4 ml) diambil 1 ml kemudian ditambah 3 ml aquades steril.

Keterangan :

$M_1$  = konsentrasi stok

$M_2$  = konsentrasi yang mau dibuat

$V_1$  = volume yang dicari

$V_2$  = volume stok

### 2.3 Perhitungan Rumus Ulangan Perlakuan

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 19 : 4$$

$$r \geq 4,75$$

jadi ulangan yang digunakan 4 ulangan

### 2.4 Rumus Perhitungan Zona Hambat

$$\text{Zona hambat (mm)} = \frac{d_1 + d_2}{2} - x \dots\dots\dots (\text{Rumus 1})$$

### 2.5 Rumus Perhitungan Uji KHM

$$\text{KHM (nm)} = \text{OD setelah inkubasi} - \text{OD sebelum inkubasi} \dots\dots\dots (\text{Rumus 2})$$

### 2.6 Rumus Perhitungan Koloni Bakteri

$$\text{Jumlah bakteri yang hidup (CFU/mL)} = (\text{Jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}) : \text{Volume inokulum} \dots\dots\dots (\text{Rumus 3})$$

### 2.7 Uji Konfirmasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Tabel Data Uji Konfirmasi

No	Bakteri Uji	Uji Konfirmasi		
		Gram	Endospora	Katalase
1	<i>S. aureus</i>	+	-	+
2	<i>E. coli</i>	-	-	+

### 2.8 Data Uji Antibakteri Ekstrak *P. spicatus* terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Tabel 1. Data diameter zona hambat

Ekstrak <i>P. spicatus</i> 300 mg/ml	Zona hambat (mm)		Kategori
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	
Ualangan 1	19,59	12,98	Kuat
Ualangan 2	18,09	11,77	Kuat
Ualangan 3	17,09	15,99	Kuat
Ualangan 4	18,46	13,25	Kuat
Kontrol (-)	0	0	Tidak menghambat
Kontrol (+)	30,73	28,73	Sangat menghambat

### Hasil SPSS *Escherichia coli*

#### Tests of Normality<sup>b</sup>

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat kontrol +	.307	4	.	.729	4	.024
Ekstrak 300 mg/ml	.305	4	.	.911	4	.485

a. Lilliefors Significance Correction

b. zona\_hambat is constant when Perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

#### Descriptives

zona_hambat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	4	29.7300	1.15470	.57735	27.8926	31.5674	28.73	30.73
kontrol -	4	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Ekstrak 300 mg/ml	4	13.4975	1.78193	.89097	10.6620	16.3330	11.77	15.99
Total	12	14.4092	12.74312	3.67862	6.3126	22.5058	.00	30.73

#### Test of Homogeneity of Variances

zona\_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.733	2	9	.039

#### ANOVA

zona_hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1772.733	2	886.366	589.780	.000
Within Groups	13.526	9	1.503		
Total	1786.258	11			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

zona\_hambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	29.73000*	.86685	.000	27.3097	32.1503
	Ekstrak 300 mg/ml	16.23250*	.86685	.000	13.8122	18.6528
kontrol -	kontrol +	-29.73000*	.86685	.000	-32.1503	-27.3097
	Ekstrak 300 mg/ml	-13.49750*	.86685	.000	-15.9178	-11.0772
Ekstrak 300 mg/ml	kontrol +	-16.23250*	.86685	.000	-18.6528	-13.8122
	kontrol -	13.49750*	.86685	.000	11.0772	15.9178

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

zona\_hambat

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol -	4	.0000		
Ekstrak 300 mg/ml	4		13.4975	
kontrol +	4			29.7300
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### a. Hasil SPSS Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

#### Tests of Normality<sup>b</sup>

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat kontrol +	.307	4	.	.729	4	.024
Ekstrak 300 mg/ml	.191	4	.	.991	4	.960

a. Lilliefors Significance Correction

b. zona\_hambat is constant when Perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

#### Test of Homogeneity of Variances

Tests of Normality<sup>b</sup>

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat kontrol +	.307	4	.	.729	4	.024
Ekstrak 300 mg/ml	.191	4	.	.991	4	.960

zona\_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.404	2	9	.009

## ANOVA

Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	1799.348	2	899.674	1.125E3	.000
Within Groups	7.198	9	.800		
Total	1806.546	11			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

zona\_hambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	29.73000*	.63235	.000	27.9645	31.4955
	Ekstrak 300 mg/ml	11.42250*	.63235	.000	9.6570	13.1880
kontrol -	kontrol +	-29.73000*	.63235	.000	-31.4955	-27.9645
	Ekstrak 300 mg/ml	-18.30750*	.63235	.000	-20.0730	-16.5420
Ekstrak 300 mg/ml	kontrol +	-11.42250*	.63235	.000	-13.1880	-9.6570
	kontrol -	18.30750*	.63235	.000	16.5420	20.0730

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

zona\_hambat

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol -	4	.0000		
Ekstrak 300 mg/ml	4		18.3075	
kontrol +	4			29.7300
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### 2.9 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Data selisih nilai OD

Tabel. 5 perhitungan nilai KHM konsentrasi ekstrak 200 mg/ml

Perlakuan	Bakteri	Nilai OD		$\Delta$ OD	Lanjut KBM
		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi		
Ulangan 1	<i>S. aureus</i>	0,14	0,55	+0,41	-0,41
	<i>E. coli</i>	0,26	1,18	+0,92	-0,92
Ulangan 2	<i>S. aureus</i>	0,19	0,51	+0,32	-0,32
	<i>E. coli</i>	0,25	1,02	+0,77	-0,77
Ulangan 3	<i>S. aureus</i>	0,24	1,07	+0,83	-0,83
	<i>E. coli</i>	0,22	1,05	+0,83	-0,83
Ulangan 4	<i>S. aureus</i>	0,13	0,99	+0,86	-0,86
	<i>E. coli</i>	0,35	1,17	+0,82	-0,82

Tabel.6 perhitungan nilai KHM konsentrasi ekstrak 250 mg/ml

Perlakuan	Bakteri	Nilai OD		$\Delta$ OD	Lanjut KBM
		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi		
Ulangan 1	<i>S. aureus</i>	0,28	0,27	- 0,01	+0,01
	<i>E. coli</i>	0,37	0,84	+ 0,47	- 0,47
Ulangan 2	<i>S. aureus</i>	0,29	0,33	+0,04	-0,04
	<i>E. coli</i>	0,23	0,76	+0,53	-0,53
Ulangan 3	<i>S. aureus</i>	0,27	0,29	+0,02	-0,02
	<i>E. coli</i>	0,27	0,76	+0,49	-0,49
Ulangan 4	<i>S. aureus</i>	0,32	0,27	-0,05	+0,05
	<i>E. coli</i>	0,28	0,69	+0,41	-0,41

Tabel.6 perhitungan nilai KHM konsentrasi ekstrak 300 mg/ml

Perlakuan	Bakteri	Nilai OD		$\Delta$ OD	Lanjut KBM
		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi		
Ulangan 1	<i>S. aureus</i>	0,41	0,32	-0,09	+0,09
	<i>E. coli</i>	0,46	0,89	+0,43	-0,43
Ulangan 2	<i>S. aureus</i>	0,52	0,31	-0,21	+0,21
	<i>E. coli</i>	0,49	0,80	+0,31	-0,31
Ulangan 3	<i>S. aureus</i>	0,30	0,29	-0,01	+0,01
	<i>E. coli</i>	0,29	0,71	+0,42	-0,42
Ulangan 4	<i>S. aureus</i>	0,40	0,30	-0,10	+0,10
	<i>E. coli</i>	0,35	0,95	+0,60	-0,60

Tabel.7 perhitungan nilai KHM konsentrasi ekstrak 350 mg/ml

Perlakuan	Bakteri	Nilai OD		$\Delta$ OD	Lanjut KBM
		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi		
Ulangan 1	<i>S. aureus</i>	0,54	0,53	-0,01	+0,01
	<i>E. coli</i>	0,51	0,49	-0,02	+0,02
Ulangan 2	<i>S. aureus</i>	0,49	0,57	+0,08	-0,08
	<i>E. coli</i>	0,69	0,58	-0,11	+0,11
Ulangan 3	<i>S. aureus</i>	0,50	0,53	+0,03	-0,03
	<i>E. coli</i>	0,66	0,56	-0,10	+0,10
Ulangan 4	<i>S. aureus</i>	0,62	0,57	-0,05	+0,05
	<i>E. coli</i>	0,53	0,53	0,00	0,00

Tabel.8 perhitungan nilai KHM konsentrasi ekstrak 400 mg/ml

Perlakuan	Bakteri	Nilai OD		$\Delta$ OD	Lanjut KBM
		Sebelum inkubasi	Sesudah inkubasi		
Ulangan 1	<i>S. aureus</i>	0,39	0,76	+0,37	-0,37
	<i>E. coli</i>	0,36	0,82	+0,46	-0,46
Ulangan 2	<i>S. aureus</i>	0,38	0,65	+0,27	-0,27
	<i>E. coli</i>	0,43	0,68	+0,25	-0,25
Ulangan 3	<i>S. aureus</i>	0,33	0,58	+0,25	-0,25
	<i>E. coli</i>	0,39	0,66	+0,27	-0,27
Ulangan 4	<i>S. aureus</i>	0,38	0,68	+0,30	-0,30
	<i>E. coli</i>	0,34	0,76	+0,42	-0,42

## 2.10 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Tabel. 9 Jumlah koloni bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

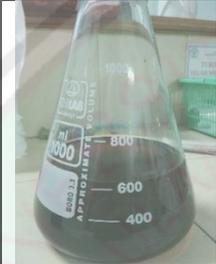
Bakteri uji	Perlakuan	Jumlah koloni bakteri(CFU/ml)x 10 <sup>-1</sup>				Rata-rata
		I	II	III	IV	
<i>S. aureus</i>	Ekstrak 250(mg/ml)	142	108	140	130	130
	Ekstrak 300 (mg/ml)	43	63	70	60	59
	Ekstrak 350 (mg/ml)	10	12	13	12	47
	Ekstrak 400 (mg/ml)	5	7	9	11	8
	Kontrol (+)	0	0	0	0	0
	Kontrol (-)	200	200	200	200	200
<i>E. coli</i>	Ekstrak 350 (mg/ml)	8	15	16	17	14
	Ekstrak 400 (mg/ml)	9	1	8	7	6,25
	Kontrol (+)	0	0	0	0	0
	Kontrol (-)	230	230	230	230	230

### Lampiran 3 Keterangan Gambar

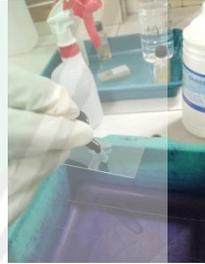
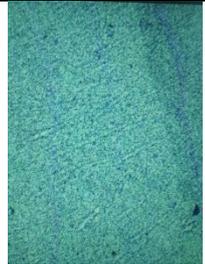
#### 1. Persiapan Simplisia

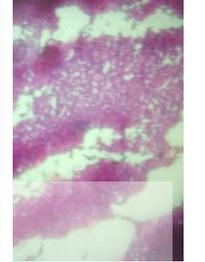


## 2. Ekstraksi Maserasi

Persiapan Esktraksi Maserasi			
			
persiapan alat dan bahan	pengadukan berkala selama 2 hari	persiapan penyaringan setelah 2 hari maserasi	proses penyaringan ekstrak
			
hasil saringan ekstrak	pemisahan ekstrak dan pelarut dengan rotary vacuum evaporator	pengambilan hasil rotary	hasil ekstraksi <i>P. spicatus</i>

## 3. Uji Konfirmasi

Pewarnaan Gram			
			
Pengambilan bakteri uji	Pengolesan bakteri uji ke objek glass	Pemberian kristal violet	Pemberian iodium
			
Pemberian safranin	Pemberian aquades	Hasil Pengamatan bakteri <i>E. coli</i>	Hasil pengamatan bakteri <i>S. aureus</i>

<b>Uji Endospora</b>			
			
Pengambilan bakteri uji	Pemberian Malachite green	Hasil pengamatan E. coli (berwarna merah)	Hasil pengamatan S. aureus (berwarna merah)
<b>Uji Katalase</b>			
			
Persiapan alat dan bahan	Pengambilan bakteri uji	Hasil pengamatan E. coli	Hasil pengamatan S. aureus

#### 4. Uji Aktivitas Antibakteri

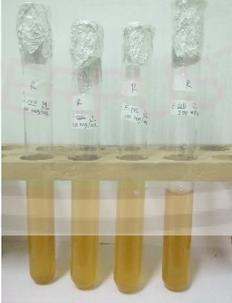
<b>Kontrol + dan - Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i></b>	
	
<b>Kontrol + dan - Bakteri <i>Escherichia coli</i></b>	

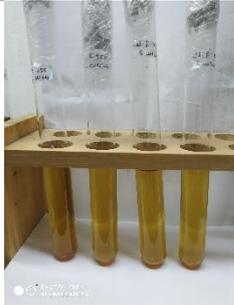
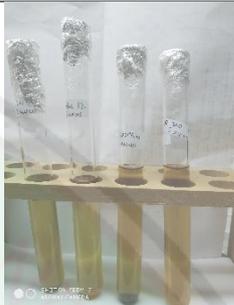
	
Hasil Ekstrak <i>P. spicatus</i> konsentrasi 300 mg/mL	
	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>

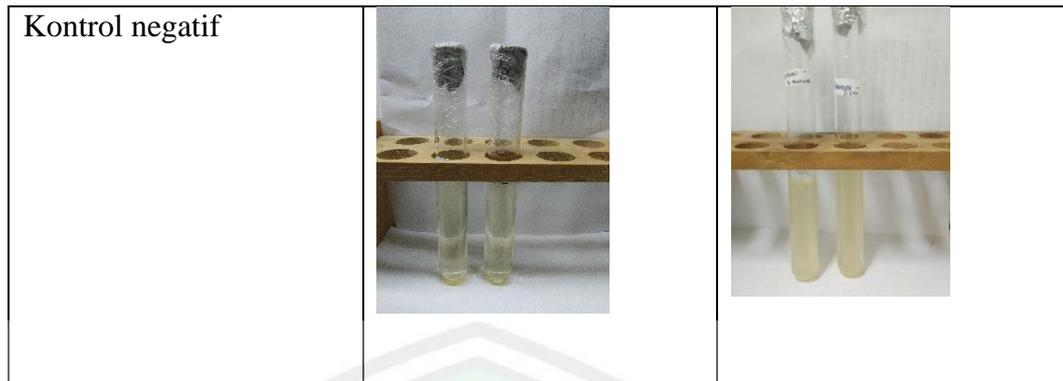
## 5. Uji KHM dan KBM

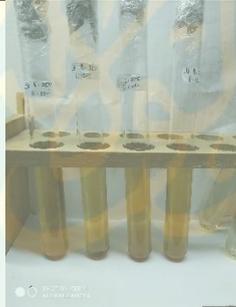
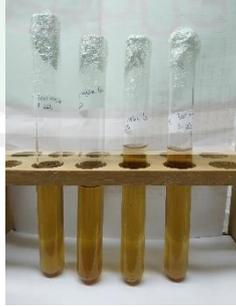
### a. Uji Konsentrasi Hambat Minimum

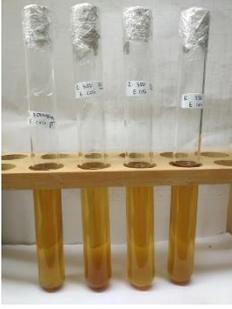
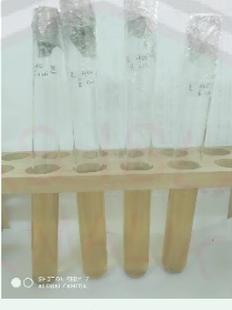
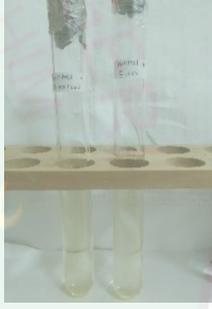
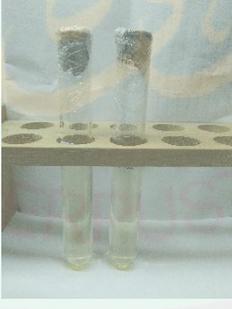
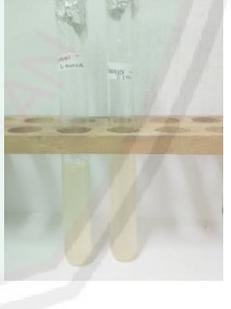
Bakteri *S. aureus*

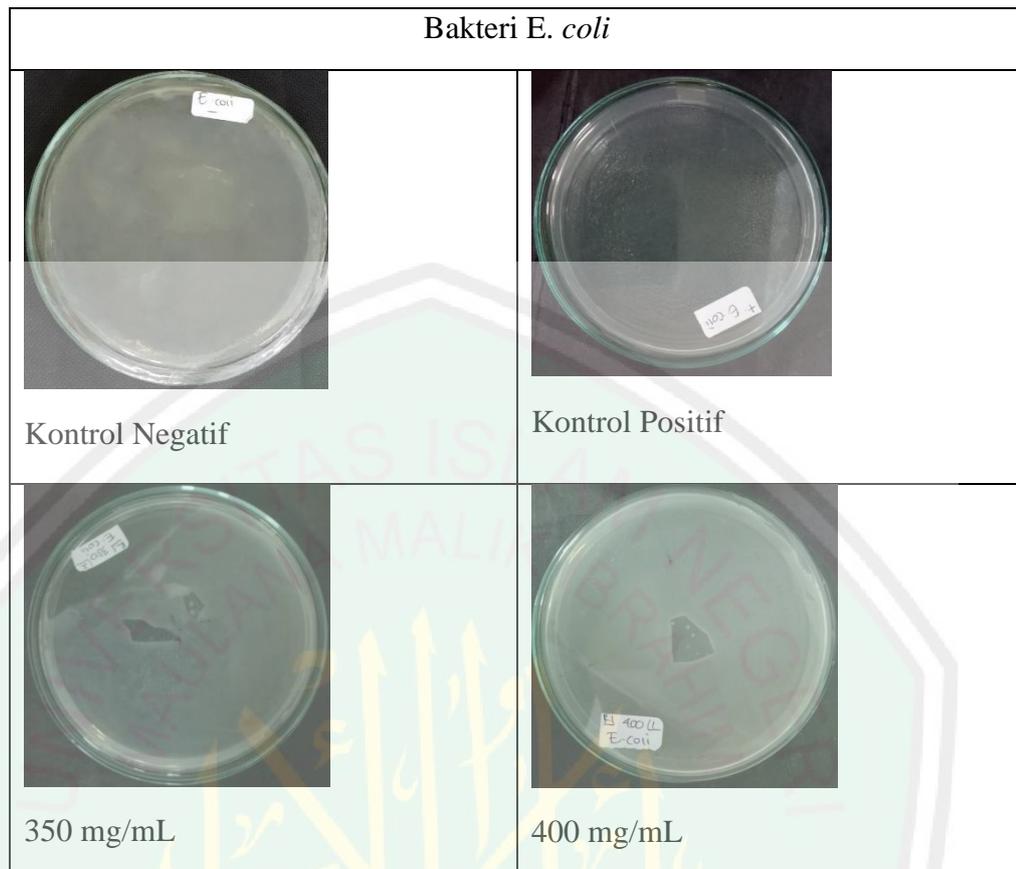
Perlakuan	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi
200 mg/mL		

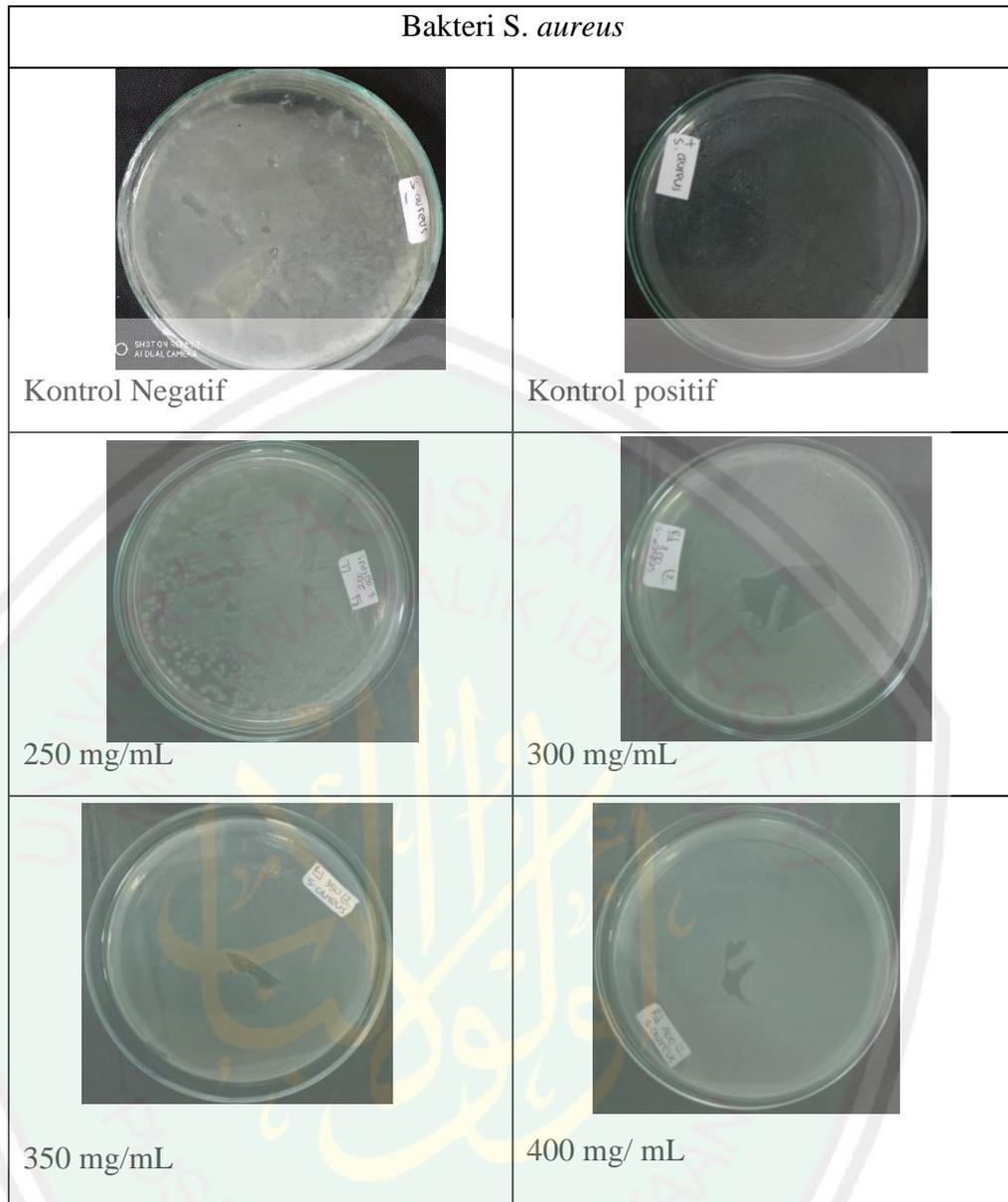
250 mg/mL		
300 mg/mL		
350 mg/mL		
400 mg/mL		
Kontrol positif		

Bakteri *E. coli*

Perlakuan	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi
200 mg/mL		
250 mg/mL		
300 mg/mL		

350 mg/mL		
400 mg/mL		
Kontrol positif		
Kontrol negatif		

**b. Uji konsentrasi Bunuh Minimum**





KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/ Faks. (0341) 558953  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Ratna Puspita Sari  
NIM : 15620064  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil / Genap TA. 2020/2021  
Pembimbing : Dr. Nur Kusmiyati, M.Si  
Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TAPAK LIMAN SEMU (*Pseudelephantopus spicatus*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	8-2-2019	Konsultasi Judul	
2	15-2-2019	Revisi judul	
3	22-3-2019	Konsultasi Bab I	
4	23-4-2019	Revisi Bab I	
5	2-8-2019	Konsultasi Bab II	
6	6-8-2019	Konsultasi Jurnal Pelarut	
7	13-8-2019	Konsultasi Penataan tulisan	
8	13-9-2019	Konsultasi Bab III	
9	20-9-2019	Revisi Bab III	
10	5-10-2019	ACC Proposal seminar	
11	2-11-2019	Konsultasi Pengenceran Bakteri	
12	14-2-2020	Konsultasi hasil uji antibakteri	
13	9-10-2020	Konsultasi hasil KHM dan KBM	
14	16-11-2020	Konsultasi Bab IV dan V	
15	19-11-2020	Revisi Bab IV dan V	
16	4-12-2020	ACC skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Dr. Nur Kusmiyati, M. Si  
NIP. 19890816201601082061

Malang, 4 Desember Ketua  
Program Studi Biologi.



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP-19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

### KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Ratna Puspita Sari  
NIM : 15620064  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA 2020/2021  
Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, MA  
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	31 Juli 2019	Konsultasi integrasi ayat Al-Quran BAB I	1.
2	4 Oktober 2019	Revisi integrasi ayat Al-Quran BAB I	2.
3	6 Oktober 2019	ACC proposal seminar	3.
4	9 Desember 2020	Konsultasi Integrasi BAB IV	4.
5	10 Desember 2020	ACC siding skripsi	5.

Malang, 4 Desember 2020

Pembimbing Agama Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, MA  
NIP. 19731212 199803 1 008

Ketua Prodi Biologi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002