

**PREDIKSI SENYAWA AKTIF ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL 96%  
DAUN TEMPUYUNG (*SONCHUS ARVENSIS* L.) TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS*  
*EPIDERMIDIS* DAN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SECARA *IN VITRO*  
(KORELASI *METABOLITE PROFILING* DAN UJI ANTIBAKTERI *IN VITRO*)**

SKRIPSI

Oleh:

ALMAS FIRAS KANZI JIZAN TARIS

NIM: 13670035



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PREDIKSI SENYAWA AKTIF ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL 96%  
DAUN TEMPUYUNG (*SONCHUS ARVENSIS* L.) TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS*  
*EPIDERMIDIS* DAN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SECARA *IN VITRO*  
(KORELASI *METABOLITE PROFILING* DAN UJI ANTIBAKTERI *IN VITRO*)**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ALMAS FIRAS KANZI JIZAN TARIS**

**NIM: 13670035**

**Diajukan kepada:**

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

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PREDIKSI SENYAWA AKTIF ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL 96%  
DAUN TEMPUYUNG (*SONCHUS ARVENSIS* L.) TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS*  
*EPIDERMIDIS* DAN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SECARA *IN VITRO*  
(KORELASI *METABOLITE PROFILING* DAN UJI ANTIBAKTERI *IN VITRO*)**

SKRIPSI

Oleh:

ALMAS FIRAS KANZI JIZAN TARIS

NIM: 13670035

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk diuji:

Tanggal:

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.  
NIP. 19800203 200912 2 003

Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., Ns., M.Kep  
NIP. 19850617 200912 2 005

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Farmasi



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

**PREDIKSI SENYAWA AKTIF ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL 96%  
DAUN TEMPUYUNG (*SONCHUS ARVENSIS* L.) TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS*  
*EPIDERMIDIS* DAN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SECARA *IN VITRO*  
(KORELASI *METABOLITE PROFILING* DAN UJI ANTIBAKTERI *IN VITRO*)**

SKRIPSI

Oleh:

**ALMAS FIRAS KANZI JIZAN TARIS**

**NIM: 13670035**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal:

Ketua Penguji : Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., Ns., M.Kep (.....) (.....)  
NIP. 19850617 200912 2 005  
Anggota Penguji : Dr. apt. Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm. (.....) (.....)  
NIP. 19900221 201801 1 001  
Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. (.....) (.....)  
NIP. 19800203 200912 2 003  
Ach. Nasichuddin, M.A. (.....) (.....)  
NIP. 19730705 200003 1 002

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Farmasi



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

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Almas Firas Kanzi Jizan Taris  
NIM : 13670035  
Program Studi : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Judul Penelitian : Prediksi Senyawa Aktif Antibakteri dari Ekstrak Etanol  
96% Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis* L.) terhadap  
*Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*  
Secara *in vitro* (Korelasi *Metabolite Profiling* dan Uji  
Antibakteri *in vitro*)

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa penelitian ini merupakan hasil karya saya sendiri dan tidak terdapat plagiasi karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan oleh orang lain, kecuali yang tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan pada daftar pustaka.

Malang,

Yang Membuat Pernyataan,



Almas Firas Kanzi Jizan Taris  
NIM. 13670035

MOTTO

Maju Terus Pantang Mundur



Usaha Tidak Akan Mengkhianati Hasil



## LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin.

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT beserta Nabi Muhammad SAW sehingga dapat terselesaikan skripsi ini. Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan karya tulis sederhana ini kepada:

1. Kedua orang tuaku, Ayah Ernu Widodo dan Ibu Jundiani yang senantiasa memberi dukungan dalam bentuk doa, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus, sehingga Saya bisa menyelesaikan skripsi dengan lancar.
2. Ketiga adikku, Afrashani Salsabila Zata Mazaya, Athaya Ulya Azzahra Dawwas Sabrina, dan Aqila Khansa Haidi Fawwas Syadzwina yang selalu mendukung dan mendoakan saya selama ini.
3. Kepada Saudaraku Durrah Izza Zharfani yang telah membantu selama proses pengerjaan skripsi, dukungan dan perhatian yang diberikan selama ini.
4. Terimakasih kepada Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes., selaku Pembimbing Utama yang sudah membimbing pada awal skripsi, Ibu Ria Ramadhani, S.Kep., Ns., M.Kep. sebagai Konsultan, Bapak Dr. apt. Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., sebagai Penguji Utama, dan Bapak Ach. Nasichuddin, M.A sebagai Penguji Agama.
5. Terimakasih yang tak terhingga kepada teman-teman Golfy yang telah memberikan dukungan dan semangat selama ini.
6. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Prediksi Senyawa Aktif Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis* L.) Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara *In Vitro* (Korelasi *Metabolite Profiling* dan Uji Antibakteri *in vitro*)” dan menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik. Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman berharga.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P. W., M.Kes., Sp. Rad(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak apt. Abdul Hakim, M. P. I., M. Farm. selaku ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat dan membimbing dalam memperoleh ilmu di Program Studi

Farmasi.

4. Ibu Dr. Roihatul Mutiah, M.Kes., Apt dan Ibu Ria Ramadhani, S.Kep., Ns., M.Kep., selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman dalam membimbing penulis menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt., selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan evaluasi dan saran dalam penyusunan proposal skripsi ini.
6. Segenap civitas akademika Program Studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Ayah Ernu Widodo dan Bunda Jundiani tercinta yang senantiasa memberikan yang telah menjadi orang tua terbaik dan selalu memberikan curahan kasih sayang, doa, nasehat, dukungan moral maupun materil. Tidak ada apapun di dunia ini yang dapat membalas semua kebaikan, cinta, dan kasih sayang yang telah kalian berikan kepada anakmu, semoga Allah selalu memberikan perlindungan dan cinta kasih kepada orang tua hamba.
8. Ketiga adikku Afrashani Salsabila Zata Mazaya, Athaya Ulya Azzahra Dawwas Sabrina, dan Aqila Khansa Haidi Fawwas Syadzwina yang selalu mendukung dan mendoakan saya selama ini.
9. Teman-teman angkatan Farmasi Golfy 2013 yang memberikan pengalaman dan kenangan berharga yang tidak bisa dilupakan selama menempuh pendidikan di Farmasi UIN Malang.
10. Dan semua pihak yang ikut membantu dan menyelesaikan skripsi ini baik

berupa materil maupun moril. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 8 Januari 2021

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xvii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xviii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xix</b>
<b>مستخلص البحث .....</b>	<b>xx</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Keberagaman Tumbuhan oleh Alqur'an .....	9
2.2 Daun Tempuyung .....	14
2.2.1 Klasifikasi Daun Tempuyung .....	14
2.2.2 Morfologi Daun Tempuyung .....	14
2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif .....	15
2.3 Bakteri .....	27
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> ..	28
2.3.2 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	30
2.4 Media Kultur Jaringan .....	32
2.5 Antibakteri .....	34
2.6 Clindamycin .....	35
2.7 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri .....	36
2.8 Uji Aktivitas Antibakteri .....	38
2.8.1 Metode Difusi Padat .....	38
2.8.2 Metode Dilusi .....	38

2.9	Moisture Analyzer.....	39
2.10	Ekstraksi.....	40
2.10.1	Maserasi.....	40
2.10.2	Prinsip Kerja Metode Maserasi.....	41
2.11	UPLC ( <i>Ultra High Performance Chromatography</i> ).....	43
2.12	Pemprofilan Metabolit ( <i>Metabolite Profiling</i> ).....	47
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>		<b>49</b>
3.1	Uraian Kerangka Konseptual.....	49
3.2	Hipotesis Penelitian.....	51
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>		<b>52</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	52
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	52
4.3	Variabel Penelitian.....	53
4.3.1	Variabel Bebas.....	53
4.3.2	Variabel Terikat.....	53
4.3.3	Variabel Kontrol.....	53
4.4	Definisi Operasional.....	53
4.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	55
4.6	Prosedur Pengumpulan Data.....	56
4.6.1	Pengambilan Sampel Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis L.</i> )..	56
4.6.2	Pembuatan Simplisia Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis L.</i> )..	56
4.6.3	Analisis Kadar Air Serbuk Daun Tempuyung.....	56
4.6.4	Ekstraksi Simplisia Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis L.</i> ).....	57
4.6.5	Persiapan Sumuran.....	57
4.6.6	Uji Mikrobiologi Aktivitas Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	57
4.6.7	Cara Sterilisasi.....	58
4.6.8	Peremajaan Bakteri Uji ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ).....	58
4.6.9	Uji Aktivitas Antibakteri.....	58
4.6.10	Uji UPLC–MS/MS.....	59
4.7	Analisis Data.....	60
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>62</b>
5.1	Determinasi Tumbuhan <i>Sonchus arvensis L.</i> .....	63
5.2	Penentuan Kadar Air Serbuk Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis L.</i> ) .....	65
5.3	Pembuatan Ekstrak Daun <i>Sonchus arvensis L.</i> .....	67
5.4	<i>Metabolite Profiling</i> .....	68
5.5	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseodomonas aeruginosa</i> .	80

5.6 Analisis Statistika.....	92
<b>BAB VI PENUTUP .....</b>	<b>100</b>
6.1 Simpulan.....	100
6.2 Saran.....	101
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>102</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>114</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Spesifikasi Moisture Analyzer Mettler Toledo HC103 .....	39
Tabel 2.2	Perbandingan <i>Intrument</i> HPLC dengan UPLC.....	45
Tabel 4.1	Klasifikasi Instrumen UPLC–MS/MS .....	60
Tabel 5.1	Hasil Penentuan Kadar Air Simplisia Daun <i>Sonchus arvensis</i> L.....	66
Tabel 5.2	Hasil Ekstraksi Daun <i>Sonchus arvensis</i> L.....	67
Tabel 5.3	Preparasi Metanol .....	72
Tabel 5.4	Kategori Penghambatan Antibakteri berdasarkan Zona Bening.....	85
Tabel 5.5	Hasil Perlakuan Aktivitas Antibakteri Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis</i> L.) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	87
Tabel 5.6	Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode Shapiro-Wilk terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	92
Tabel 5.7	Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Data Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> ..	93
Tabel 5.8	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Data Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> ..	94
Tabel 5.9	Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode Shapiro-Wilk terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	95
Tabel 5.10	Hasil Uji Homogenitas Data Menggunakan Metode <i>Levene's Test</i> bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	96
Tabel 5.11	Hasil Analisis Perbedaan dengan Metode ANOVA Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	97
Tabel 5.12	Hasil Uji <i>Tukey</i> pada Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	98

## DAFTAR GAMBAR

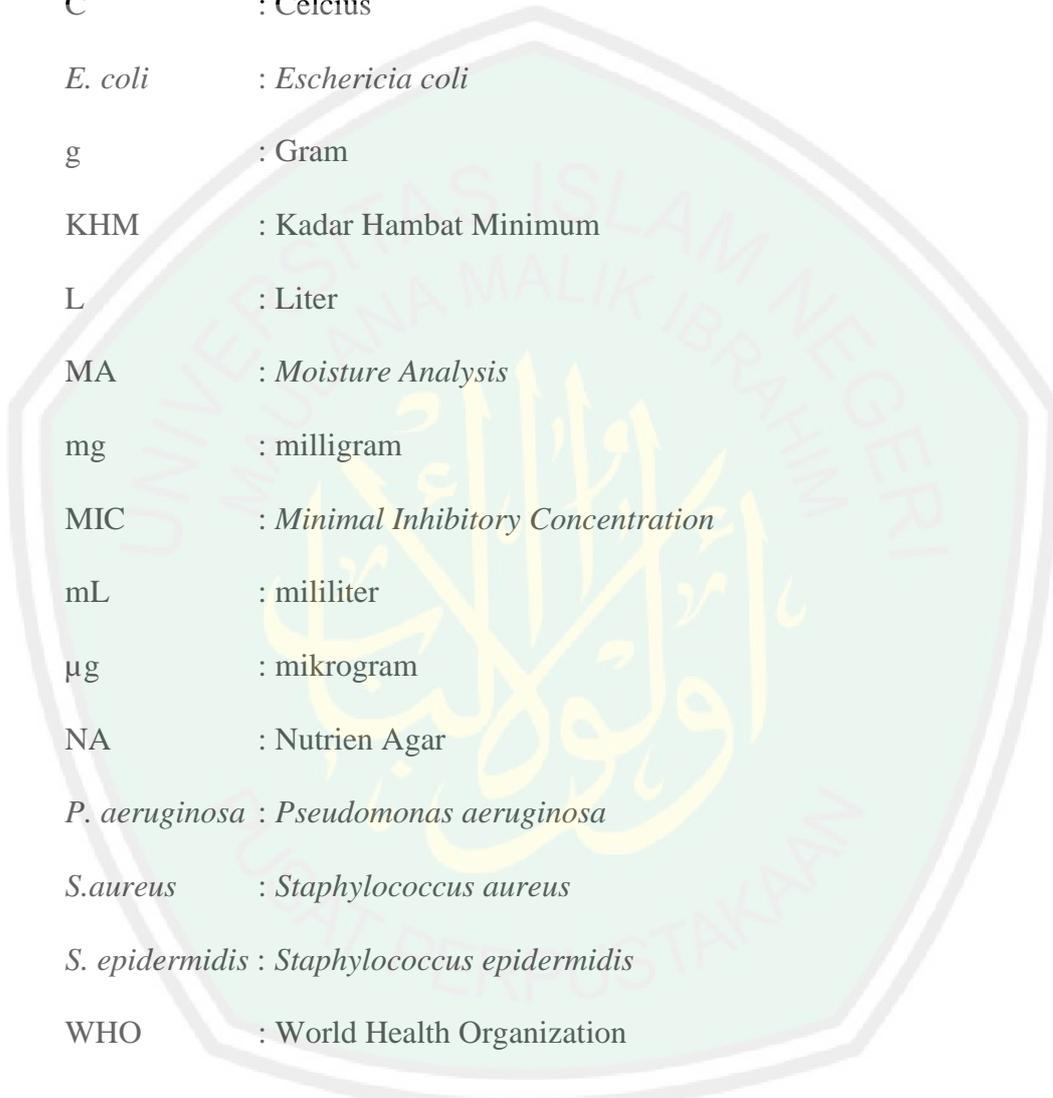
Gambar 2.1 Daun Tempuyung.....	14
Gambar 2.2 Struktur Flavonoid.....	18
Gambar 2.3 Struktur Serotonin.....	24
Gambar 2.4 Struktur Mescaline.....	24
Gambar 2.5 Struktur Efedrin.....	24
Gambar 2.6 Struktur Kafein.....	25
Gambar 2.7 Struktur Triterpenoid.....	27
Gambar 2.8 Mikrograf Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	29
Gambar 2.9 Mikrograf Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
Gambar 2.10 Struktur <i>Clindamycin</i> .....	36
Gambar 5.1 Daun <i>Sonchus arvensis</i> L.....	64
Gambar 5.2 Serbuk Daun <i>Sonchus arvensis</i> L.....	65
Gambar 5.3 Hasil Spektra UPLC–MS/MS.....	70

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja .....	115
Lampiran 2. Hasil Pengujian.....	119
Lampiran 3. Perhitungan.....	122
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	123



## DAFTAR SINGKATAN



ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
C	: Celcius
<i>E. coli</i>	: <i>Eschericia coli</i>
g	: Gram
KHM	: Kadar Hambat Minimum
L	: Liter
MA	: <i>Moisture Analysis</i>
mg	: milligram
MIC	: <i>Minimal Inhibitory Concentration</i>
mL	: mililiter
µg	: mikrogram
NA	: Nutrien Agar
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
WHO	: World Health Organization

## ABSTRAK

Firas Kanzi, Almas. 2020. **Prediksi Senyawa Aktif Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *in vitro* (Korelasi *Metabolite Profiling* Dan Uji Antibakteri *in vitro*)**. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt; Pembimbing II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja S.Kep. Ns. M.Kep

Studi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) diteliti untuk dibuktikan khasiatnya secara ilmiah sebagai antibakteri sebagaimana kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun tempuyung terhadap kadar hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian antibakteri menggunakan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dengan metode difusi sumuran. Pengujian antibakteri pada kedua bakteri tersebut menggunakan berbagai variasi konsentrasi ekstrak yaitu; 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1%. Pada hasil uji antibakteri pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan adanya zona hambat lemah dengan rentang <5 mm dan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan zona hambat lemah-sedang dengan rentang zona hambat <5-10 mm, hasil yang diperoleh setelah proses ekstraksi adalah berbagai macam senyawa metabolit sekunder. Hasil pembacaan instrument UPLC-MS adalah 20 macam senyawa dengan berbagai macam golongan Flavonoid, Alkaloid, Terpenoid, Gula Kompleks, dan Protein Kompleks. "**Baicalin**", memiliki rumus molekul  $C_{21}H_{18}O_{11}$  merupakan senyawa golongan Flavonoid. "**Spinin**", memiliki rumus molekul  $C_{15}H_{25}NO_4$  merupakan senyawa golongan Alkaloid. "**Saframycin**", memiliki rumus molekul  $C_{30}H_{35}N_5O_7$  merupakan senyawa golongan Alkaloid.

**Kata Kunci:** Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), Antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRACT

Firas Kanzi, Almas. 2020. **Prediction of Active Antibacterial Compounds from 96% Ethanol Extract of Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Leaves Against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* in vitro (Correlation of Metabolite Profiling and Antibacterial Test in vitro)**. Undergraduate Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim Islamic State University Malang. Lecturer I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt; Lecturer II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja S.Kep. Ns. M.Kep

The study of the antibacterial activity of the ethanol extract of the leaves of tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) was investigated to prove its efficacy scientifically as an antibacterial as the content of secondary metabolite compounds contained therein. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of 96% ethanol extract of tempuyung leaves against the inhibition levels of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria growth. Antibacterial testing used *Mueller-Hinton Agar* (MHA) media with the well diffusion method. The antibacterial test on the two bacteria used a variety of extract concentrations, namely; 0.025%, 0.05%, 0.075%, and 0.1%. In the antibacterial test results on *Staphylococcus epidermidis* bacteria showed a weak inhibition zone with a range of <5 mm and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria showed a weak-moderate inhibition zone with an inhibition zone range <5-10 mm, the results obtained after the extraction process were various kinds of metabolite compounds secondary. The result of the UPLC-MS instrument readings were 20 kinds of compounds with various types of flavonoids, alkaloids, terpenoids, complex sugars, and complex proteins. "*Baicalin*", has the molecular formula  $C_{21}H_{18}O_{11}$  and is a compound in the Flavonoid group. "*Spinin*", has the molecular formula  $C_{15}H_{25}NO_4$ , is a compound in the Alkaloid group. "*Saframycin*", has the molecular formula  $C_{30}H_{35}N_5O_7$ , is a compound of the Alkaloid group.

**Keywords:** Leaves of Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), Antibacterial, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

### مستخلص البحث

فراس كانزي، ألماس. 2020. توقع المركبات النشطة المضادة للبكتيريا من مستخلص الإيثانول 96% من أوراق تيمبوونج (سونجوس أرفنسيس ل) على ساتافيلوكوكوس إفيدرميس وفسيديموناس أوروغنوسا بطريقة في المختبر (الارتباط بين التنميط المستقلب واختبار مضاد الجراثيم في المختبر). بحث الجامعي. قسم الصيدلة بكلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأول: د. رائحة المطيعة الماجستير، المشرفة الثاني: ريا رضاني دوي أتماجا الماجستير.

دراسة نشاط المضادة للبكتيريا من مستخلص الإيثانول في أوراق تيمبوونج (سونجوس أرفنسيس ل) تبحث لیتم إثباته علمياً كمضاد للبكتيريا مثل المستقلبات الثانوية الموجودة فيه. هدف هذا البحث لمعرفة نشاط المضادة للبكتيريا من مستخلص الإيثانول 96% في أوراق تيمبوونج على مستوى تثبيط التنمية للبكتيريا ساتافيلوكوكوس إفيدرميس وفسيديموناس أوروغنوسا. استخدم اختبار المضادة للبكتيريا بوسيلة مولير هنتون أكار بطريقة انتشار جيد. اختبار المضادة للبكتيريا الثانية باستخدام اختلافات مختلفة في تراكيز المستخلص يعني: 0,025%، 0,05%، 0,075%، و 1,0%. في تحصيل اختبار المضادة للبكتيريا في بكتيريا ساتافيلوكوكوس إفيدرميس يشير إلى منطقة ضعيفة من التثبيط مع نطاق < 5 ميلي متر وفي فسيديموناس أوروغنوسا يظهر منطقة سحب ضعيفة - متوسطة مع مجموعة من مناطق التثبيط < 5 - 10 ميلي متر، النتائج التي تم الحصول عليها بعد عملية الاستخلاص هي أنواع مختلفة من مركبات الأيض الثانوية. استبانة UPLC-MS يعني 20 نوعاً من المركبات بأنواع مختلفة من مركبات الفلافونويد والقلويدات والتربينويدات والسكريات المعقدة والبروتينات المعقدة. بيجالين لها صيغة جزيئية  $C_{21}H_{18}O_{11}$  هو مركب من مجموعة الفلافونويد. سفينين لها صيغة جزيئية  $C_{15}H_{25}NO_4$  هو مركب من مجموعة القلويدات. سافراميشين لها صيغة جزيئية  $C_{30}H_{35}N_5O_7$  هو مركب من مجموعة القلويدات.

الكلمة الإشارية: أوراق تيمبوونج (سونجوس أرفنسيس ل)، المضادة للبكتيريا، ساتافيلوكوكوس إفيدرميس، فسيديموناس أوروغنوسا.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan salah satu penyebab utama timbulnya penyakit di daerah tropis seperti Indonesia karena keadaan udara yang banyak berdebu, temperatur yang hangat dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh subur (Kuswandi, 2001). Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi *pneumonia* di Provinsi Jawa Timur sebesar 4.2% (rentang: 0.5% – 8.1%) dan khususnya pada Kota Malang 2.4%, berdasarkan kelompok umur yang dialami oleh usia anak yaitu usia kurang dari satu tahun sebesar 3.0%, usia 1 – 4 tahun sebesar 3.6% dan usia 5 – 14 tahun sebesar 3.1%. Prevalensi *pneumonia* pada usia dewasa yaitu usia 15 – 24 tahun sebesar 3.9%, usia 25 – 34 tahun sebesar 4.2%, usia 35 – 44 tahun sebesar 4.9%, dan usia 45 – 54 tahun sebesar 5.3%. Untuk prevalensi *pneumonia* usia lanjut yaitu usia 65 – 74 tahun sebesar 5.9% dan usia >75 tahun sebesar 6.2% (Anonim, 2018).

Menurut Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin FK Universitas Indonesia/RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta pada waktu remaja jerawat adalah salah satu problem. Di Indonesia sekitar 95 – 100% laki-laki maupun 83 – 85% perempuan usia 16 – 17 tahun menderita jerawat. Dalam suatu penelitian lain didapatkan bahwa jerawat merupakan masalah kulit sampai melewati masa remaja dengan prevalensi perempuan lebih tinggi dibandingkan laki-laki pada rentang usia 20 tahun atau lebih (Sudharmono, 2009).

Islam sebagai agama rahmatan lil'alamiin memberikan solusi atas apa saja permasalahan yang ada di dunia ini, termasuk kesehatan. Kesehatan mencakup obat, metode pengobatan, hingga tindakan pencegahannya. Allah menciptakan manusia ke bumi tidak lain sebagai penjaga dari kerusakan bumi itu sendiri, penolong sesama makhluk ciptaan serta pemelihara ciptaan Allah yang ada di bumi ini. Kebutuhan yang disediakan oleh Allah kepada manusia sudah sangat mencukupi yang terpenting bagaimana kita mensyukurinya mulai dari makanan hingga obat yang tersedia dari alam. Obat yang tersedia dari alam disebut juga tanaman obat. Seperti hadits di bawah ini yang menerangkan bahwa tiada penyakit yang tidak ada obatnya kecuali tua.

رقم الحديث: ٢٠٣٧

حَدَّثَنَا بِشْرُ بْنُ مُعَاذٍ الْعَقَدِيُّ ، حَدَّثَنَا أَبُو عَوَانَةَ ، عَنْ زِيَادِ بْنِ عَلَاقَةَ ، عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيكٍ ، قَالَ : قَالَتْ الْأَعْرَابُ : يَا رَسُولَ اللَّهِ ، أَلَا نَتَدَاوَى ؟ قَالَ : " نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ ، تَدَاوَوْا ، فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَصْعَدْ دَاءٌ إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً ، أَوْ قَالَ : دَوَاءً ، إِلَّا دَاءً وَاحِدًا ، قَالُوا : يَا رَسُولَ اللَّهِ ، وَمَا هُوَ ؟ قَالَ : الْهَرَمُ " ، قَالَ أَبُو عَيْسَى : وَفِي الْأَبَابِ عَنِ ابْنِ مَسْعُودٍ ، وَأَبِي هُرَيْرَةَ ، وَأَبِي حُزَامَةَ ، عَنْ أَبِيهِ ، وَابْنِ عَبَّاسٍ ، وَهَذَا حَدِيثٌ حَسَنٌ صَحِيحٌ

*Mu'adz At Aqadi menceritakan kepada kami, Abu Awanah menceritakan kepada kami, dari Ziyad bin Ilaqah, dari Usamah bin Syarik, ia berkata, "Seorang Arab Badui berkata, 'Ya Rasulullah, tidakkah kita (harus) berobat? Rasulullah SAW menjawab, "Ya wahai hamba Allah, berobatlah kalian. (Sebab), sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit, kecuali ia pun menciptakan penyembuh(nya) atau ia mengatakan obat(nya), kecuali satu penyakit." Para sahabat bertanya, 'Ya Rasulullah, penyakit apakah itu?\*' Rasulullah SAW menjawab, "Tua". Abu Isa berkata, "Dalam bab ini ada riwayat lain dari Ibnu*

*Mas'ud, Abu Hurairah, Abu Khuzamah dari ayahnya, dari Ibnu Abbas". Hadits ini adalah hasan shahih.*

Shahih: Ibnu Majah (3436) Hadis ini adalah suatu bentuk perintah untuk berobat. Dijelaskan pada kata (تَدَاوُوا) *tadaawau*, adalah suatu kalimat perintah, sehingga lebih memperkuat lagi bahwa ketika kita sakit kita dianjurkan untuk berobat. Dalam kaidah fikih pun disebutkan bahwa “Pada dasarnya perintah menunjuk hukum wajib, selama tidak ada dalil yang mengenyampingkannya” (Abd. Rahman Dahlan, 2011). Pada kalimat selanjutnya, Rasulullah SAW menjelaskan (دَاءٌ إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً) bahwa segala penyakit itu pasti ada obatnya. Mengenai hal ini, Ibnu Qayyim dalam *Zadul Ma'ad* berpendapat bahwa sabda tersebut merupakan penguat (sugesti) bagi jiwa pasien dan dokter. Dengan demikian, harapan hatinya untuk sembuh akan bertambah. Kendati sang dokter tidak menemukan obatnya, dengan adanya hadis ini maka ia akan terus berusaha mencari obat untuk penyakit tersebut (Yusuf Qardhawi, 1998). Kalimat terakhir, Rasulullah mengecualikan penyakit yang tidak ada obatnya, yaitu penyakit tua. Dalam riwayat lain disebutkan dengan kata kepikunan, dan ada juga disebut dengan kematian. Dari ketiga redaksi tersebut, meskipun berbeda tetapi memiliki substansi yang sama. Bahwa ketika kita telah berusia lanjut (tua), hal itu tidak bisa kita obati agar kita menjadi muda. Apalagi kematian, itu sudah jelas-jelas sebuah takdir. Sebagaimana dikatakan oleh Al Imam Muhammad Asy-Syaukani bahwa “Kecuali penyakit kematian artinya penyakit yang ditakdirkan untuk kematian orang yang menderitanya”.

Menurut Ansel (1985) obat adalah ramuan/zat yang dipergunakan sebagai alat pengurangan rasa sakit, sebagai diagnosis berbagai macam penyakit, hingga sebagai alat untuk pencegahan terhadap penyakit pada manusia atau hewan. Antibiotik merupakan obat yang sering diresepkan untuk pasien namun sering terjadi penggunaan yang tidak tepat dan berakibat terjadinya resistensi terhadap kuman. Hal ini terjadi karena kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan antibiotik yang tepat (Baltazar *et al.*, 2009). Permasalahan resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Penyebab utama resistensi antibiotik ialah penggunaannya yang meluas dan irasional (Utami, 2012).

Semakin maraknya gerakan kembali ke alam (*back to nature*), maka kecenderungan penggunaan obat herbal di dunia semakin meningkat (Hadi, 2007). Obat herbal menurut Sukmono (2009) yaitu bahan atau ramuan berupa bahan tumbuh-tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan. Budaya mengonsumsi obat tradisional telah dilakukan oleh orang Indonesia sendiri dan dinilai efek sampingnya yang lebih kecil, sebagai tumbuhan pangan, serta sebagai pencegahan timbulnya suatu penyakit (Winarti dan Nurdjanah, 2005).

Oleh karena itu, kita memerlukan alternatif untuk mengatasi masalah penggunaan obat sintetis yang tidak tepat, salah satunya adalah dengan menggunakan obat tradisional yang memiliki efek samping lebih kecil dan harga yang lebih terjangkau (Kusuma, 1993). Beberapa tanaman di Indonesia memiliki efek terapeutik terhadap suatu penyakit salah satunya adalah tanaman tempuyung.

Tempuyung sendiri sudah sangat dikenal bangsa Indonesia hingga tanaman ini dianggap sebagai tanaman liar sebab tumbuh sendiri seperti rumput-rumputan liar lainnya. Daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) merupakan tumbuhan yang berasal dari Eurasia. Khasiat tempuyung sebagai penurun demam, peluruh kencing (*diuretik*), antiurolitiasis, dan penghancur batu ginjal (*lipotriptik*) menghilangkan bengkak serta diindikasikan sebagai antibakteri. Kandungan senyawa kimia dari daun tempuyung antara lain alfa-laktoserol, kalium, flavonoid, mannitol, taraxasterol, inositol, kaemferol, quercetin, rutin, hyperoside, orientin, catechindanmyricetin (Dalimartha, 2001). Berbagai macam kandungan senyawa dari ekstrak etanol 96% daun tempuyung memiliki sifat antibakteri yang didapat dari senyawa flavonoid dan triterpenoid.

Senyawa triterpenoid dan turunannya dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Menurut Sukadana dan Santi (2011), Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) yang diujikan pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* didapatkan pada konsentrasi 100 ppm. Penelitian tentang aktivitas antibakteri daun tempuyung terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* juga pernah dilakukan oleh Rumondang *et al.* (2013) Hasil uji antibakteri dengan ekstrak etanol, ekstrak *n*-heksana, triterpenoid terhadap mikroba *E. coli* dan *S. aureus* menghasilkan KHM pada konsentrasi 50 ppm untuk semua ekstrak yang diujikan hal itu menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Penyebab infeksi oleh bakteri yang ditimbulkan di tubuh manusia berbeda-beda, banyak faktor pendukung yang membuat bakteri menjadi resisten ataupun

memicu infeksi. Menurut Geo (2005), *Staphylococcus* merupakan parasit bagi manusia yang ada pada setiap tempat. Penyebab infeksi yang paling utama adalah bakteri berkumpul pada luka yang terdapat pada tubuh manusia, pada benda yang terkontaminasi akibat adanya kontak langsung dengan luka hingga pada saluran respirasi.

*Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Staphylococcus epidermidis* adalah salah satu bakteri Gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan dan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini merupakan penyebab infeksi kulit ringan yang disertai abses (Syarurachman *et al.*, 1994).

Menurut Jawetz dkk. (2005) *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang sangat banyak dan pada umumnya tumbuh subur di rumah sakit. Tidak menutup kemungkinan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang sifatnya saprofit hidup pada orang sakit saja, besar kemungkinan juga hidup pada orang sehat. Selain sifatnya yang saprofit bakteri ini menjadi patogen apabila berada pada kondisi yang tidak normal, itulah sebabnya 30% prevalensi infeksi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada banyak penyakit infeksi seperti dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata, dan infeksi pada luka bakar, saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lain disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Radji, 2011).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, sudah ada literatur tentang aktivitas antibakteri daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang diujikan pada bakteri *E.*

*coli*, *S. aureus* (Rumondang, 2013) dan *P. acnes* (Rizki, 2015) baik aktivitasnya maupun kandungan senyawa metabolit sekundernya. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang menguji antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung pada bakteri *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa*. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap *S. epidermidis* dan *P. aeruginosa* secara *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan sebelumnya, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan berbagai macam konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan daya hambat dengan metode sumuran?
2. Bagaimana profil metabolit ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan menggunakan UPLC-MS/MS?
3. Apakah ada senyawa yang diindikasikan sebagai antibakteri?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk membuktikan seberapa besar daya hambat ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Untuk mengetahui profil metabolit senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun tempuyung.
3. Untuk mengetahui senyawa yang diindikasikan sebagai antibakteri.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan bisa didapatkan melalui penelitian ini adalah:

1. Dapat menambah wawasan, pengetahuan, dan pengalaman peneliti saat melakukan penelitian ini.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai tanaman tempuyung khususnya pada bagian daunnya terhadap penghambatan jumlah koloni *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Dapat digunakan di bidang penelitian dan pendidikan untuk membantu penelitian lanjutan serta dalam mengembangkan ilmu pengetahuan, khususnya mengenai tanaman tempuyung ini.
4. Bagi masyarakat dapat memberikan informasi tambahan mengenai bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Keberagaman Tumbuhan oleh Alqur'an**

Sebagai khalifah di muka bumi, manusia dibekali akal oleh Allah SWT, di samping sebagai instink yang mendorong manusia untuk mencari segala sesuatu yang dibutuhkan untuk hidupnya seperti makan, minum, serta tempat berlindung. Dalam hal tersebut, manusia akan sangat banyak mendapatkan hal-hal baru dari segi pengalaman yang baik maupun yang jelek. Oleh karena itu, akal lah yang digunakan sebagai pengolah, peningkatan serta pengembangan pengalaman yang didapatkan oleh manusia tersebut menjadi pengalaman yang lebih baik. Akal lah sebagai pembentuk dan pembina kebudayaan manusia dalam berbagai aspek dalam hidupnya. Berbeda dengan binatang maupun tumbuhan yang hidupnya saja sudah terarah dan sifatnya statis. Islam adalah agama yang kaya, yakni mencakup segala aspek kehidupan manusia yang salah satunya adalah aspek pengobatan dan kesehatan. Ilmu pengobatan islam merujuk pada cara-cara yang alami dan metode ilahiah, yang pada hakikatnya sangat bermanfaat bagi seorang muslim dalam menjaga kesehatan dan mengobati penyakitnya.

Alqur'an adalah kitab suci umat Islam yang diturunkan oleh Allah SWT kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang bersifat absolut untuk menjadi petunjuk atau penuntun bagi kita dalam berbagai hal, baik dalam masalah ibadah, sosial, dan ilmu pengetahuan. Dalam aspek ilmu pengetahuan, salah satunya adalah ilmu sains dan pengobatan. Ilmu sains dan pengobatan mencakup tentang beragam manfaat yang bisa diambil oleh manusia dari berbagai macam

tumbuh-tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT. Sebagaimana yang sudah dijelaskan dalam Alqur'an Surah Qaf (50) ayat 7 menjelaskan sebagai berikut.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْفَيْنَا فِيهَا رُوسِيَ وَأُنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ

*“7. Dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata,”*

Kulit bumi terlihat tinggi pada tempat-tempat tertentu, seperti gunung-gunung, dan juga terlihat rendah pada tempat-tempat lain seperti dasar samudera. Berat bagian-bagian bumi ini sangat seimbang antara satu dengan yang lainnya. Salah satu tanda kekuasaan dan kebijakan Allah adalah dengan menciptakan keseimbangan ini dan menjadikannya tetap dengan jalan mengalirkan materi-materi bumi yang membentuk kerak bumi yang tipis yang terdapat di bawah lapisan luar bumi, maka dengan begitu terjadi aliran dari bagian bumi yang berat ke bagian yang lebih ringan (Shihab, 2002).

(Dan bumi itu) di'athafkan kepada kedudukan lafal *As-samaa'* yakni dan bumi itu bagaimana (Kami hamparkan) Kami jadikan terhampar menurut pandangan mata di atas permukaan air (dan Kami letakkan padanya gunung-gunung) yang memantapkannya (dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman) segala jenis tumbuh-tumbuhan (yang indah) yang tampak sangat indah dipandang mata karena keindahannya (Bahrul Abu Bakar, 2008). Firman Allah SWT: dan Kami hamparkan bumi itu. (Kami menjadikannya luar terhampar. Dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh.) agar bumi itu menetap di atas aliran air yang mengelilinginya dari segala penjuru. Dan kami tumbuhkan

padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata, yaitu berupa tanam-tanaman dan pepohonan yang beraneka ragam jenis dan macamnya. Firman Allah SWT, (بِهَيْجَةٍ) adalah bentuk masdar berasal dari kata “bahija-yabhaju”. Ia memiliki makna kegembiraan, kesenangan, baik, dan menawan. Isim fa’il nya adalah *bahijj*. Dalam kamus Al Mujam Al ‘Arabi *wajhun bahijj* bermakna wajahnya kelihatan gembira dan *mundzar bahijj* bermakna pemandangan yang indah lagi menawan (Ibnu Katsir, 2002). Tumbuhan hidup dengan air beserta unsur hara yang berupa garam-garam mineral. Semua kejadian yang terjadi di alam adalah tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi hamba yang mau berfikir. Berkaitan dengan ditumbuhkan atau dihidupkannya tumbuhan dengan air, Alqur’an memerintahkan kepada manusia secara tidak langsung supaya berpikir bagaimana air itu masuk ke dalam tubuh tumbuhan (Rossidy, 2008). Manusia dan tumbuh-tumbuhan sangat erat kaitannya dalam kehidupan. Banyak sekali nilai manfaat yang didapatkan oleh manusia dari tumbuh-tumbuhan namun masih banyak pula tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitar kita yang belum diketahui manfaatnya. Keberadaan tumbuh-tumbuhan merupakan berkah dan nikmat Allah SWT yang diberikan kepada seluruh makhluknya. Satu diantara berbagai macam tumbuhan yang diciptakan Allah SWT adalah tumbuhan berkhasiat obat atau tumbuhan obat sebagaimana Allah berfirman (QS. Thaha:53).

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا  
مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

“53. 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 tumbuhan-tumbuhan yang bermacam-macam.”*

Ayat di atas menerangkan bahwa tumbuhan diciptakan berjenis-jenis dan bermacam-macam. Tidak dapat dipungkiri bahwa keanekaragaman tumbuhan adalah fenomena alam yang harus dikaji dan dipelajari untuk dimanfaatkan sepenuhnya bagi kesejahteraan manusia. Ayat tersebut juga menjelaskan bahwa banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang dapat tumbuh di bumi ini dengan adanya air hujan. Allah menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Allah mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawija dan buah-buahan, baik yang masam maupun yang manis. Juga mengeluarkannya berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk; sebagiannya cocok untuk manusia dan sebagian lainnya cocok untuk hewan. Di sini terdapat penjelasan tentang nikmat Allah yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui hujan yang melahirkan berbagai manfaat. Keanekaragaman tumbuhan juga fenomena alam yang merupakan bagian dari tanda-tanda kekuasaan Allah SWT dan jelas bahwa tanda-tanda itu hanya dapat diketahui oleh orang-orang yang berakal (Al-Maraghi, 1993).

(مَهْدًا) *Mahdan* adalah hamparan, *Salaka* (سَلَاكًا) adalah memudahkan, dan *Subulan* (سُبُلًا) adalah jalan-jalan. (أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى) *Azwaajan* adalah berbagai jenis dan *Syattan* adalah beraneka warna serta rasa (Jabir, 2007).

Dialah Tuhan yang menganugerahkan nikmat kehidupan dan pemeliharaan kepada hamba-hamba-Nya. Dengan kekuasaan-Nya, Dia telah menjadikan bumi sebagai hamparan untukmu, membuka jalan-jalan untuk kamu lalui dan

menurunkan hujan di atas bumi sehingga terciptalah sungai-sungai. Dengan air itu Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang berbeda-beda warna, rasa, dan manfaatnya. Ada yang berwarna putih dan hitam, ada pula yang rasanya manis dan pahit (Shihab, 2007).

Dialah yang telah menjadikan bumi bagi kalian yang mudah untuk diambil manfaatnya, mengadakan bagi kalian banyak jalan di sana, dan menurunkan hujan dari langit. Dengan air hujan itu Kami tumbuhkan aneka macam tumbuhan (Al-Qarni, 2007). Dia (yang telah menjadikan bagi kalian) diantara sekian banyak makhluk-Nya (bumi sebagai hamparan) tempat berpijak (dan Dia memudahkan) mempermudah (bagi kalian di bumi itu jalan-jalan) tempat-tempat untuk berjalan (dan Dia menurunkan dari langit air hujan) yakni merupakan hujan. Allah berfirman menggambarkan apa yang telah disebutkan-Nya itu sebagai nikmat dari-Nya, kepada Nabi Musa dan dianggap sebagai khithab untuk penduduk Mekah (maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis) bermacam-macam (tumbuh- tumbuhan yang beraneka ragam). Lafal *Syattaa* ini menjadi kata sifat daripada lafal *Azwaajan*, maksudnya yang berbeda-beda warna dan rasa serta lain-lainnya. Lafal *Syattaa* ini adalah bentuk jamak dari lafal *Syatiitun*, wazannya sama dengan lafal *Mardhaa* sebagai jamak dari lafal *Mariidhun*. Ia berasal dari kata kerja *Syatta* artinya *Tafarraqa* atau berbeda-beda (Bahrul Abu Bakar, 2008).

## 2.2 Daun Tempuyung

### 2.2.1 Klasifikasi Daun Tempuyung

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Asterales  
Famili : Asteraceae (aster-asteran)  
Jenis : *Sonchus*  
Spesies : *Sonchus arvensis* L.

(Winarto.W. P. & Tim Karyasari, 2004)



**Gambar 2.1** Daun Tempuyung

[https://id.wikipedia.org/wiki/Daun\\_Tempuyung](https://id.wikipedia.org/wiki/Daun_Tempuyung)

### 2.2.2 Morfologi Daun Tempuyung

Tanaman tempuyung termasuk family *Asteraceae* dan spesies *Sonchus arvensis* L. Tempuyung memiliki ciri fisik yang khas, yaitu daun tunggal yang berbentuk lanset atau lonjong dengan panjang 6 – 48 cm dan lebar 3 – 12 cm

(Sulasna *et al.*, 2004), tepi daun menyirip tidak beraturan dan berwarna hijau muda. Bunga berbentuk bonggol yang tergabung dalam malai, bertangkai, mahkota berbentuk jarum dengan warna kuning cerah. Buah tempuyung berbentuk kotak dan berusuk lima, berwarna kuning dengan panjang hingga 4 mm. Tempuyung juga memiliki rhizome berdiameter 0.25 – 0.5 cm, berasal dari akar utama dan bercabang-cabang kecil, kedalaman tanah yang dapat ditembus perakaran tempuyung mencapai 2 – 5 inch (5 – 12 cm), tapi tunas vegetatif dapat mencapai kedalaman 20 inch (50 cm) di bawah permukaan tanah dan akar vertikal dapat menembus kedalaman tanah hingga 2 m (Dalimartha, 2005). Kandungan kimia yang terdapat pada daun tempuyung, yaitu berupa ion-ion mineral, seperti Si, K, Mg, Na, dan senyawa organik, flavonoid (kaempferol, luteolin-7-O-glukosida, apigenin-7-O-glukosida) (Rohaeti *et al.*, 2011), kumarin (skepoletin), taraksasterol, inositol, dan asam fenolat (sinamat, kumarat, vanilat) (Yuliarti, 2013).

### **2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif**

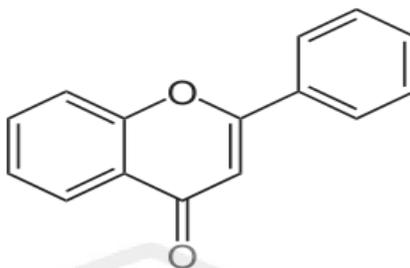
Indonesia juga memiliki berbagai jenis komoditas tanaman obat baik yang sudah dibudidayakan dengan baik maupun masih tumbuh secara liar. Berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia nomor: 511/Kpts/PD.310/9/2006, ada 66 jenis tanaman obat yang telah dikembangkan Indonesia serta berada dalam tanaman binaan Direktorat Jenderal Hortikultura dan salah satu dari tanaman tersebut adalah tempuyung (*Sonchus arvensis* L) (Direktorat Jendral Hortikultura, 2012).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan, dan sebagainya. Serta banyak jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat-obatan, dikenal sebagai obat tradisional sehingga perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang bermanfaat sebagai obat. Obat tradisional biasanya berupa ramuan yang berasal dari beberapa bagian tumbuh-tumbuhan dari akar, kulit batang, kayu, daun, bunga maupun bijinya. Tumbuhan sendiri mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terbentuk dalam tanaman.

Senyawa-senyawa yang tergolong ke dalam kelompok metabolit sekunder ini, antara lain: alkaloid, flavonoid, kuinon, tannin, dan minyak atsiri. Di dalam tanaman, setiap senyawa akan saling bersinergis sehingga menambah aktivitas atau efektivitasnya (Djauhariya & Hernani, 2004). Metabolisme sekunder juga disebut metabolisme khusus adalah istilah untuk jalur dan molekul kecil produk dari metabolisme yang tidak mutlak diperlukan untuk kelangsungan hidup organisme. Dalam makalah ini akan membahas lebih tentang senyawa terpenoid. Dalam tumbuhan biasanya terdapat senyawa hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi yang merupakan senyawa terpenoid. Kata terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan dan istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang

sama. Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan hanya terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai eter minyak bumi, eter, atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina memakai pelarut di atas tetapi sering kali terdapat kesukaran sewaktu mendeteksi dalam skala mikro karena hampir semua senyawa terpenoid tidak berwarna dan tidak ada pereaksi kromogenik yang peka (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Penyebaran jenis flavonoid pada golongan tumbuhan yang terbesar yaitu angiospermae (Markham, 1998). Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berbuluh tetapi beberapa kelas lebih tersebar dari pada yang lainnya. Flavon dan flavonol terdapat pada semesta, sedangkan isoflavon dan biflavonol hanya terdapat pada beberapa suku tumbuhan. Sifat berbagai golongan flavonoid tersaji pada tabel 1 (Harborne, 1996). Kerangka flavonoid cincin benzoyl dan cinnamoyl tersaji pada gambar 2 (Mabry, *et al.*, 1970). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995).



**Gambar 2.2** Struktur Flavonoid

<https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Flavon.svg>

Senyawa kimia terutama senyawa organik hasil metabolisme dapat dibagi dua, yaitu yang pertama senyawa hasil metabolisme primer, contohnya karbohidrat, protein, lemak, asam nukleat, dan enzim. Senyawa kedua adalah senyawa hasil metabolisme sekunder, contohnya terpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dan biasanya berupa sistem siklis. Alkaloid mengandung atom karbon, hidrogen, nitrogen, dan pada umumnya mengandung oksigen. Senyawa alkaloid banyak terkandung dalam akar, biji, kayu maupun daun dari tumbuhan dan juga dari hewan. Senyawa alkaloid merupakan hasil metabolisme dari tumbuh-tumbuhan dan digunakan sebagai cadangan bagi sintesis protein. Kegunaan alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai pelindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon. Alkaloid mempunyai efek fisiologis. Sumber alkaloid adalah tanaman berbunga, angiospermae, hewan, serangga, organisme laut, dan mikroorganisme. Famili tanaman yang mengandung alkaloid adalah Liliaceae, solanaceae, rubiaceae, dan papaveraceae (Tobing, 1989). (1; 15)

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit. Selanjutnya dalam *Meyer's Conversation Lexicons* tahun 1896 dinyatakan bahwa alkaloid terjadi secara karakteristik di dalam tumbuh-tumbuhan, dan sering dibedakan berdasarkan kereaktifan fisiologi yang khas. Senyawa ini terdiri atas karbon, hidrogen, dan nitrogen, sebagian besar diantaranya mengandung oksigen. Sesuai dengan namanya yang mirip dengan alkali (bersifat basa) dikarenakan adanya sepasang elektron bebas yang dimiliki oleh nitrogen sehingga dapat mendonorkan sepasang elektronnya. Kesulitan mendefinisikan alkaloid sudah berjalan bertahun-tahun. Definisi tunggal untuk alkaloid belum juga ditentukan. Trier menyatakan bahwa sebagai hasil kemajuan ilmu pengetahuan, istilah yang beragam senyawa alkaloid akhirnya harus ditinggalkan (Hesse, 1981).

Garam alkaloid dan alkaloid bebas biasanya berupa senyawa padat, berbentuk kristal tidak berwarna (berberina dan serpentina berwarna kuning). Alkaloid sering kali optik aktif dan biasanya hanya satu dari isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dalam beberapa kasus dikenal campuran rasemat dan pada kasus lain satu tumbuhan mengandung satu isomer sementara tumbuhan lain mengandung enantiomernya (Padmawinata, 1995). Ada juga alkaloid yang berbentuk cair, seperti konina, nikotina, dan higrina. Sebagian besar alkaloid mempunyai rasa yang pahit. Alkaloid juga mempunyai sifat farmakologi. Sebagai

contoh, morfina sebagai pereda rasa sakit, reserfina sebagai obat penenang, atrofina berfungsi sebagai antispasmodia, kokain sebagai anestetik lokal, dan strisina sebagai stimulan syaraf (Ikan, 1969). Alkaloid telah dikenal selama bertahun-tahun dan telah menarik perhatian terutama karena pengaruh fisiologinya terhadap mamalia dan pemakaiannya di bidang farmasi, tetapi fungsinya dalam tumbuhan hampir sama sekali kabur. Beberapa pendapat mengenai kemungkinan perannya dalam tumbuhan sebagai berikut (Padmawinata, 1995).

1. Alkaloid berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan (salah satu pendapat yang dikemukakan pertama kali, sekarang tidak dianut lagi).
2. Beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut meskipun sangat kekurangan nitrogen.
3. Pada beberapa kasus, alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan. Meskipun dalam beberapa peristiwa bukti yang mendukung fungsi ini tidak dikemukakan, mungkin merupakan konsep yang direka-reka dan bersifat 'manusia sentris'.
4. Alkaloid dapat berlaku sebagai pengatur tumbuh, karena dari segi struktur, beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh. Beberapa alkaloid merangsang perkecambahan yang lainnya menghambat.
5. Semula disarankan oleh Liebig bahwa alkaloid, karena sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan

kesetimbangan ion dalam tumbuhan. Sejalan dengan saran ini, pengamatan menunjukkan bahwa pemberian nikotina ke biakan akar tembakau meningkatkan pengambilan nitrat. Alkaloid dapat pula berfungsi dengan cara pertukaran dengan kation tanah.

Sampai saat ini sangat sedikit alkaloid yang ditemukan pada tumbuhan tingkat rendah. Kemungkinan hanya satu atau dua famili dari jamur saja yang mengandung alkaloid, seperti ergot. Pada golongan alkaloid indol, bufotenin, juga ditemukan dalam jamur yaitu spesies *Amanita mappa*, selain yang ditemukan pada tumbuhan (*Piptadenia pergrina*) dan katak (*Bufo vulgaris*). Pada garis besarnya, campuran senyawa nitrogen yang ditemukan pada jamur dan mikroorganisme dapat dianggap sebagai alkaloid, tetapi hal ini tidaklah biasa. Contoh lain senyawanya adalah gliotoksin (Jamur *Trichoderma viride*), pyosianin (Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*) dan erythromisin hasil dari *Streptomyces* (Ikan, 1969). Semua alkaloid mengandung paling sedikit sebuah nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Batasan mengenai alkaloid seperti dinyatakan di atas perlu dikaji dengan hati-hati. Karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam bukan termasuk alkaloid. Misalnya pirimidin dan asam nukleat, yang kesemuanya itu tidak pernah dinyatakan sebagai alkaloid (Achmad, 1986).

Hingga kini belum ada pendefinisian tunggal dan penggolongan yang jelas dari alkaloid. Dalam bukunya, Matsjeh (2002) menerangkan beberapa klasifikasi alkaloid, diantaranya yaitu berdasarkan lokasi atom nitrogen di dalam struktur

alkaloid dan berdasarkan asal mula kejadiannya (biosintesis) dan hubungannya dengan asam amino. Berdasarkan lokasi atom nitrogen di dalam struktur alkaloid, alkaloid dapat dibagi atas lima golongan, yaitu:

1. Alkaloid heterosiklis
2. Alkaloid dengan nitrogen eksosiklis dan amina alifatis
3. Alkaloid putressina, spermidina, dan spermina
4. Alkaloid peptida
5. Alkaloid terpena

Dari lima golongan di atas, alkaloid heterosiklis adalah yang terbesar dan yang terkecil adalah alkaloid putressina, spermidina, dan spermina. Ini dapat dilihat dari jumlah anggota dari masing-masing golongan seperti diterangkan di bawah ini.

1. Alkaloid heterosiklis

Alkaloid heterosiklis merupakan alkaloid dengan atom nitrogennya terdapat dalam cincin heterosiklis. Alkaloid heterosiklis dibagi menjadi:

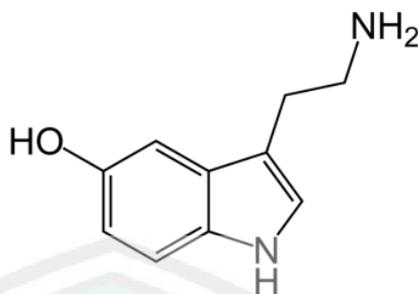
- a. Alkaloid pirolidin
- b. Alkaloid indol
- c. Alkaloid piperidin
- d. Alkaloid piridin
- e. Alkaloid tropan dan basa yang berhubungan
- f. Alkaloid histamin, imidazol dan guanidin
- g. Alkaloid isokuinolin
- h. Alkaloid kuinolin

- i. Alkaloid akridin
  - j. Alkaloid kuinazolin
  - k. Alkaloid izidin
2. Alkaloid dengan nitrogen eksosiklis dan amina alifatis
    - a. Eritrofleum
    - b. Fenilalkilamina
    - c. Kapsaisin
    - d. Alkaloid dari jenis kolkina
  3. Alkaloid putressina, spermidina, dan spermina
  4. Alkaloid peptida
  5. Alkaloid terpena dan steroid

Sedangkan berdasarkan asal mulanya (biogenesis) dan hubungannya dengan asam amino, alkaloid dibagi menjadi tiga kelas, yaitu: (1) *Truealkaloid*, (2) *Proto alkaloid*, dan (3) *Pseudo alkaloid*. Ciri-ciri dari ketiga kelas alkaloid adalah sebagai berikut:

1. True alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri; toksik, perbedaan keaktifan fisiologis yang besar, basa, biasanya mengandung atom nitrogen di dalam cincin heterosiklis, turunan asam amino, distribusinya terbatas dan biasanya terbentuk di dalam tumbuhan sebagai garam dari asam organik. Tetapi ada beberapa alkaloid ini yang tidak bersifat basa, tidak mempunyai cincin heterosiklis dan termasuk alkaloid kuartener yang lebih condong bersifat asam. Contoh dari alkaloid ini adalah serotonin.

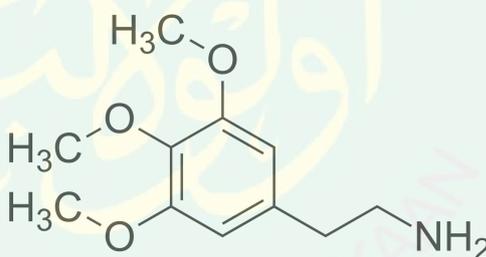


**Gambar 2.3** Struktur Serotonin

<https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Serotonin-skeletal.png>

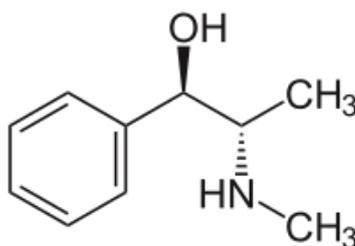
## 2. Proto alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri mempunyai struktur amina yang sederhana, di mana atom nitrogen dari asam aminonya tidak berada di dalam cincin heterosiklis, biosintesis berasal dari asam amino dan basa, istilah *biological amine* sering digunakan untuk alkaloid ini. Contoh dari alkaloid ini adalah meskalina dan efedrina.



**Gambar 2.4** Struktur Mescaline

[https://de.wikipedia.org/wiki/Mescaline#/media/Datei:2-\(3,4,5-trimethoxyphenyl\)ethanamine\\_200.svg](https://de.wikipedia.org/wiki/Mescaline#/media/Datei:2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanamine_200.svg)



**Gambar 2.5** Struktur Efedrin

[https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:\(-\)-Ephedrin.svg](https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:(-)-Ephedrin.svg)

### 3. Pseudo alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri; tidak diturunkan dari asam amino dan umumnya bersifat basa. Contohnya adalah kafeina.



**Gambar 2.6** Struktur Kafein

<https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Caffeine.svg>

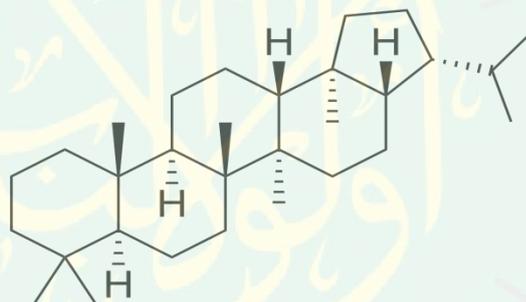
*Terpenoid* merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder. Senyawa terpen ini ada dalam jumlah yang besar dan kerangka molekul yang beragam, namun dapat dengan mudah dikenali melalui keteraturan monomernya yang terbentuk dari isopren. (Gunawan, 2008) Senyawa di atas merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan disebut sebagai minyak atsiri. Minyak atsiri yang awalnya berasal dari bunga pada awalnya dikenal dari penentuan struktur secara sederhana yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari suatu senyawa terpenoid yaitu 8:5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid (Lenny, 2006).

Monoterpen-monoterpen dan seskuiterpen adalah komponen utama dari minyak menguap atau minyak atsiri. Minyak menguap ini diperoleh dari daun atau jaringan-jaringan tertentu dari tumbuh-tumbuhan atau pohon-pohonan.

Minyak atsiri adalah bahan yang mudah menguap sehingga ia mudah dipisahkan dari bahan-bahan lain yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Salah satu cara yang paling populer untuk memisahkan minyak atsiri dari jaringan tumbuh-tumbuhan ialah penyulingan. Senyawa-senyawa dan triterpen tidak dapat diperoleh dengan jalan destilasi uap tapi diperoleh dari tumbuh-tumbuhan dan tanaman karet atau resin dengan jalan isolasi serta metoda pemisahan tertentu.

Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu monoterpena dan sesquiterpena yang mudah menguap ( $C_{10}$  dan  $C_{15}$ ), diterpena menguap, yaitu triterpenoid dan sterol ( $C_{30}$ ), serta pigmen karotenoid ( $C_{40}$ ). Masing-masing golongan terpenoid itu penting, baik dalam pertumbuhan dan metabolisme maupun pada ekologi tumbuh-tumbuhan. Terpenoid merupakan unit isoprena ( $C_5H_8$ ). Terpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  siklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang nisbi rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehid, atau atom karboksilat. Semua senyawa terpenoid berasal dari molekul isoprene  $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$  dan kerangka karbonnya (*carbon skeleton*) disusun dengan menyambung dua atau lebih satuan isoprena tersebut ( $C_5$ ). Berdasarkan alasan tersebut, maka senyawa terpenoid seringkali dinyatakan dengan istilah "isoprenoid". Namun, senyawa isoprena sendiri tidak terdapat di alam, senyawa yang sebenarnya terlibat adalah isopentenil pirofosfat,  $CH_2=C(CH_3)-CH_2-CH_2-OPP$ . Hal ini menyebabkan ada sebagian senyawa terpenoid yang tidak tersusun dari molekul isoprena tersebut (Tukiran, 2010).

*Triterpenoid* adalah senyawa metabolid sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Sebagian besar senyawa *Triterpenoid* mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga dalam kehidupan sehari-hari banyak dipergunakan sebagai obat seperti untuk pengobatan penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati, dan malaria. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa *Triterpenoid* terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai anti fungus, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri, dan anti virus (Robinson, 1995).



**Gambar 2.7** Struktur Triterpenoid

<https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Hopane.svg>

### 2.3 Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson

saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2004). Melihat dan mengamati bakteri dalam keadaan hidup sangat sulit, karena selain bakteri itu tidak berwarna juga transparan dan sangat kecil. Untuk mengatasi hal tersebut maka dikembangkan suatu teknik pewarnaan sel bakteri ini merupakan salah satu cara yang paling utama dalam penelitian-penelitian mikrobiologi (Dwidjoseputro, 1998).

Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan pewarna-pewarna sederhana karena sitoplasmanya bersifat basofilik (suka akan basa) sedangkan zat-zat warna yang digunakan untuk pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (komponen kromoforiknya bermuatan positif). Faktor-faktor yang mempengaruhi pewarnaan bakteri yaitu fiksasi, peluntur warna, substrat, intensifikasi pewarnaan, dan penggunaan zat warna penutup. Suatu preparat yang sudah meresap suatu zat warna, kemudian dicuci dengan asam encer maka semua zat warna terhapus. Sebaliknya terdapat juga preparat yang tahan terhadap asam encer. Bakteri-bakteri seperti ini dinamakan bakteri tahan asam dan hal ini merupakan ciri yang khas bagi suatu spesies (Dwidjoseputro, 1980).

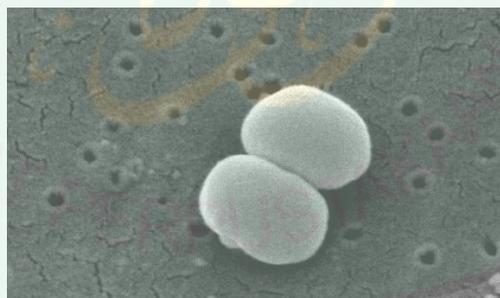
### **2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Staphylococcus epidermidis***

*Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) merupakan salah satu spesies dari genus bakteri *Staphylococcus* yang paling sering ditemui dalam kepentingan klinis. Bakteri ini adalah bakteri gram positif dan termasuk *staphylococcus* dengan koagulasi negatif. Sebagian besar bakteri ini adalah flora normal pada kulit dan membran mukosa manusia (Jawetz, 2010). Dahulu, organisme ini jarang

mengakibatkan infeksi yang signifikan. Tetapi dengan peningkatan penggunaan *implant kateter* dan alat *prostetik*, *S. epidermidis* menjadi agen penting penyebab infeksi nosokomial (Ryan, 2010). Pengobatan infeksi bakteri ini menjadi semakin sulit karena meningkatnya resistensi terhadap berbagai agen antimikrobia dan kemampuannya membentuk biofilm (Nuryastuti T. et. al, 2009).

Menurut Breed dkk. (1957), klasifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis*:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Eukariota
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: Staphylococcus epidermidis



**Gambar 2.8** Mikrograf Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

[https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_epidermidis#/media/File:Staphylococcus\\_epidermidis\\_01.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis#/media/File:Staphylococcus_epidermidis_01.png)

*Staphylococcus epidermidis* memiliki beberapa karakteristik, antara lain (Jawetz dkk., 2001):

1. Bakteri gram positif, koagulase negatif, katalase positif.

2. Aerob atau anaerob fakultatif.
3. Berbentuk bola atau kokus, berkelompok tidak teratur.
4. Berdiameter 0.5 – 1.5  $\mu\text{m}$ .
5. Tidak membentuk spora dan tidak bergerak, koloni berwarna putih
6. Bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37°C.
7. *Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal pada manusia.

*Staphylococcus epidermidis* terdapat pada kulit, selaput lendir, bisul, dan luka. Dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan.

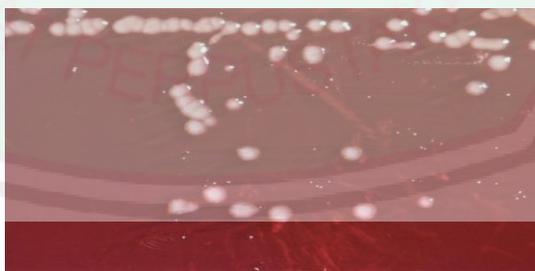
### 2.3.2 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* memiliki klasifikasi sebagai berikut.

Divisi	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadinae
Familia	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Holt et al., 1994)

*Pseudomonas aeruginosa* termasuk ke dalam famili Pseudomonadaceae. Pseudomonadaceae dan beberapa genus lain bersama beberapa organisme tertentu dikenal sebagai *Pseudomonas*. Istilah *Pseudomonas* ditunjukkan pada bakteri yang mempunyai perlengkapan fisiologik sama dengan bakteri dari genus *Pseudomonas*. Beberapa bakteri ini pada awalnya termasuk genus *Pseudomonas*

tetapi kemudian dipindahkan ke genus atau famili lain karena jauhnya jarak filogenik bakteri-bakteri tersebut dari genus *Pseudomonas* (Todar, 2004). *Pseudomonas aeruginosa* dapat bergerak, berbentuk batang, ukurannya  $0.6 \times 2 \mu\text{m}$ . Bakteri ini merupakan Gram negatif yang bersifat aerobik obligat yang tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media (Volk dan Wheeler, 1990; Brooks et al., 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat berada dalam orang sehat, di mana bersifat saprofit. Bakteri ini menyebabkan penyakit pada manusia dengan ketahanan tubuh yang tidak normal. *P. aeruginosa* dari bentuk koloni berbeda mungkin juga mempunyai aktivitas biokimia dan enzimatik yang berbeda serta memberi kepekaan yang berbeda terhadap zat antimikroba. *P. aeruginosa* tumbuh baik pada  $37 - 42^\circ\text{C}$ . *P. aeruginosa* menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya diselaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan (Brooks et al., 2005). Bakteri ini menyebabkan infeksi sekunder pada luka, luka bakar, juga merupakan penyebab diare pada bayi dan infeksi saluran kemih (Gupte, 1990).



**Gambar 2.9** Mikrograf Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

[https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Pseudomonas\\_aeruginosa\\_01.jpg](https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Pseudomonas_aeruginosa_01.jpg)

*Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan satu atau lebih pigmen yang dihasilkan dari asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa

pigmen tersebut antara lain: piosianin (pigmen berwarna biru), pioverdin (pigmen berwarna kuning), piorubin (pigmen berwarna merah), dan piomelanin (pigmen berwarna coklat). Koloni *P. aeruginosa* mengeluarkan bau manis atau menyerupai anggur. Beberapa strain dari *P. aeruginosa* dapat menghemolisis darah (Jawetz et al., 2001; Todar, 2004).

#### 2.4 Media Kultur Jaringan

Pada umumnya komposisi utama media tanam kultur jaringan, terdiri dari hormon (zat pengatur tumbuh) dan sejumlah unsur yang biasanya terdapat di dalam tanah yang dikelompokkan ke dalam unsur makro dan unsur mikro. Hasil yang lebih baik akan dapat kita peroleh bila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin, asam amino, dan hormon, bahan pematat media (agar), glukosa dalam bentuk gula maupun sukrosa, air destilata (akuades), dan bahan organik tambahan (Gunawan, 1992).

Zat pengatur tumbuh adalah persenyawaan organik selain dari nutrient yang dalam jumlah yang sedikit (1mM) dapat merangsang, menghambat, atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Moore, 1979 dalam Gunawan, 1992). Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) dalam kultur jaringan diperlukan untuk mengendalikan dan mengatur pertumbuhan kultur tanaman. Zat ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Jenis dan konsentrasi ZPT tergantung pada tujuan dan tahap pengkulturan. Secara umum, zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur jaringan ada tiga kelompok besar, yaitu auksin, sitokinin, dan giberelin.

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk merangsang pertumbuhan kalus, akar, suspensi sel, dan organ (Gunawan, 1992) Contoh hormon kelompok auksin adalah 2,4 Dikloro Fenoksiasetat (2,4-D), Indol Acetid Acid (IAA), Naftalen Acetid Acid (NAA), atau Indol Buterik Asetat (IBA). Golongan sitokinin berperan untuk menstimulus pembelahan sel dan merangsang pertumbuhan tunas pucuk. Menurut Gunawan (1992), golongan ini sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan adalah kinetin, ziatin, benzilaminopurine (BAP), dan giberelin untuk diferensiasi atau perbanyakkan fungsi sel, terutama pembentukan kalus. Hormon kelompok giberelin adalah GA3, GA2, dan GA1.

Penggunaan hormon tersebut harus tepat dalam perhitungan dosis pemakaian, karena jika terlalu banyak maupun terlalu sedikit dari dosis yang diperlukan justru akan menghambat bahkan berdampak negatif terhadap tanaman kultur. Karena interaksi antar hormon dalam suatu media sangat berpengaruh dalam diferensiasi sel.

Kebutuhan nutrisi mineral untuk tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* pada dasarnya sama dengan kebutuhan hara tanaman yang ditumbuhkan di tanah. Unsur-unsur hara yang dibutuhkan tanaman di lapangan merupakan kebutuhan pokok yang harus tersedia dalam media kultur jaringan. Antara lain adalah unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur-unsur hara tersebut diberikan dalam bentuk garam-garam mineral. Komposisi media dan perkembangannya didasarkan pada pendekatan masing-masing peneliti (Gunawan, 1992).

## 2.5 Antibakteri

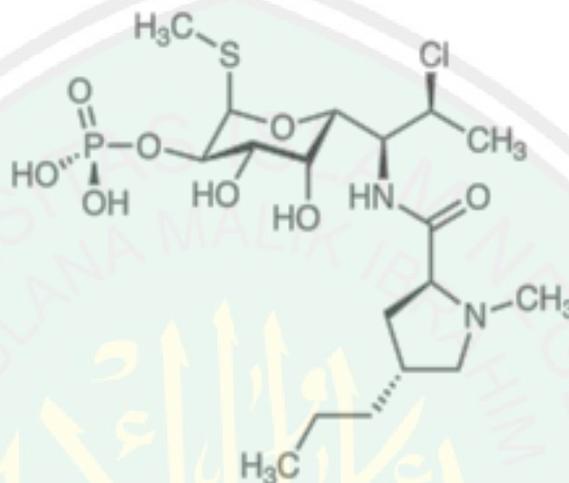
Antibakteri adalah senyawa-senyawa kimia alami yang dalam kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan antibakteri adalah antibiotik. Antimikroba dapat berupa senyawa kimia sintetis atau produk alami. Antimikroba sintetis dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengekstrakan (Setyaningsih, 2004). Mikroorganisme adalah makhluk hidup yang memiliki aktivitas yang berupa tumbuh dan berkembang. Kadang kala pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme ini terganggu. Hal ini dapat dipengaruhi baik dari mikroba itu sendiri ataupun dari luar. Salah satu pengaruh yang paling berpotensi adalah antimikroba (Gobel, 2008). Antimikroba adalah senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme hidup. Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik dan yang dapat membunuh bakteri disebut bakterisida, atau dengan kata lain disebut juga antibiostatik yaitu bahan-bahan yang bersumber hayati yang pada kadar rendah sudah menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup (Gobel, 2008). Antibakteri atau antimikroba adalah bahan yang dapat membunuh atau menghambat aktivitas mikroorganisme dengan bermacam-macam cara. Senyawa antimikroba terdiri atas beberapa kelompok berdasarkan mekanisme daya kerjanya atau tujuan penggunaannya. Bahan antimikroba dapat secara fisik atau kimia dan berdasarkan peruntukannya dapat berupa desinfektan, antiseptik, sterilizer, sanitiser, dan sebagainya (Lutfi, 2004).

Menurut Aulia (2008), antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid, bakterisid, bakteriostatik, antiseptik, dan desinfektan. Kerja senyawa antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi senyawa antibakteri yang digunakan, jumlah dan spesies bakteri, suhu, keberadaan bahan organik lain dan pH (Pelczar dan Chan, 1998). Antibakteri adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Mekanisme kerja antibakteri dapat terjadi melalui beberapa cara yaitu kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas sel, dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat. Banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antibakteri, antara lain konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, adanya bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Fajrina *et al.*, 2008). Menurut Majid (2009), berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotik dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu menghambat proses sintesis dinding sel. Tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi dari pada di luar sel sehingga kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar dari efek bakterisidal terhadap mikroba yang peka.

## 2.6 Clindamycin

Klindamisin yang memiliki rumus molekul  $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$  dan berat molekul 424.98302 ini merupakan jenis antibakteri semisintetik yang analog dengan linkomisin. Klindamisin sebagai antibakterial bekerja menghambat

pertumbuhan atau reproduksi dari bakteri yaitu dengan menghambat sintesa protein. Mekanisme kerja klindamisin meliputi memotong elongasi rantai peptida, memblok site A pada ribosom, kesalahan membaca pada kode genetic, atau mencegah penempelan rantai oligosakarida pada glikoprotein.



**Gambar 2.10** Struktur *Clindamycin*

[https://en.wikipedia.org/wiki/Clindamycin#/media/File:Clindamycin\\_1.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Clindamycin#/media/File:Clindamycin_1.png)

## 2.7 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Mekanisme kerja obat dalam hal ini dapat dikelompokkan dalam empat hal utama, yaitu:

1. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel
2. Penghambatan terhadap fungsi membran sel
3. Penghambatan terhadap sintesis protein
4. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

Mekanisme kerja antibakteri adalah mengganggu bagian-bagian yang ada di dalam sel, yaitu:

1. Sintesis dinding sel. Mencegah sintesis dinding sel dan merusak dinding sel, menyebabkan tekanan osmotik dalam sel lebih tinggi daripada lingkungan luar sel sehingga sel akan mengalami lisis (Adilfiet, 1994).
2. Fungsi membrane. Merusak atau memperlemah satu atau lebih dari fungsi membrane sehingga berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri akan keluar yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Adilfiet, 1994).
3. Sintesis Protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua subunit yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA yang menjadi ribosom 70S. Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yaitu transkripsi atau sintesis asam ribonukleat yang DNA-dependent dan translasi atau sintesis protein yang RNA-dependent. Apabila salah satu dari dua proses ini dihambat maka tidak akan terjadi sintesis protein (Adilfiet, 1994).
4. Metabolisme asam nukleat DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Adilfiet, 1994).

## 2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

### 2.8.1 Metode Difusi Padat

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran, dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

### 2.8.2 Metode Dilusi

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi bakteri dalam media. Sedangkan pada dilusi padat setiap konsentrasi obat dicampur media agar lalu ditanami bakteri. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih atau dengan tingkat kekeruhan terendah ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Kemudian larutan tersebut dituangkan pada media pertumbuhan padat. Jika pada media padat tersebut tidak ada pertumbuhan bakteri, maka kadar larutan uji tersebut ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Tortora *et al.*, 2001).

## 2.9 Moisture Analyzer

Moisture analyzer (MA) atau penganalisis kadar air merupakan salah satu instrumen yang dapat diaplikasikan untuk menganalisis kadar air simplisia atau bentuk sediaan farmasi tertentu secara praktis dan efisien (Ginting, 2008). Halogen Moisture Analyzer Mettler Toledo HC103 tergolong salah satu jenis MA yang praktis digunakan untuk analisis kadar air suatu sampel (Mettler Toledo, 2015). Berikut ini merupakan spesifikasi dari MA tersebut.

**Tabel 2.1** Spesifikasi Moisture Analyzer Mettler Toledo HC103 (Mettler Toledo, 2015)

Karakteristik	Keterangan
Kapasitas Sampel	101 gram
<i>Readability</i>	1 mg, 0,01% MC ( <i>Moisture Content</i> )
Suhu	40 – 230 °C
<i>Heating</i>	Halogen
<i>Repeatability</i>	0.10% ; 2 gram sampel
	0.015% ; 10 gram sampel

Zat yang diukur kadar airnya pada penelitian ini adalah simplisia serbuk kering sampel daun benalu mangga. Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional menyatakan bahwa kadar air yang diperbolehkan pada simplisia adalah sebesar  $\geq 10\%$ . Kadar air yang besar (dalam hal ini lebih dari 10%) akan mempercepat pertumbuhan mikroorganisme dalam

simplisia (Jessica dkk., 2016), akibatnya simplisia dapat mengalami pembusukan serta mempengaruhi cita rasa, tekstur, dan masa simpan bahan (Chandra, 2015).

## **2.10 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari yang sesuai. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 1979). Menurut Voigt (1994), pada dasarnya terdapat dua prosedur untuk membuat sediaan obat tumbuhan, salah satunya dengan cara ekstraksi. Cara ekstraksi yaitu bahan segar yang telah dikeringkan dan dihaluskan, diproses dengan suatu cairan pengekstraksi. Jenis ekstraksi yang digunakan tergantung dari kelarutan bahan yang terkandung dalam tanaman serta stabilitasnya. Metode dasar dari ekstraksi obat adalah maserasi dan perkolasi.

### **2.10.1 Maserasi**

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya (Adrian, 2000).

Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin (Adrian, 2000).

### 2.10.2 Prinsip Kerja Metode Maserasi

Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, pelarut akan masuk kedalam sel tanaman melewati di dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel (Ansel, 1989).

Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15 – 20 °C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989). Pada umumnya, maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat kehalusan yang cocok, dimasukan kedalam bejana kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari dikerai, ampas diperas. Pada ampas ditambah cairan penyari secukupnya, diaduk dan dikerai sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup dan dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari kemudian endapan dipisahkan.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Adrian, 2000). Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang

sempurna (Adrian, 2000). Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya (Adrian, 2000):

1. Digesti

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40 – 50 °C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Dengan pemanasan akan diperoleh keuntungan antara lain kekentalan pelarut berkurang yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas, daya melarutkan cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan. Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.

2. Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

3. Remaserasi

Cairan penyari dibagi menjadi dua. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah dienaptuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

4. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali

secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya. Keuntungan cara ini yaitu:

- a. Aliran cairan penyari mengurangi lapisan batas.
  - b. Cairan penyari akan didistribusikan secara seragam, sehingga akan memperkecil kepekatan setempat.
  - c. Waktu yang diperlukan lebih pendek.
5. Maserasi melingkar bertingkat

Pada maserasi melingkar penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi. Masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat.

### 2.11 UPLC (*Ultra High Performance Chromatography*)

Banyak kebutuhan yang meningkat akan metode pemisahan cepat dan ultra cepat dengan efisiensi dan resolusi yang baik. Kromatografi cair performa ultra (UPLC) telah menjadi teknik yang banyak digunakan dengan mengambil keuntungan sepenuhnya dari prinsip kromatografi untuk melakukan pemisahan, menggunakan kolom pendek yang dikemas dengan partikel yang lebih kecil (sub-2  $\mu\text{m}$ ). Hal ini menyebabkan waktu analisis lebih pendek, meningkatkan efisiensi puncak (*peak width*), resolusi yang lebih baik dan penurunan penggunaan pelarut dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi konvensional (KCKT) (de Villiers dkk., 2006; Guillaume dkk., 2007).

*Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time of Flight-Mass Spectrometry* (UPLC-QToF-MS/MS) atau dikenal dengan nama UPLC-MS

merupakan instrumen analisis yang terdiri dari dua instrumen, yaitu UPLC yang ditandemkan dengan QToF-MS/MS. Instrumen ini digunakan pada penelitian ini karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu selektif dan sensitif dengan performa resolusi yang tinggi dan cepat sehingga waktu analisis lebih cepat (Chawla & Ranjan, 2016). UPLC merupakan salah satu teknik perkembangan kromatografi cair yang digunakan untuk segregasi komponen yang berbeda pada suatu campuran dengan tingkat molekuler mencapai dua mikron partikel analit. Metode analisis menggunakan instrumen UPLC dapat mereduksi konsumsi fase gerak sampai dengan 80% dalam waktu yang relatif lebih singkat sekitar 1.5 menit daripada menggunakan instrumen HPLC (Chawla & Ranjan, 2016). Prinsip kerja UPLC didasarkan pada teori van Deemter yang menjelaskan korelasi antara laju alir dan tinggi plat. Persamaan van Deemter menunjukkan bahwa partikel yang lebih kecil menghasilkan jarak alir yang lebih besar dibandingkan dengan partikel yang besar dengan persamaan sebagai berikut (Chawla & Ranjan, 2016).

$$H = A + \frac{B}{v} + Cv$$

- H = Ekuivalensi tinggi dari *theoretical plate* (HETP)
- A = Konstanta faktor difusi pusaran yang merupakan aliran yang tidak diinginkan di dalam kolom
- B = Nilai terdensi dari difusi partikel, di mana pada laju alir yang tinggi efeknya kecil sehingga dibagi dengan nilai v
- C = Suhu resistensi kinetik untuk keseimbangan selama proses pemisahan
- v = Laju alir dari gas pembawa

**Tabel 2.2** Perbandingan *Intrument* HPLC dengan UPLC

<b>Karakteristik</b>	<b>HPLC</b>	<b>UPLC</b>
Ukuran partikel	3 – 5 $\mu\text{m}$	Kurang dari 2 $\mu\text{m}$
<i>Maximum backpressure</i>	300 – 400 bars	1000 bars
Kolom analitik	C18	UPLC BEH C18
Ukuran kolom	150 $\times$ 3.2 mm	50 $\times$ 2.1 mm
Volume injeksi	5 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$
Suhu kolom	30°C	65°C
Total <i>run time</i>	10 menit	1.5 menit
USP <i>resolution</i>	3.2	3.4
<i>Plate count</i>	2000	7500
Laju Alir	3.0 ml/menit	0.6 ml/menit

Instrumen UPLC terdiri dari tiga bagian, yaitu tempat injeksi sampel, kolom UPLC, dan detektor. Sistem penghantaran pelarut memiliki performa pompa tekanan tinggi yang reproduibel dengan laju pelarut yang kosnstan. Sistem UPLC secara umum dioperasikan dengan tekanan 8000 – 15000 psi. Sistem elusi yang digunakan dapat secara isokratik, linier, dan non linier elusi gradien. UPLC memiliki dua modul penghantaran pelarut yang beroperasi secara paralel dengan tekanan tinggi (Chawla & Ranjan, 2016). Pada penelitian ini digunakan eluen berupa H<sub>2</sub>O + 0.1% asam formiat dan asetronitril + 0.1% asam format.

Detektor yang digunakan pada instrumen ini adalah detektor *Mass Spectrometry* (MS). Spektroskopi massa adalah suatu metode analisis instrumental yang dipakai untuk identifikasi dan penentuan stuktur dari komponen

sampel dengan cara menunjukkan massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya (Mulja & Suharman, 1995). Spektroskopi massa bekerja dengan prinsip pengionan molekul yang disusul dengan penyortiran dan pengidentifikasian ion berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan ( $m/z$ ). Terdapat dua kunci utama pada proses tersebut, yaitu sumber ison dan penganalisa massa. Sumber ion spektroskopi massa yang digunakan adalah *Electrosopy Ionization* (ESI) yang menghasilkan ion analit pada larutan sebelum mencapai spektroskopi massa. Sampel yang mengandung analit telah dilarutkan ke dalam pelarut akan disemprot dengan laju kecepatan tertentu ke dalam sebuah ruang pada tekanan atmosfer dan dengan adanya medan elektrostatik yang kuat dan pemanas gas. Sampel yang disemprot akan berubah menjadi butiran tetesan (*droplets*) yang memiliki energi permukaan tinggi. Muatan energi yang tinggi pada permukaan tetesan ditentukan oleh muatan yang diatur pada *electric field*, sehingga terdapat ESI (+)  $[M+H]^+$  dan ESI (-)  $[M-H]^+$  (Doig, 2000).

Analisisator MS yang digunakan pada penelitian ini adalah *quadrupole-time of flight* (Q-ToF). Q-ToF merupakan jenis analisisator perpaduan antara analisisator *quadrupole* (saringan kuadropol) dan analisisator *time of flight*. Analisisator berfungsi sebagai penganalisa massa sehingga perbandingan massa ion dengan muatan yang sama akan sampai ke detektor secara teratur (Mulja & Suharman, 1995). Pada umumnya, analisisator digunakan untuk memisahkan ion ion yang terbentuk dan pengionan oleh sumber ion (Doig, 2000).

## 2.12 Pemprofilan Metabolit (*Metabolite Profiling*)

Pemprofilan Metabolit (*Metabolite Profiling*) merupakan salah satu metode analisis dengan pendekatan metabolomik. Metabolomik adalah kajian tentang “omik”, yakni ilmu baru yang merujuk pada *holistic view* terhadap makromolekul biologis, seperti proteomik dan genomik, sedangkan metabolomik sendiri lebih merujuk pada studi profil metabolik pada sampel biologi (Claudino et al., 2007). Metabolom mendeskripsikan tentang jumlah total metabolit, yaitu molekul kecil dari seluruh metabolit non peptida dalam sel atau organisme yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Molekul kecil ini merupakan metabolit sekunder yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan berperan dalam kelangsungan hidup serta adaptasi terhadap perubahan lingkungan (Nurmaida, 2016). Eksistensi metabolit dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan tempat tumbuh, penambahan bahan pendukung pertumbuhan, waktu panen, dan penanganan pasca panen (Harwan dkk., 2015).

Pemprofilan metabolit merupakan analisis kelompok metabolit tertentu yang memberikan informasi fisiologi langsung dan data yang dapat diintegrasikan dalam model metabolisme, serta sidik jari metabolit memberikan informasi berdasarkan jejak metabolit yang dihasilkan oleh sel dan digunakan untuk pengelompokan sampel yang berbeda seperti menggunakan analisis gerombol (Nurmaida, 2016). Pemprofilan metabolit mencakup tiga bagian, yakni penyiapan sampel, akuisi data analisis dan pengolahan data. Teknik analisis yang dapat digunakan untuk analisis metabolit, yaitu NMR, LC-MS, GC-MS, UPLC-MS, dan CE-MS. Tandem beberapa instrumen ditujukan untuk memudahkan dalam

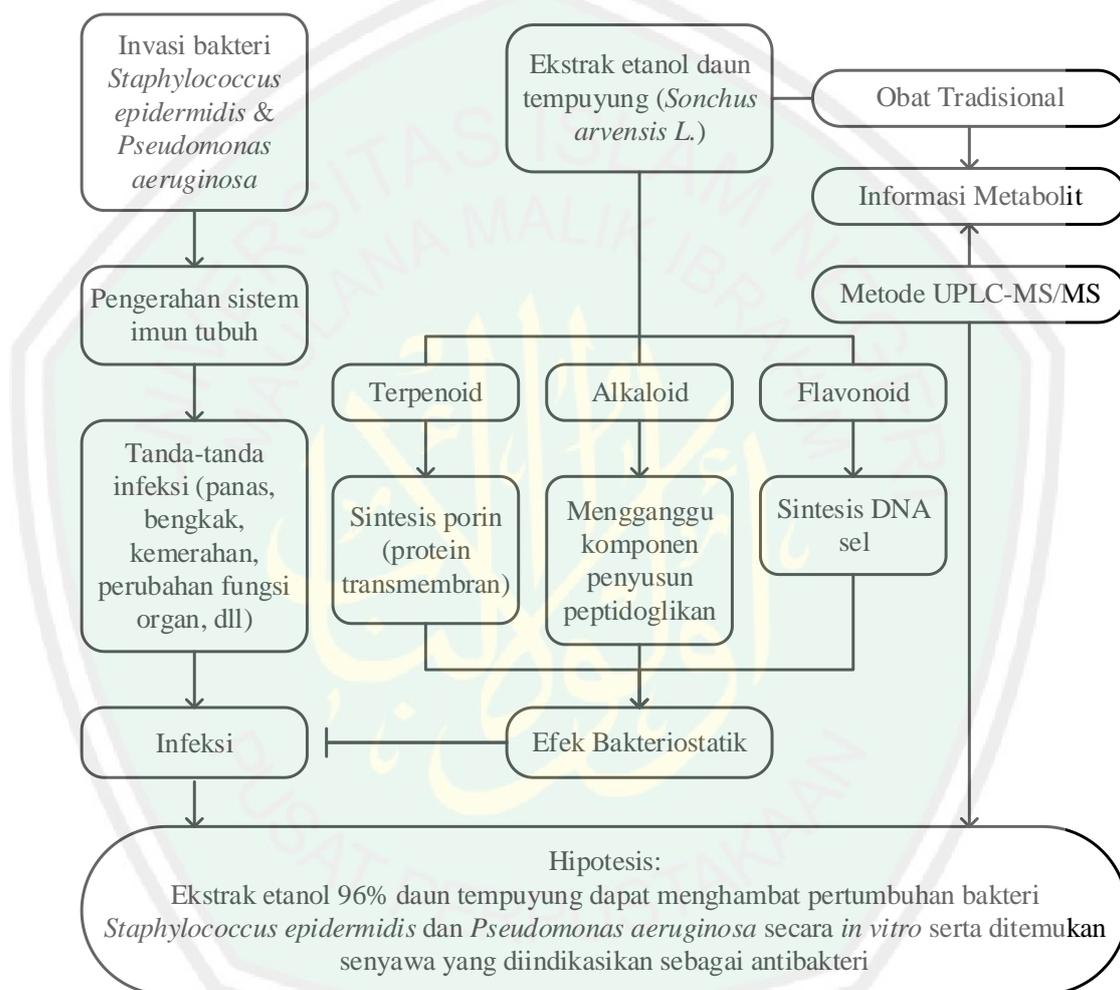
proses pengidentifikasian senyawa kimia dalam suatu tanaman, yang merupakan sistem kompleks dari puluhan hingga ratusan metabolit (Nurmaida, 2016). Sejumlah penelitian tentang *metabolite profiling* telah dilakukan, tetapi belum pernah ada yang melakukannya terhadap benalu mangga (*D. pentandra*). Yi et al. (2012) melakukan analisis *metabolite profiling*, khususnya pemprofilan senyawa alkaloid terhadap jaringan spesifik (epidermis, korteks, jaringan tiang, xylem, floem, dll) tanaman batang tumbuhan Sinomeni (*Sinomenii caulis*) yang diperoleh dari Kota Nanchang, Provinsi Jiangxi, China, yang mana digunakan laser *microdissection* untuk memperoleh jaringan yang akurat dan spesifik. Kemudian, sampel diolah dan dianalisis menggunakan UPLC–MS. Hasilnya berupa ditemukannya beberapa jenis senyawa alkaloid seperti, magnoflorine, laurifoline, N-norsinoacutine, menisperine, dll. Beberapa jenis alkaloid tersebut terdistribusi ke luar jaringan korteks, xylem, dan floem.

Kajian pemprofilan metabolit juga dilakukan oleh Anissa (2012) terhadap rimpang kunyit (*Curcuma longa*) yang diperoleh dari beberapa daerah di Jawa menggunakan GC–MS. Pada penelitian tersebut, dilakukan identifikasi sejumlah metabolit yang terkandung di dalam rimpang kunyit dari berbagai daerah. Selain itu, juga telah dilakukan *metabolite profiling* pada rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) menggunakan GC–MS (Septiani, 2012), rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa*) menggunakan GC–MS (Ichzan, 2014), tabat barito (*Ficus deltoidea*) menggunakan UPLC–QTOF–MS/MS (Nurmaida, 2016). Setelah didapat profil metabolit dari sampel tersebut, dilakukan analisis kemometrik untuk mendapatkan korelasi antara jenis metabolit dengan lokasi tumbuh.

### BAB III

#### KERANGKA KONSEPTUAL

##### 3.1 Uraian Kerangka Konseptual



Keterangan:

→ : menginduksi/memicu

⊥ : menghambat

Infeksi adalah proses invasif oleh mikroorganisme dan berproliferasi di dalam tubuh yang menyebabkan sakit (Potter & Perry, 2005). Infeksi adalah

adanya suatu mikroorganisme pada jaringan atau cairan tubuh yang disertai suatu gejala klinis baik lokal maupun sistemik (Utama, 2006). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Jawetz *et al.*, 2001). Tanda-tanda infeksi (peradangan) ini oleh Celsus, seorang sarjana Roma yang hidup pada abad pertama sesudah Masehi, sudah dikenal dan disebut tanda-tanda infeksi utama. Tanda-tanda infeksi ini masih digunakan hingga saat ini. Tanda-tanda infeksi mencakup rubor (kemerahan), calor (panas), dolor (rasa sakit), dan tumor (pembengkakan). Tanda pokok yang kelima ditambahkan pada abad terakhir yaitu *functio laesa* (perubahan fungsi) (Abrams, 1995; Rukmono, 1973; Mitchell & Cotran, 2003). Di Indonesia, tempuyung dijadikan obat anti memar dengan menempelkannya di bagian yang bengkak (Lumbanraja, 2009). Penggunaannya secara tradisional sebagai obat disentri dan diare diasumsikan pada daun tempuyung mengandung senyawa antibakteri (Sukadana *et al.*, 2011), kedua senyawa tersebut adalah golongan saponin (*triterpenoid*) dan flavonoid. Triterpenoid dan flavonoid dalam daun tempuyung sebagai antibakteri keduanya dapat merusak dinding sel bakteri. Rusaknya dinding sel bakteri oleh senyawa triterpenoid akan memudahkan gugus alkohol dari senyawa flavonoid untuk dapat menembus inti sel bakteri yang selanjutnya dapat merusak DNA bakteri (Muley *et al.*, 2009).

Daya antimikrobia diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan suatu zat antimikrobia (Jawetz, 2001). Adanya fenomena ketahanan tumbuhan secara alami terhadap mikrobia menyebabkan pengembangan sejumlah senyawa

yang berasal dari tanaman yang mempunyai kandungan antibakteri dan antifungi (Griffin, 1981).

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun tempuyung dengan metode sumuran dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* serta ditemukan senyawa yang diindikasikan sebagai antibakteri.



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *True Experimental Post test control design*, yang bertujuan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta mengidentifikasi profil metabolit ekstrak etanol bagian daun tanaman tempuyung menggunakan instrument UPLC–MS.

#### **4.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini berlangsung pada bulan Februari sampai dengan April 2018 di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan dan Ilmu Kedokteran Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang, dan Laboratorium Forensik Badan Reserse dan Kriminal Kepolisian Republik Indonesia.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Konsentrasi ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) adalah 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1%.

#### 4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah zona hambat yang terlihat dari ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini; Pembuatan biakan bakteri, waktu pengeringan bagian daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), pembuatan ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media TSA (*Trypticase Soy Agar*), autoklaf, inkubator, suspensi obat suhu oven, dan pelarut etanol 96%.

### 4.4 Definisi Operasional

1. Simplisia daun tempuyung (*Sonchus arvensis*.L) didapatkan dan dideterminasi di UPT Materia Medica Batu.
2. Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*. L): berupa cairan yang kental, diperoleh dari cara maserasi dengan pelarut etanol 96% yang kemudian dievaporasi.

3. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96% (polar).
4. Ekstrak disimpan di dalam oven dengan suhu 40°C sampai kering untuk menghilangkan kandungan pelarut dalam ekstrak.
5. Konsentrasi ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) adalah 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1%.
6. *Metabolite profiling* adalah suatu metode identifikasi dan penentuan kuantitatif dari sejumlah besar metabolit yang umumnya berhubungan dengan jalur metabolit spesifik. Pada penelitian ini *metabolite profiling* bagian daun *Sonchus arvensis* L. dianalisis menggunakan instrument *Ultra Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrophotometry* (UPLC–MS/MS).
7. Profil metabolit adalah hasil dari identifikasi *metabolite profiling* di mana pada penelitian ini profil metabolit hasil analisis UPLC–MS berupa kromatogram yang kemudian dapat diketahui spectra dengan bantuan aplikasi *Masslink*.
8. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran dengan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dan media TSA (*Trypticase Soy Agar*) agar diketahui diameter zona hambat dari bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 4.5 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Ekstraksi

*Rotary evaporator*, aluminium foil, cawan porselen, timbangan analitik, erlenmeyer 250 mL, dan *beaker glass* 250 mL.

2. Alat Uji Bakteri

Pipet tetes, *autoclave* (memert), mikro pipet, jarum ose, kertas saring, cawan petri, tabung reaksi, labu ukur, oven, dan incubator.

3. Alat Lainnya

Lampu spiritus, termometer, batang pengaduk, instrumen UPLC-MS, tabung *appendorf*, dan *microsyringe*.

4. Bahan Tumbuhan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tempuyung yang diperoleh dari UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur dan telah dilakukan Determinasi di UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur.

5. Bahan Ekstraksi

Etanol 96%.

6. Bahan Uji Antibakteri

Media agar, media *Mueller-Hinton Agar* (MHA), Media TSA (*Trypticase Soy Agar*), Clindamycin, DMSO (Dimethyl Sulfoxide), Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang.

## **4.6 Prosedur Pengumpulan Data**

### **4.6.1 Pengambilan Sampel Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L)**

Sampel daun tempuyung diambil di UPT Materia Medica Batu dan dideterminasi di UPT Materia Medica Batu untuk memastikan karena minimnya literatur. Buku yang dijadikan acuan sebagai referensi yakni: *Flora of Java*, karangan C.A Backer dan R.C. Bakhuizen van de Brinkjr (1963), untuk mendapatkan kepastian bahwa tanaman yang digunakan merupakan daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L).

### **4.6.2 Pembuatan Simplisia Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L)**

Daun tempuyung dirajang terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengeringan di dalam oven pada suhu 40°C sampai kering. Rajangan yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan *blender* sehingga didapatkan serbuk dengan derajat kehalusan yang sesuai.

### **4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Daun Tempuyung**

Serbuk daun tempuyung yang diperoleh dianalisis kadar airnya menggunakan Moisture Analyzer suhu 105°C (Jessica dkk., 2016). Sebanyak lima gram serbuk diletakkan pada *sample pan* dan diratakan kemudian ditutup *sample pan*-nya dengan tutup heating halogen, ditunggu selama  $\pm 15$  menit dan instrumen akan menampilkan persen dari kadar air sampel. Untuk setiap sampel serbuk daun tempuyung dilakukan analisis kadar air dengan pengulangan sebanyak 3 kali untuk meminimalkan galat atau kesalahan analisis.

#### 4.6.4 Ekstraksi Simplisia Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L*)

Ekstraksi dilakukan berdasarkan metode pada penelitian Mathabeet *al.*, (2006) Ekstraksi dilakukan dengan mengekstrak simplisia menggunakan pelarut polar yaitu etanol 96% dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:10, jadi diambil 50 gram simplisia dilarutkan dengan pelarut sebanyak 500 mL selama 24 jam. Hasil dari maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrate, selanjutnya pelarut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian diidentifikasi golongan senyawanya secara kualitatif menggunakan UPLC.

#### 4.6.5 Persiapan Sumuran

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

#### 4.6.6 Uji Mikrobiologi Aktivitas Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan menggunakan media

yang digunakan yaitu media agar MHA (*Mueller Hinton Agar*) untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 4.6.7 Cara Sterilisasi

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama  $\pm 2$  jam, jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran di atas api langsung dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Lay, 1994).

#### 4.6.8 Peremajaan Bakteri Uji (*Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*)

Mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri Gram negatif dan positif *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kemudian dilakukan subkultur baru, kultur bakteri disiapkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 20 mL agar dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

#### 4.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Untuk pengujian antibakteri adalah uji difusi agar. Media yang digunakan yaitu media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dan media *Trypticase Soy Agar* (TSA). Untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan media MHA dan untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan media TSA. Kemudian Bakteri masing-masing dioleskan dan diratakan pada tiga permukaan media *Muller Hinton* dan *Trypticase Soy* dengan *cotton buds*. Tiga sumuran (diameter 5 mm) dibuat di setiap piring dengan pipet tetes steril. Sepuluh mikroliter ekstrak etanol

(100 mg/mL) yang sudah dilarutkan dengan DMSO sebanyak 10 mg/mL. Piring agar (cakram) tersebut digunakan sebagai kontrol negatif. Satu piring agar (diameter 5 mm) diisi dengan (*Clindamycin*) 30 µg sebagai kontrol positif dan DMSO sebanyak 10 µL sebagai kontrol negatif.

Difusi ekstrak dan DMSO didiamkan pada suhu kamar selama 1 jam dalam *laminar air flow* (LAF). Piring agar (cakram) kemudian ditutup dengan kertas atau alumunium foil dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati daya hambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan zona bening di sekitar sumur. Ukuran zona inhibisi diukur dan aktivitas antibakteri dinyatakan dalam diameter rata-rata penghambatan zona dalam satuan milimeter (mm). Tidak adanya penghambatan zona diartikan sebagai tidak adanya aktivitas. Setiap ekstrak dilakukan tiga kali pengujian.

#### 4.6.10 Uji UPLC–MS/MS

Penentuan jenis metabolit dari ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) menggunakan instrument UPLC–MS/MS. Ditimbang dengan seksama 10.00 mg ekstrak etanol daun *Sonchus arvensis L.* kemudian dilarutkan dengan methanol kedalam labu ukur 10 mL dan dimasukkan *microsyringe* sebanyak 5 µl. Sistem pada UPLC–MS yang digunakan memiliki spesifikasi yang ditunjukkan dalam **Tabel 4.1**.

**Tabel 4.1** Klasifikasi Instrumen UPLC–MS/MS

<b>Sistem UPLC</b>	
Alat	UPLC with MS <i>detector</i>
Kolom	Aquity C18' 1.8 $\mu\text{m}$ ; 2.1 $\times$ 150 mm
Eluen	a. Air (HPLC <i>grade</i> ): Asam Formiat = 99.9: 0.1 (v/v)
	b. Asetronitрил: Asam Formiat = 99.9: 0.1 (v/v)
<i>Flow Rate</i>	0.2 mL/menit dengan <i>volume</i> injeksi 5 $\mu\text{L}$
Metode Eluasi	Sistem eluasi <i>gradient</i>
<b>Sistem MS</b>	
Sumber Ion	ESI (+)
Analisa tor	XEVO G2-S QtoF MS
<i>Source Temperature</i>	100°C
<i>Desolvation Temperature</i>	350°C
<i>Desolvation Gas Flow</i>	796°C

Kromatogram hasil pemisahan oleh UPLC–MS/MS diolah menggunakan aplikasi *Masslyne* versi 4.1 sehingga data berupa luas puncak dan spectra  $m/z$  dari tiap-tiap puncak yang terdeteksi, sehingga senyawa yang diprediksi dapat diinterpretasikan dengan bantuan website *Chemspider* ([www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)).

#### 4.7 Analisis Data

Data hasil analisis menggunakan UPLC–MS/MS kemudian dianalisis. Analisis menggunakan *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* digunakan untuk membandingkan tiga atau lebih rata-rata. ANOVA dapat digunakan untuk

memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variasi yang disebabkan oleh kesalahan random (Abdul Rohman, 2014). Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya penghambatan ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis L*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Sebelum melakukan *One Way ANOVA* dilakukan pemeriksaan syarat yaitu untuk  $\geq 2$  kelompok tidak berpasangan atau harus independen, di mana distribusi data harus normal dan *varians* data harus homogen). Kemudian bila terjadi perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (*Tukey test*) untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Kusriningrum, 2010). Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis data adalah *Statistical Program for Social Science (SPSS)*.

Siegel Sidney (1986) mengemukakan bahwa jika tidak tercapai setidaknya pengukuran ordinal, pengujian Mann-Whitney dapat dipakai untuk menguji apakah dua kelompok independen telah ditarik dari populasi yang sama. Uji Mann-Whitney dikembangkan oleh Henry Mann dan Donald Ransom. Uji Mann-Whitney merupakan uji nonparametrik yang digunakan untuk menguji apakah dua buah sampel independen berasal dari populasi yang sama. Populasi dari sampel pertama berbeda dengan populasi dari sampel kedua sehingga kedua sampel tersebut bersifat independen Whitney.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri berbagai variasi konsentrasi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). Ekstrak yang dipergunakan dalam uji adalah ekstrak etanol dengan berbagai konsentrasi ekstrak mulai dari 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1% terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus epidermidis*) dan bakteri gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*). Bahan yang digunakan yaitu tanaman tempuyung yang diambil bagian daunnya. Bahan ini didapatkan dari UPT Materia Medica Batu. Tanaman ini memiliki nama ilmiah *Sonchus arvensis* L. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Hadisoebroto (1993), yang meneliti bahwa kandungan dari daun tempuyung tersebut dapat meningkatkan kelarutan dan menunda pembentukan kristal asam urat. Penelitian lain dari Heyne (1987), menyebutkan bahwa kandungan dari daun tempuyung juga dapat mengobati bengkak. Oleh karena itu, dengan keberagaman tumbuhan yang sudah ada sekitar kita lebih memperkaya penjelasan atas firman Allah yang tertulis dalam Alqur'an bahwa semua tumbuhan yang diciptakan beragam yang diharapkan memiliki manfaat masing masing, sebagaimana dalam ayat sebelumnya.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوْسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ

“7. Dan Kami hamparkan bumi itu dan Kami letakkan padanya gunung-gunung yang kokoh dan Kami tumbuhkan padanya segala macam tanaman yang indah dipandang mata,”

Pada firman Allah yang lain dalam Alqur'an juga menjelaskan:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا  
مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

*“53. 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.”*

Berdasarkan Alqur'an sebagai landasan umat Islam dan juga pada penelitian sebelumnya, untuk mengetahui manfaat daun tempuyung dalam aktivitas antibakteri perlu dilakukan penelitian. Dari ayat ini diketahui untuk melakukan penelitian dan menjelaskan tentang apa yang belum diketahui seperti aktivitas antibakteri. Penelitian aktivitas antibakteri dari variasi konsentrasi ekstrak daun tempuyung dilakukan dalam beberapa tahap yakni determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, penghitungan kadar air serbuk, pembuatan ekstrak menggunakan teknik remaserasi, pengujian kandungan senyawa dari ekstrak daun tempuyung dengan menggunakan instrument UPLC–MS dan selanjutnya dilakukan uji mikrobiologi.

### **5.1 Determinasi Tumbuhan *Sonchus arvensis* L.**

Tujuan dari dilakukan determinasi tumbuhan agar tumbuhan yang diambil sesuai dengan tumbuhan yang akan digunakan untuk penelitian sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan. Tumbuhan yang dimaksud dalam penelitian ini adalah tumbuhan tempuyung. Determinasi tumbuhan tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica

Batu guna memastikan keaslian sampel daun *Sonchus arvensis* L. yang diperoleh. Hasil kunci determinasi yang diperoleh yakni: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a (121. *Famili Compositae*) 1b-12b-23b. (24. *sonchus*).

Sampel yang berupa daun tersebut memiliki karakteristik morfologi berupa daun tunggal, bagian bawah tumbuh berkumpul pada pangkal membentuk roset akar, helai daun berbentuk lanset atau lonjong, ujung runcing, pangkal bentuk jantung, tepi berbagi menyirip tidak teratur, panjang 6 – 48 cm, lebar 3 – 12 cm, warnanya hijau muda, daun yang keluar dari tangkai bunga bentuknya lebih kecil dengan pangkal memeluk batang, letak berjauhan, berseling. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat dalam daun supaya tidak ditumbuhi kapang maupun mikroba serta memutus reaksi enzimatik, sehingga simplisia dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama. Daun yang telah kering dapat ditandai dengan mudah remuknya daun ketika diremas dengan tangan serta perubahan tekstur yang lebih kaku. (Syamsuhidayat et.al, 1991).



**Gambar 5.1** Daun *Sonchus arvensis* L.

Daun yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel serta memperlebar luas permukaan agar mempermudah dalam penarikan senyawa ketika dilakukan proses ekstraksi. Serbuk daun *Sonchus arvensis* L. dimasukkan di dalam toples dan diberi silica gel untuk mengurangi kelembaban, kemudian disimpan di dalam lemari penyimpanan simplisia.



**Gambar 5.2** Serbuk Daun *Sonchus arvensis* L.

## **5.2 Penentuan Kadar Air Serbuk Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)**

Penentuan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui jumlah air yang masih terdapat di dalam sampel setelah melalui proses pengeringan. Sampel serbuk daun *Sonchus arvensis* L. diukur nilai kadar airnya dengan menggunakan *Moisture Content Analyzer* merk Mettler Toledo HC103. *Moisture Content Analyzer* merupakan instrumen yang bekerja menggunakan prinsip analisa *thermogravimetric*. Prinsip dari *thermogravimetric* ialah menentukan perbedaan berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan dengan menggunakan penyerapan gelombang inframerah yang berasal dari lampu halogen. Analisis dengan menggunakan instrumen ini memiliki keunggulan yakni cara pengoperasian yang

mudah, tidak memerlukan desikator, meminimalisir terjadinya *human error* saat menimbang sampel, serta dapat memberikan hasil yang akurat dengan waktu yang sangat singkat (Mettler Toledo, 2015). Penentuan kadar air ini dilakukan dengan cara menimbang simplisia sebanyak  $\pm 500$  mg pada sample pan lalu dipanaskan menggunakan halogen dengan suhu  $105^{\circ}$  C, lalu akan muncul nilai kadar air dalam satuan persentase (%) pada instrumen. Penentuan kadar air tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk mengurangi galat pengukuran. Hasil dari penentuan kadar air disajikan pada **Tabel 5.1** berikut ini.

**Tabel 5.1** Hasil Penentuan Kadar Air Simplisia Daun *Sonchus arvensis* L.

Sampel	Replikasi	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Simplisia daun <i>Sonchus arvensis</i> L.	1	6.65	6.51
	2	6.86	
	3	6.02	

Hasil penentuan kadar air simplisia daun *Sonchus arvensis* L. diperoleh nilai rata-rata sebesar 6.51%. Nilai tersebut masih berada dibawah angka 10%, sehingga simplisia tersebut masih berada dalam kondisi kadar air yang baik. Proses pengeringan merupakan hal yang paling mempengaruhi nilai kadar air dalam simplisia. Kadar air yang tinggi akan menimbulkan mikroba lebih cepat tumbuh serta terjadinya perubahan parameter organoleptis sehingga simplisia lebih cepat rusak. Menurut Depkes RI (1985), kadar air yang baik pada simplisia yakni kurang dari 10%. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya reaksi

enzimatik serta untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh mikroba, sehingga simplisia tersebut dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama.

### 5.3 Pembuatan Ekstrak Daun *Sonchus arvensis* L.

Proses ekstraksi daun *Sonchus arvensis* L. pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol yang dilakukan secara bertingkat yang mana jumlah simplisia sebanyak 400 gram dilarutkan kedalam 2000 mL, dilarutkan lagi dalam 1000 mL dan terakhir dalam 1000 mL pelarut etanol 70%. Etanol digunakan dalam ekstraksi dikarenakan etanol memiliki rantai karbon nonpolar dan gugus hidroksil sehingga dapat larut baik bersama senyawa nonpolar maupun senyawa polar (Fardhyanti dan Riski, 2015).

**Tabel 5.2** Hasil Ekstraksi Daun *Sonchus arvensis* L.

No	Jenis Pelarut	Berat Serbuk (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	Etanol 96%	400	18.7313	4.68

Berdasarkan data tabel tersebut, hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak adalah Etanol 70% memiliki rendemen sebesar 4.685%. Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen menggunakan satuan persen (%). Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menunjukkan senyawa dalam ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia (Vogel, 1996). Menurut Septiana dan Asnani (2012), ekstraksi dengan

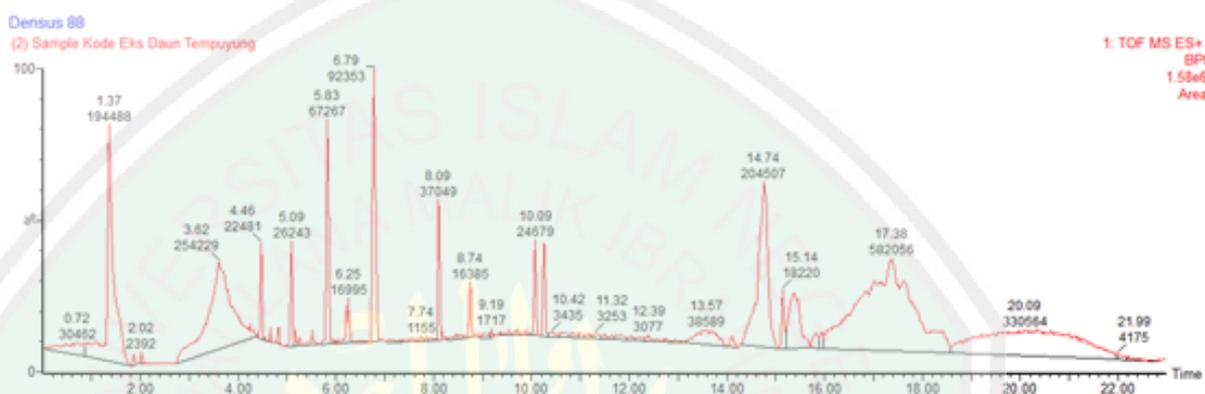
menggunakan pelarut etanol, n-heksana, etil asetat, dan metanol mampu memisahkan senyawa-senyawa penting dalam suatu tumbuhan.

#### 5.4 *Metabolite Profiling*

Penggunaan instrument UPLC–QToF–MS/MS sebagai langkah analisis kandungan senyawa dalam ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). UPLC–QToF–MS/MS ini dipilih karena memiliki berbagai macam keunggulan, antara lain resolusi yang tinggi sehingga meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa, partikel kolom yang kecil (sub-2 $\mu$ m) sehingga meningkatkan sensitivitas, *flow rate* yang lebih tinggi sehingga mengurangi waktu analisis yang dibutuhkan, tekanan yang lebih tinggi sehingga mampu memisahkan senyawa yang lebih kecil, mengurangi jumlah sampel yang dibutuhkan (Naushad dan Khan, 2014), pengukuran massa monoisotop yang lebih akurat, spektra resolusi tinggi untuk konfirmasi target dan senyawa yang tidak diketahui, serta memperoleh hasil yang lebih cepat tanpa menurunkan resolusi massa (Zhang et al., 2015). 48 preparasi sampel dengan metode Ekstraksi Fase Padat/*Solid Phase Extraction* (SPE) dilakukan terlebih dahulu sebelum sampel diinjeksikan ke dalam instrumen UPLC–QToF–MS/MS. Keuntungan preparasi sampel dengan SPE ini yakni memisahkan senyawa pengotor atau senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih murni sehingga menghasilkan sensitivitas spektra yang dihasilkan lebih tinggi (Simpson, 2000). Masing-masing ekstrak dilarutkan kedalam 10 mL pelarut dan dimasukkan ke dalam *vacum cartridge* yang telah dikondisikan sehingga senyawa organik akan tertahan pada penjerap dan fase air akan keluar

dari *cartridge*. Langkah selanjutnya masing-masing sampel yang tertinggal pada penjerap dielusi dengan metanol sebanyak 10 mL dan ditampung filtratnya. Masing-masing sampel tersebut direkonstitusi atau dielusi kembali menggunakan diklorometan sebanyak 10 mL dan ditampung filtratnya. Filtrat dari metanol dan diklorometan inilah yang akan diinjeksikan ke dalam instrumen UPLC-QToF-MS/MS. Masing-masing ekstrak yang telah dipreparasi dengan metanol dan diklorometan diinjeksikan ke dalam instrumen UPLC-QToF-MS/MS sebanyak 5  $\mu$ l menggunakan *micro syringe*. Hasil pertama yang diperoleh yakni berupa kromatogram. Kromatogram diperoleh setelah sampel memasuki kolom dan terjadi proses pemisahan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak hingga senyawa-senyawa tersebut melewati detektor. Fase diam/kolom yang digunakan pada instrumen ini berupa C18/ODS (octadecyl silane), sedangkan fase gerak/eluen yang digunakan pada instrumen ini berupa kombinasi eluen A (air: asam format 99.9: 0.1 [v/v]) dan eluen B (asetonitril: asam format 99.9:0.1 [v/v]) dengan metode elusi gradien, yang artinya perbandingan kedua eluen tersebut berubah-ubah tiap satuan 49 waktu yang ditentukan. C18 digunakan sebagai fase diam karena pada bagian permukaan ikatan silika lebih bebas mengadsorpsi senyawa dalam kadar air yang tinggi pada fase gerak, sedangkan kombinasi air, asetonitril, asam format dapat meningkatkan kelarutan senyawa dan membantu mengurangi resiko kerusakan pada kolom yang digunakan (Gritti dan Guiochon, 2005). Kromatografi pada penelitian ini menggunakan sistem “*reversed phase*” yakni fase diam yang bersifat non-polar dan fase gerak yang bersifat polar sehingga senyawa yang muncul pada kromatogram di awal waktu retensi adalah

senyawa yang bersifat polar dan semakin lama waktu retensi maka senyawa yang muncul akan semakin non-polar (Venn, 2008). Berikut ini merupakan hasil kromatogram dari ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan preparasi methanol.

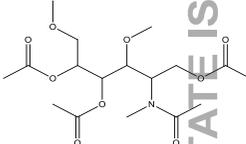
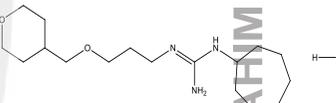
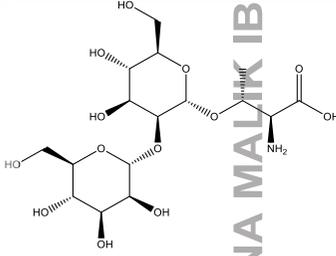


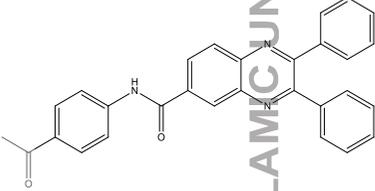
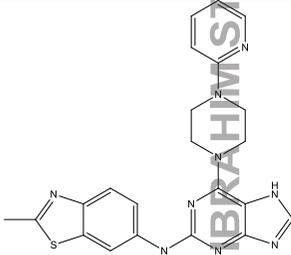
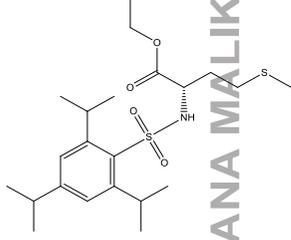
Gambar 5.3 Hasil Spektra UPLC–MS/MS

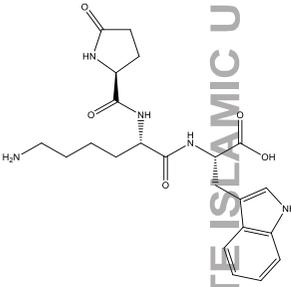
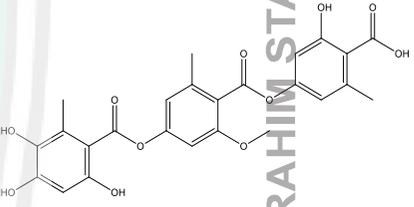
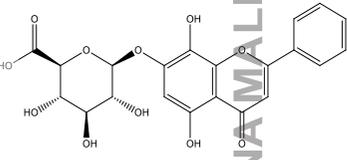
Sampel yang telah dipisahkan pada UPLC akan memasuki sistem MS dengan diionisasi terlebih dahulu menggunakan metode ESI positif. Pada ESI, molekul disemprotkan dari kapiler menuju ke chamber pengionisasi melewati arus listrik tinggi sehingga molekul sampel menjadi tetesan dalam bentuk proton yang semakin mengecil lalu akan menguap menjadi fase gas dan terpisah dengan molekul pelarut. Selanjutnya molekul-molekul yang telah terionisasi akan diseleksi dan dipisahkan menggunakan *mass analyzer* jenis *Quadrupole* dan *Time of Flight*. Prinsip dari *Quadrupole* ini dengan membuat medan gelombang elektrostatis menggunakan arus dc dan frekuensi radio pada area diantara keempat tiang yang disusun secara paralel. Ion yang memiliki  $m/z$  terlalu kecil atau terlalu besar akan mengalami ketidakstabilan gelombang dan tidak mampu mencapai detektor. Sedangkan prinsip dari *Time of Flight* ini berdasarkan perbedaan

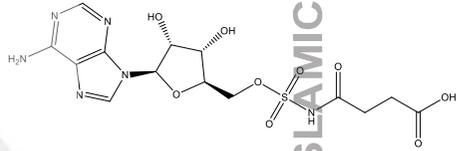
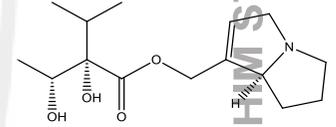
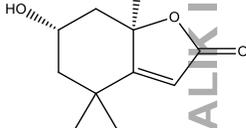
kecepatan ion 52 dalam mencapai detektor dengan energi kinetik yang sama. Ion yang lebih ringan akan lebih cepat mencapai detektor dan sebaliknya, ion yang lebih berat akan lebih lama untuk mencapai detektornya (Pavia, 2009). Hasil dari pemisahan sampel tersebut akan ditampilkan dalam bentuk spektra pada tiap peak yang terdeteksi. *Software Masslynx* versi 4.1 dapat digunakan untuk mengolah dan menginterpretasikan kromatogram dan spektra tersebut guna mengetahui massa senyawa dan memprediksi rumus molekul dari senyawa yang telah ditemukan. *Measured mass* merupakan massa yang ditemukan dari senyawa yang diidentifikasi, sedangkan *calculated mass* merupakan massa tepat dari suatu rumus formula. *Measured mass* dan *calculated mass* tidak harus sama persis, akan tetapi ada batas tolerir untuk rumus molekul tersebut dapat dikatakan sebagai rumus molekul dari peak tersebut, yakni apabila selisih antara keduanya sebesar  $\leq 0.00055$  Da (Brenton dan Godfrey, 2010). Pencarian nama senyawa berdasarkan rumus molekul yang telah diketahui tersebut dapat diakses melalui *website chemspider* dengan mengurangi 1 atom H pada rumus molekul terlebih dahulu. Hal tersebut dikarenakan molekul akan terprotonasi dengan 1 atom H dalam proses ionisasi ESI positif, sehingga jumlah massa yang diketahui juga dikurangi sebesar 1.00782 Da. Setelah diketahui nama senyawa dari rumus molekul yang ditemukan, maka dilakukan penggambaran struktur senyawa tersebut menggunakan *Software Chemdraw Ultra* versi 12.0. Penentuan persentase area juga dilakukan dengan cara membagi luas area peak tersebut dengan luas area dari keseluruhan peak lalu dikali dengan 100%. Hasil dari interpretasi data masing-masing ekstrak akan disajikan dalam **Tabel 5.3**.

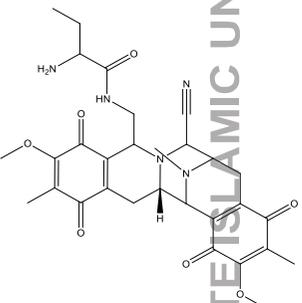
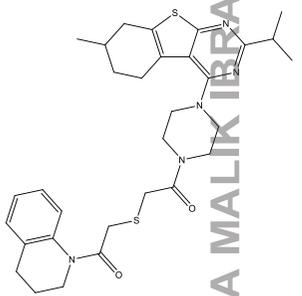
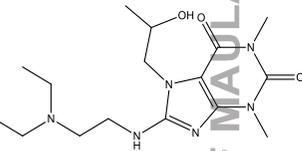
**Tabel 5.3** Preparasi Metanol

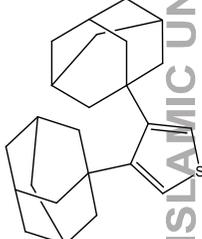
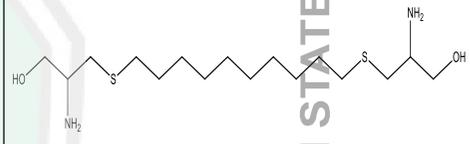
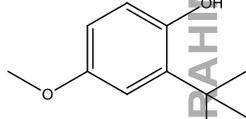
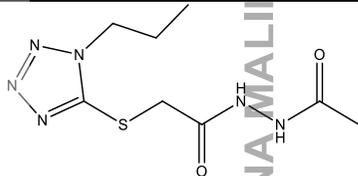
NO	RT	% Area	Measured Mass	Calculated Mass	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	2,025	0.1856	143,0955	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown
2	4,458	1.7442	391,1839	391.1843	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>9</sub>	1,4,5-Tri-O-acetyl-2-[acetyl (methyl)amino]-2-deoxy-3,6-di-O-methylhexitol	Glikosida	
3	4,458	1.7442	391,1839	391,1835	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Br	1-Cycloheptyl-2-[3-(tetrahydro-2H-pyran-4-lmethoxy)propyl] guanidine hydrobromide (1:1)	Amina Gol. Benzene	
4	4,658	0.1807	443,1635	443.1639	C <sub>16</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>13</sub>	(2S,3R)-2-Amino-3- {[(2S,3S,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3- {[(2R,3S,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) tetrahydro-2H-pyran-2-yl]oxy} tetrahydro-2H-pyran-2-yl]oxy}butanoic acid	Glikosida	

5	4,658	0.1807	443,1635	443.1634	C <sub>29</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	N-(4-Acetylphenyl)- 2,3-diphenyl-6- quinoxalinecarboxamide	Alkaloid Gol. Pirazoline	 <p>Antiinflamasi, Antimikroba, Antibakteri, Antidiabetes, dan Antipiretik (Mangeron,2006)</p>
6	4,658	0.1807	443,1635	443.1634	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> N <sub>9</sub> S	2-methyl-N-[6-(4-pyridin- 2-yl)piperazin-1-yl]-7H-purin- 2-yl]-1,3-benzothiazol-6-amine	Asam Amino Gol. Adenine	
7	5.091	2.0361	443.2168	443.2164	C <sub>22</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>4</sub> S <sub>2</sub>	Ethyl N-[(2,4,6- triisopropylphenyl) sulfonyl]methioninate	Asam Amino Gol. Methionine	 <p>Antineoplastic</p>

8	5.091	2.0361	443.2168	443.2169	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	<p><b>“Pyroglutamylslytryptophan”</b></p> <p>(2S)-2-[[[(2S)-6-amino-2-[[[(2S)-5-oxopyrrolidine-2-carbonyl]amino]hexanoyl]amino]-3-(1H-indol-3-yl)propanoic acid</p>	Protein	
9	5.175	0.2051	438.1159	498.1162	C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	<p>2-Hydroxy-4-((2-methoxy-6-methyl-4-[(3,4,6-trihydroxy-2-methylbenzoyl)oxy]benzoyl)oxy)-6-methylbenzoic acid</p>	Polifenol Gol. Lignan	
10	5.249	0.1295	446.0851	446.0849	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	<p><b>“Baicalin”</b></p> <p>(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(((5,8-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-carboxylic acid</p>	Flavonoid	

11	5.249	0.1295	446.0851	446.0856	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>9</sub> S	methyl 1-[2-oxo-2-[2-[(2 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-7-oxo-6-sulfooxy-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octane-2-carbonyl]hydrazinyl]ethyl]imidazole-2-carboxylate	Alkaloid Gol. Imidazole	
12	6.249	1.3186	283.1782	283.1784	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	<i>“Supinine/Spinin”</i> 7 <i>aS</i> )-2,3,5,7 <i>a</i> -Tetrahydro-1 <i>H</i> -pyrrolizin-7-ylmethyl (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2,3-dihydroxy-2-isopropylbutanoate	Alkaloid	
13	6.787	7.1653	196.1101	196.1100	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	<i>“Loliolide”</i> (6 <i>S</i> ,7 <i>aR</i> )-6-Hydroxy-4,4,7 <i>a</i> -trimethyl-5,6,7,7 <i>a</i> -tetrahydro-1-benzofuran-2(4 <i>H</i> )-one	Monoterpenoid	 Antioksidan (Yang, 2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)

14	8.094	2.8745	577.2540	577.2537	C <sub>30</sub> H <sub>35</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	<p><b>“Saframycin - Isuquinoline”</b></p> <p>2-amino-n-[[[(14as)-7-cyano-2,11-dimethoxy-3,12,16-trimethyl-1,4,10,13-tetraoxo-1,5,6,7,9,10,13,14,14a,15-decahydro-4h-6,15-epiminoisoquino[3,2-b][3]benzazocin-9-yl)methyl]butanamide</p>	Alkaloid	 <p>Antibiotic, Antitumor (Arai T, Yazawa K, Takahashi K, Maeda A, Mikami Y.1985)</p>
15	8.094	2.8745	577.2540	577.2545	C <sub>31</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	<p>1-(3,4-Dihydro-1(2H)-quinoliny)-2-({2-[4-(2-isopropyl-7-methyl-5,6,7,8-etrahydro[1]benzothieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1-piperazinyl]-2-oxoethyl}sulfanyl)ethanone</p>	Asam Amino Gol. Pirimidin	
16	9.189	0.1332	352.2221	352.2223	C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	<p>8-{{2-(Diethylamino)ethyl}amino}-7-(2-hydroxypropyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione</p>	Asam Amino Gol. Purin	

17	9.189	0.1332	352.2221	352.2225	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> S	<p><i>“Adamantane”</i></p> <p>3,4-bis(1-adamantyl)thiophene</p>	
18	9.189	0.1332	352.2221	352.2218	C <sub>16</sub> H <sub>36</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	<p>3,3'-(1,10-Decanediyldisulfanediyl)bis(2-amino-1-propanol)</p>	<p>Amida</p> 
19	10.085	1.9147	180.1156	180.1151	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	<p><i>“Butilat hidroksi anisol”</i></p> <p>4-Methoxy-2-(2-methyl-2-propanyl)phenol</p>	<p>Fenol</p>  <p>Antioksidan</p>
20	10.243	2.1120	258.0900	258.0899	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	<p>N'-Acetyl-2-[(1-propyl-1H-tetrazol-5-yl)sulfanyl] acetohydrazide</p>	<p>Alkaloid</p> 

Berdasarkan profil metabolit pada **Tabel 5.3** tersebut, diketahui bahwa pada ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan preparasi menggunakan methanol terdapat 20 senyawa beserta 13 senyawa yang belum diketahui namanya. Senyawa mayor pada ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan preparasi menggunakan metanol adalah senyawa *(6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran 2(4H)-one* dengan persentase area sebanyak 7.1653%, sedangkan 2 senyawa mayor lainnya yakni *2-amino-n-[(14as)-7-cyano-2,11-dimethoxy-3,12,16-trimethyl-1,4,10,13-tetraoxo-1,5,6,7,9,10,13,14,14a,15-decahydro-4h-6,15 epiminoisoquino[3,2-b][3]benzazocin-9-yl)methyl}butanamide* dengan persentase area sebanyak 2.8745% dan *1-(3,4-Dihydro-1(2H)-quinolinyl)-2-([2-[4-(2-isopropyl-7-methyl-5,6,7,8-tetrahydro[1]benzothieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1-piperazinyl]-2-oxoethyl)sulfanyl)ethanone* dengan persentase area sebanyak 2.8745%. Berikut adalah penjelasan dari senyawa yang telah diidentifikasi dari senyawa mayor maupun minor dari ekstrak tersebut.

*7aS)-2,3,5,7a-Tetrahydro-1H-pyrrolizin-7-ylmethyl (2S,3R)-2,3-dihydroxy-2-isopropylbutanoate* atau bisa disebut dengan senyawa *Supinine/Spinine*. Supinine diduga masuk senyawa golongan alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi, meskipun demikian sekarang telah tercatat ditemukan pula di jamur (ergot alkaloid), di hewan *musk deer* (muscopyridin), di bakteri *P. aeruginosa* dan beberapa produk sintesis. Pengertian lain Alkaloid

adalah senyawa organik yang terdapat di alam bersifat basa atau alkali dan sifat basa ini disebabkan karena adanya atom N (Nitrogen) dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis, dan dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada manusia dan hewan. Sebagai contoh, morfina sebagai pereda rasa sakit, reserfina sebagai obat penenang, atrofina berfungsi sebagai antispasmodia, kokain sebagai anestetik lokal, dan strisina sebagai stimulan syaraf (Ikan, 1969). Selain itu ada beberapa pengecualian, dimana termasuk golongan alkaloid tapi atom N (Nitrogen)nya terdapat di dalam rantai lurus atau alifatik.

*(6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one* bisa disebut dengan senyawa *Loliolide*. Loliolide termasuk senyawa Monoterpenoid. Dalam tumbuhan biasanya terdapat senyawa hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi yang merupakan senyawa terpenoid. Kata terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan, dan istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang sama. Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan hanya terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai eter minyak bumi, eter, atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina memakai pelarut di atas tetapi sering kali terdapat kesukaran sewaktu mendeteksi dalam skala mikro karena hampir semua senyawa terpenoid tidak berwarna dan tidak ada pereaksi kromogenik yang peka (Harborne, 1987).

(2S,3S,4S,5R,6S)-6-((5,8-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-carboxylic acid atau bisa disebut senyawa *baicalin* diduga sebagai senyawa flavonoid yang dapat menghambat bakteri. Karena prinsip kerja dari senyawa flavonoid adalah denaturasi protein sehingga mengganggu fungsi sel pada mikroorganisme.

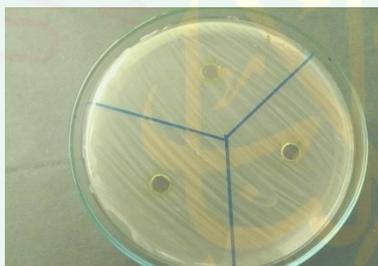
Senyawa *trans-4-[(N2-[(2S)-2-(2,4-Dioxo-1,4-dihydro-3(2H)-quinazolinyl)-3-phenylpropanoyl]-L-glutaminyl]amino)methyl]cyclohexanecarboxylic acid* atau biasa disebut dengan *Saframycin* diduga sebagai senyawa alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan prinsip kerja dari senyawa alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun sel peptidoglikan bakteri sehingga dinding sel yang terbentuk tidak utuh, akibatnya pembentukan sel tidak sempurna.

### 5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Uji mikrobiologi yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus oleraceus* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran yang direplikasikan sebanyak 3 kali dan proses ini berlangsung selama 1 × 24 jam. Terdapat dua kontrol yang digunakan untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri berbagai ekstrak etanol daun tempuyung. *Clyindamycin* digunakan sebagai kontrol positif merupakan antibiotik bakteriostatik yang aktif terhadap organisme-

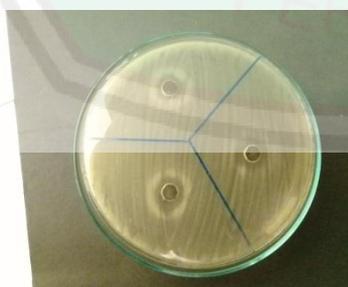
organisme aerobik dan anaerobik. Pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol negatif, berfungsi sebagai pelarut yang cepat meresap di dalam epitel ekstrak tanpa merusak sel-sel tersebut dan sering digunakan dalam bidang kesehatan. Hasil uji mikrobiologi didapatkan dengan mengukur rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung dengan 3 kali replikasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong pada zona bening sebagai tanda zona hambat bakteri. Hasil uji mikrobiologi untuk mengetahui aktivitas antibakteri sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.025% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



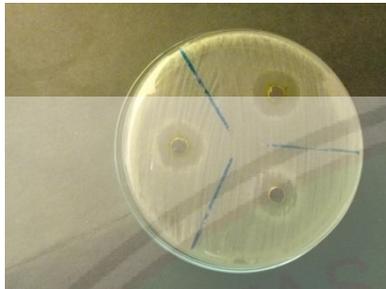
Konsentrasi 0.025%	Zona Hambat
Replikasi 1	0.30 mm
Replikasi 2	0.75 mm
Replikasi 3	0.93 mm
Rata-rata	0.66 mm

2. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.050% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Konsentrasi 0.05%	Zona Hambat
Replikasi 1	2.68 mm
Replikasi 2	0.48 mm
Replikasi 3	2.85 mm
Rata-rata	2.00 mm

3. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.075% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Konsentrasi 0.075%	Zona Hambat
Replikasi 1	9.45 mm
Replikasi 2	11.15 mm
Replikasi 3	7.90 mm
Rata-rata	9.50 mm

4. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.1% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



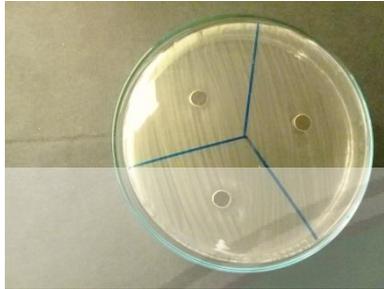
Konsentrasi 0.1%	Zona Hambat
Replikasi 1	7.63 mm
Replikasi 2	7.90 mm
Replikasi 3	6.85 mm
Rata-Rata	7.46 mm

5. Kontrol positif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Kontrol Positif	Zona Hambat
Replikasi 1	27.45 mm
Replikasi 2	29.25 mm
Replikasi 3	28.50 mm
Rata-Rata	28.40 mm

6. Kontrol negatif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Kontrol Negatif	Zona Hambat
Replikasi 1	0 mm
Replikasi 2	0 mm
Replikasi 3	0 mm
Rata-Rata	0 mm

7. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.025% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Konsentrasi 0.025%	Zona Hambat
Replikasi 1	0 mm
Replikasi 2	1.2 mm
Replikasi 3	0 mm
Rata-Rata	0.4 mm

8. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.050% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Konsentrasi 0.050%	Zona Hambat
Replikasi 1	1.15 mm
Replikasi 2	0.95 mm
Replikasi 3	0 mm
Rata-Rata	0.7 mm

9. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.075% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Konsentrasi 0.075%	Zona Hambat
Replikasi 1	3.63 mm
Replikasi 2	2.30 mm
Replikasi 3	1.08 mm
Rata-Rata	2.34 mm

10. Ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0.1% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



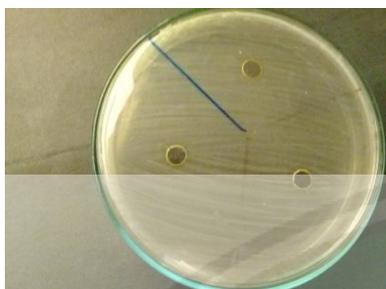
Konsentrasi 0.1%	Zona Hambat
Replikasi 1	5.23 mm
Replikasi 2	4.10 mm
Replikasi 3	4.23 mm
Rata-Rata	4.52 mm

11. Kontrol positif terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Kontrol Positif	Zona Hambat
Replikasi 1	28.40 mm
Replikasi 2	27.80 mm
Replikasi 3	28.53 mm
Rata-Rata	28.24 mm

12. Kontrol negatif terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Kontrol Negatif	Zona Hambat
Replikasi 1	0 mm
Replikasi 2	0 mm
Replikasi 3	0 mm
Rata-Rata	0 mm

Berikut kategori penghambatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat disajikan dalam **Tabel 5.4** (Davis dan Stout, 1971).

**Tabel 5.4** Kategori Penghambatan Antibakteri berdasarkan Zona Bening

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20	Sangat Kuat
10 – 20	Kuat
5 – 10	Sedang
<5	Lemah

Menurut Davis dan Stout (1971) tentang kategori penghambatan antibakteri berdasarkan zona bening yaitu zona bening dengan diameter <5 mm dikategorikan lemah, 5 – 10 mm dikategorikan sedang, 10 – 20 mm dikategorikan kuat, sedangkan zona bening dengan diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat.

Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.025% mendapatkan hasil rerata 0 mm atau tidak memberikan aktivitas penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, kemudian pada perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.05% mendapatkan hasil rerata 0.7 mm yang

menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.075% mendapatkan hasil 2.34 mm yang menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.1% mendapatkan hasil rerata 4.52 mm yang menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol positif mendapatkan hasil rerata 28.24 mm yang menunjukkan respon kuat terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol negatif DMSO tidak menunjukkan respon terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.025% mendapatkan hasil rerata 0 mm atau tidak memberikan aktivitas penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, kemudian pada perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.05% mendapatkan hasil rerata 0 mm yang tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.075% mendapatkan hasil 9.50 mm yang menunjukkan respon sedang terhadap penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.1% mendapatkan hasil rerata 7.46 mm yang menunjukkan respon sedang terhadap

penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol positif mendapatkan hasil rerata 28.40 mm yang menunjukkan respon kuat terhadap penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Perlakuan dengan menggunakan kontrol negatif DMSO mendapatkan hasil dengan rerata 2.43 yang menunjukkan respon lemah terhadap penghambatan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Berdasarkan hasil rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri dari ekstrak etanol 96% dengan berbagai konsentrasi daun tempuyung yang dikaitkan dengan kategori penghambatan antibakteri berdasarkan zona bening maka uji mikrobiologi berbagai konsentrasi ekstrak etanol 96% daun tempuyung terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* seperti dalam **Tabel 5.5**.

**Tabel 5.5** Hasil Perlakuan Aktivitas Antibakteri Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Konsentrasi	Bakteri	Rerata	Respon
Ekstrak Etanol 96% Daun Tempuyung	0.025 %	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.4 mm	Lemah
	0.050 %	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.7 mm	Lemah
	0.075 %	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.34 mm	Lemah
	0.1 %	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4.52 mm	Lemah
	K (+)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	28.24 mm	Kuat
	K (-)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0 mm	0 mm

**Tabel 5.5** Lanjutan

Perlakuan	Konsentrasi	Bakteri	Rerata	Respon
Ekstrak Etanol 96% Daun Tempuyung	0.025 %	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.66 mm	Lemah
	0.050 %	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.00 mm	Lemah
	0.075 %	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.50 mm	Sedang
	0.1 %	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.46 mm	Sedang
	K (+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28.40 mm	Kuat
	K (-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm	0 mm

Berdasarkan hasil **Tabel 5.4** pada hasil uji aktivitas antibakteri, diketahui ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mempunyai aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu pada konsentrasi; 0.050%, 0.075%, dan 0.1% dengan rentang zona hambat lemah. Pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) mempunyai kadar hambat minimum pada konsentrasi; 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1% dengan rentang zona hambat lemah – sedang. Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) disebabkan karena adanya kepekaan yang berbeda antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif.

Pelezar dan Chan (1986), menyatakan bahwa sel bakteri Gram negatif mempunyai struktur yang berlapis-lapis serta kandungan lemak yang relatif lebih tinggi (11 – 12%), sehingga lebih tahan terhadap perubahan lingkungan yang disebabkan oleh bahan kimia. Sedangkan jenis bakteri Gram positif secara umum

mempunyai dinding sel lebih sederhana yaitu 90% dimana dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan sedangkan lapisan lainnya adalah asam terikat (Fardiaz, 1989).

Proses ekstraksi senyawa antibakteri juga berpengaruh terhadap aktivitasnya, dikarenakan pelarut etanol bersifat polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Hal ini menyebabkan aktivitas antibakteri senyawa kurang maksimal bekerja. Oleh karena itu perlu dilakukan pemisahan senyawa lanjut ekstrak kasar tersebut, sehingga dihasilkan senyawa antibakteri murni yang mempunyai aktivitas penghambatan lebih besar. Kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri. (Fardiaz, 1998) menyatakan bahwa bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim, dan antibiotik. Beberapa golongan senyawa diduga dapat memberikan efek antibakteri. Hasil yang didapat dari senyawa yang diduga memiliki efek antibakteri tersedia dalam ekstrak uji adalah golongan Flavonoid, Alkaloid, dan Terpenoid.

Flavonoid merupakan golongan senyawa polar yang dapat larut dalam pelarut polar etanol, DMSO, dan lain-lain. Flavonoid mengandung suatu senyawa fenol, asam karbolat yang merupakan alkohol bersifat asam sehingga aktivitas antibakteri dimiliki senyawa flavonoid terhadap *Propionobacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*, dan *Corynebacterium* (Purnomo, 2001). Flavonoid bekerja dengan menghambat perkembangan mikroorganisme, dengan mendenaturasikan molekul-molekul protein dan asam nukleat yang menyebabkan koagulasi dan

pembekuan protein yang akhirnya mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologi bakteri. Terganggunya fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengendalian susunan protein, dan fungsi pengangkutan aktif disebabkan ketidakstabilan dinding sel dan membran sitoplasma bakteri. Persenyawaan fenolan bersifat bakteriostatik atau bakterisid tergantung dari konsentrasinya (Pelczar dan Chan, 1988). Kandungan senyawa flavonoid menurut Cowan (1999) dapat memberikan aktivitas antibakteri dengan cara denaturasi protein sehingga mengganggu fungsi sel pada mikroorganisme. Sedangkan golongan senyawa alkaloid, senyawa alkaloid juga mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun sel peptidoglikan bakteri sehingga dinding sel yang terbentuk tidak utuh, akibatnya pembentukan sel tidak sempurna (Cowan, 1999).

Alkaloid dapat mempengaruhi penyusunan dinding sel, yaitu dengan mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh, tanpa dinding sel bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan akhirnya mengalami kematian (Wattimena et al., 1991).

Secara umum, mekanisme suatu agen antimikroba dapat diduga dengan mengetahui struktur dan komposisi mikroba. Kerusakan pada salah satu komponen mengawali terjadinya perubahan yang menuju pada kematian sel tersebut (Pelczar dan Chan, 1988). Hasil yang diperoleh zona hambat Ekstrak etanol 96 % daun Tempuyung terhadap bakteri gram negatif lebih besar dibandingkan terhadap bakteri gram positif. Perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif diyakini sebagai penyebab terjadinya perbedaan respon terhadap berbagai perlakuan dan bahan (Pelczar dan Chan

1988). Penelitian lain yang juga menunjukkan bahwa bakteri gram negatif lebih sensitif dibandingkan gram positif adalah Molan (1992) menjelaskan bahwa yang berperan dalam aktivitas antibakteri pada Ekstrak etanol 96 % daun Tempuyung adalah tekanan osmotik, keasaman, hidrogen peroksida dan faktor fitokimia. Keempat faktor tersebut dapat bekerja secara sendiri maupun bersama-sama, sehingga dapat menghambat atau mengurangi pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme. Pada penelitian Russell (1991) menjelaskan bahwa bakteri Gram negatif lebih sensitif dibandingkan Gram positif. Hal ini disebabkan oleh perbedaan ketahanan bakteri karena adanya perbedaan alamiah antara kedua golongan bakteri. Pada bakteri Gram positif senyawa kurang sensitif diduga karena tidak terdapatnya reseptor spesifik (molekul protein yang menerima sinyal kimia) untuk masuknya senyawa uji ke dalam sel bakteri Gram positif.

Pada bakteri Gram positif dengan dinding sel terdiri atas peptidoglikan yang sangat tebal dan kaku sebagai pertahanan sel. Dinding sel bakteri Gram positif diawali dengan proses perakitan dan pembentukan rantai peptida yang membentuk jembatan silang menghubungkan rantai glikan dari peptidoglikan lain membuat dinding sel terakit sempurna. Kondisi yang dimiliki *Staphylococcus epidermidis* menjelaskan bahwa dalam penghambatan dan pembunuhannya terjadi mekanisme awal perusakan dan penghancuran dinding selnya yang akan diikuti kerusakan komponen yang lain.

## 5.6 Analisis Statistika

Untuk mengetahui adanya perbedaan nilai aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak yang telah diuji maka perlu untuk dilakukan analisis data statistik. Data dari masing-masing ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA) Software SPSS 23* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai jenis ekstrak daun tempuyung. Jenis uji ANOVA yang digunakan pada penelitian ini adalah ANOVA Satu Jalur (*One Way ANOVA*). Analisis varians satu jalur merupakan teknik statistika parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata, di mana hanya terdapat satu variabel bebas atau independen yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat atau dependen. Analisis menggunakan ANOVA Satu Jalur, digunakan untuk membandingkan 3 atau lebih rata-rata. ANOVA dapat digunakan untuk memisahkan variasi apapun yang disebabkan oleh perubahan faktor yang dikendalikan dari variasi yang disebabkan oleh kesalahan random (Rohman, 2014). Adapun tahapan dari pengujian tersebut adalah Uji Normalitas, Uji Homogenitas, Uji *One Way ANOVA*, dan Uji Lanjutan menggunakan Uji Tukey. Uji Normalitas antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak daun tempuyung menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil Uji Normalitas tersebut dianggap normal apabila nilai *p-value* > 0.05. Berikut merupakan hasil Uji Normalitas aktivitas antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak daun tempuyung.

**Tabel 5.6** Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode Shapiro-Wilk terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sampel	<i>P-value</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.025%	0.000	Tidak Normal
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.050%	0.312	Normal
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.075%	0.952	Normal
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.1%	0.201	Normal
Kontrol Positif ( <i>Clindamycin</i> )	0.321	Normal
Kontrol Negatif (DMSO)	-	-

Berdasarkan **Tabel 5.6** Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode Shapiro-Wilk terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan ada ketidaknormalan data dengan  $p\text{-value} < 0.05$  pada ekstrak etanol 96% daun tempuyung dengan konsentrasi 0.025% sehingga dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis*.

**Tabel 5.7** Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Data Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sampel	<i>P-value</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.025%	0.016	Terdapat perbedaan antar perlakuan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.050%		

Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.075%		
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.1%		
Clindamycin		
DMSO		

Selanjutnya Uji *Post Hoc* yang dilakukan setelah Uji *Kruskal-Wallis* adalah dengan Uji *Mann-Whitney*, bisa dilihat pada **Tabel 5.8** di bawah ini.

**Tabel 5.8** Hasil Uji *Mann-Whitney* Data Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sampel	0.025%	0.050%	0.075%	0.1%	K (+)	K (-)
0.025%		0.817*	0.121*	0.046**	0.046**	0.000**
0.050%	0.817*		0.127*	0.050**	0.050**	0.000**
0.075%	0.121*	0.127*		0.050**	0.050**	0.000**
0.1%	0.046**	0.050**	0.050**		0.050**	0.000**
K (+)	0.046**	0.050**	0.050**	0.050**		0.000**
K (-)	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	

Keterangan:

\* : Berbeda Signifikan

\*\* : Tidak Berbeda Signifikan

K (+) : Kontrol Positif (*Clindamycin*)

K (-) : Kontrol Negatif (DMSO)

Berdasarkan hasil Uji *Mann-Whitney* yang dilakukan pada sampel aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 0.050% dan 0.075% dari kelompok ekstrak etanol 96% dengan variasi konsentrasi 0.025%, 0.05%, 0.075%, 0.1%, kontrol positif (*Clindamycin*) dan kontrol negatif (DMSO). Hasil Uji *Mann-Whitney* antara kelompok uji aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak dengan kontrol positif menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada variasi konsentrasi 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1% dengan *p-value* 0.000 ( $p\text{-value} < 0.05$ ). Pada hasil Uji *Mann-Whitney* antara kelompok uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan kontrol negatif menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara variasi kelompok ekstrak 0.025%, 0.05% dengan *p-value* 1.00 dan 0,771 ( $p\text{-value} > 0.05$ ).

Pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* juga dilakukan Uji Normalitas yang bisa dilihat pada **Tabel 5.9**.

**Tabel 5.9** Hasil Uji Normalitas Menggunakan Metode Shapiro-Wilk terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	<i>P-value</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.025%	0.537	Normal
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.050%	0.123	Normal
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.075%	0.949	Normal

Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.1%	0.478	Normal
Kontrol Positif ( <i>Clindamycin</i> )	0.817	Normal
Kontrol Negatif (DMSO)	-	-

Berdasarkan **Tabel 5.9** didapatkan  $p\text{-value} > 0.05$ , maka distribusi data dinyatakan normal. Setelah dinyatakan normal, maka dilanjutkan Uji Homogenitas Varian menggunakan *Levene's Test*. Hasil Uji Homogenitas Varian pada **Tabel 5.10**.

**Tabel 5.10** Hasil Uji Homogenitas Data Menggunakan Metode *Levene's Test* bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	<i>P-value</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.025%	0.082	Homogen
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.050%		
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.075%		
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.1%		
Clindamycin		
DMSO		

Berdasarkan **Tabel 5.10** diperoleh  $p\text{-value}$  kelima kelompok  $> 0.05$ , maka dapat diketahui bahwa varian data homogen. Setelah data dinyatakan normal dan

homogen, selanjutnya adalah analisis perbedaan dengan *One Way ANOVA*. Hasil uji perbedaan *One Way ANOVA* dapat dilihat pada **Tabel 5.11**.

**Tabel 5.11** Hasil Analisis Perbedaan dengan Metode ANOVA Bakteri

*Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	<i>P-value</i>	Keterangan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.025%	0.000	Beda signifikan
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.050%		
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.075%		
Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 96% konsentrasi 0.1%		
Clindamycin		
DMSO		

Berdasarkan hasil analisis, terdapat perbedaan signifikan yang ditunjukkan dengan  $p\text{-value} < 0.05$  yaitu 0.000 sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Apabila  $H_0$  ditolak, maka analisisnya belum selesai sehingga perlu analisis lanjutan. Kebermaknaan signifikan dilihat dari nilai  $p\text{-value}$  yang dihasilkan. Jika nilai  $p\text{-value} < 0.05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang membuktikan bahwa ada perbedaan signifikan aktivitas antibakteri dari berbagai jenis konsentrasi ekstrak daun tempuyung dan sebaliknya jika nilai  $p\text{-value} > 0.05$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak yang membuktikan bahwa tidak ada perbedaan signifikan aktivitas dari berbagai jenis ekstrak daun tempuyung (Rohman, 2014). Analisis lanjutan setelah

ANOVA sering disebut *Post Hoc* atau pasca ANOVA. Uji lanjutan yang dipilih pada analisis ini adalah Uji Tukey, karena uji ini untuk membandingkan *mean* tanpa perencanaan terlebih dahulu. Uji Tukey digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Kusriningrum, 2010).

**Tabel 5.12** Hasil Uji *Tukey* pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sampel	0.025%	0.050%	0,075%	0,1%	K (+)	K (-)
0.025%		0.555*	0.000**	0.000**	0.000**	0.955*
0.050%	0.555*		0.000**	0.000**	0.000**	0.188*
0.075%	0.000**	0.000**		0.175*	0.000**	0.000**
0.1%	0.000**	0.000**	0.175*		0.000**	0.000**
K (+)	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**		0.000**
K (-)	0.955*	0.188*	0.000**	0.000**	0.000**	

Keterangan:

\* : Berbeda Signifikan

\*\* : Tidak Berbeda Signifikan

K (+) : Kontrol Positif (*Clindamycin*)

K (-) : Kontrol Negatif (DMSO)

Hasil Uji *Tukey* yang dilakukan pada sampel aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok, yaitu kelompok ekstrak etanol 96% dengan variasi konsentrasi 0.025%, 0.05%, 0.075%, 0.1%, kontrol positif (*Clindamycin*), dan kontrol negatif (DMSO). Hasil Uji *Tukey* antara kelompok uji aktivitas antibakteri masing-

masing ekstrak dengan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang signifikan pada variasi konsentrasi 0.025%, 0.05%, 0.075%, dan 0.1% dengan *p-value* 0.000 (*p-value* < 0.05). Pada hasil Uji *Tukey* antara kelompok uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan antara variasi kelompok ekstrak 0.025%, 0.05% dan 0.075% dengan *p-value* 0.555, 0.955, 0.188 dan 0.175 (*p-value* > 0.05). Namun berdasarkan Uji Lanjutan *Tukey* tidak dapat diketahui ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling baik karena tidak ada perbedaan pengaruh pada masing-masing perlakuan.



## BAB VI

### PENUTUP

#### 6.1 Simpulan

1. Ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memberikan efek daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak etanol 96% daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki aktivitas antibakteri tertinggi yakni pada konsentrasi 0.1% dengan nilai zona hambat 4.52 mm pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan pada konsentrasi 0.075% dengan nilai zona hambat 9.50 mm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Senyawa penciri hasil dari pembacaan instrument UPLC–MS adalah 20 macam senyawa dengan berbagai macam golongan Flavonoid, Alkaloid, Terpenoid, Gula Kompleks, dan Protein Kompleks.
3. Senyawa-senyawa yang diindikasikan sebagai antibakteri adalah senyawa berikut.
  - a. Senyawa yang dituju adalah senyawa golongan Flavonoid, Alkaloid, dan Terpenoid; *(2S,3S,4S,5R,6S)-6-((5,8-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-carboxylic acid* atau disebut dengan “*Baicalin*”, memiliki rumus molekul  $C_{21}H_{18}O_{11}$  merupakan senyawa golongan Flavonoid.
  - b. *7aS)-2,3,5,7a-Tetrahydro-1H-pyrrolizin-7-ylmethyl(2S,3R)-2,3-dihydroxy-2-isopropylbutanoate* atau disebut dengan “*Supinine*”

*Spinin*”, memiliki rumus molekul  $C_{15}H_{25}NO_4$  merupakan senyawa golongan Alkaloid.

- c. *(6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one* atau disebut dengan “*Loliolide*”, memiliki rumus molekul  $C_{11}H_{16}O_3$  merupakan senyawa golongan Terpenoid.
- d. *trans-4-[(N2-[(2S)-2-(2,4-Dioxo-1,4-dihydro-3(2H)-quinazolinyl)-3-phenylpropanoyl]-L glutaminyl]amino)methyl]cyclohexanecarboxylic acid* atau disebut dengan “*Saframycin*”, memiliki rumus molekul  $C_{30}H_{35}N_5O_7$  merupakan senyawa golongan Alkaloid.

## 6.2 Saran

1. Penggunaan etanol 96% teknis sebagai pelarut dapat diganti dengan etanol 96% p.a (pro-analisis) untuk mengurangi sejumlah pengotor dari etanol 96% teknis yang masuk kedalam ekstrak.
2. Untuk penelitian lanjut bisa digunakan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi agar aktivitas antibakteri pada bakteri lebih maksimal.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abd. Rahman Dahlan. 2011. *Ushul Fiqh*. Jakarta: Amzah, h: 324.
- Abrams, G.D. 1992. Respon tubuh terhadap cedera. Dalam S. A. Price & L. M. Wilson, *Patofisiologi: Konsep klinis proses-proses penyakit* 4<sup>th</sup> ed pp.35 – 61. Terjemahan oleh P. Anugerah. 1995. Jakarta: EGC.
- Abdel-Wahab B. F., Awad G. E. A. and Badria F. A. 2011. Synthesis, antimicrobial, antioxidant, antihemolytic and cytotoxic evaluation of new imidazolebased heterocycles. *Eur. J. Med. Chem.*46: 1505–1511. Adilfiet. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran edisi revisi*. Jakarta. Binarupa Aksara, h: 35,37, 103, 163.
- Adrian, Payne. 2000. Analisa Ekstraktif Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat. Pusat Penelitian Universitas Negeri Andalas.
- Ansel, Howard C. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta. UI Press.
- Al Fanjari, Ahmad Syauqi. 2007. Nilai Kesehatan Dalam Syari'at Islam. Jakarta. Pustaka ilmi, h: 4.
- Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi. 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir*. Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.

Al Imam Muhammad. *Nailul*. h: 161.

Al-Maraghi, A. M. 1993. *Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: Cv Toha Putra

Al-Mahalli dan As-Suyuthi, Imam Jalaluddin. 2008. *Tafsir Jalalain berikut Asbabun Nuzul Ayat: Surat Al-Fatihah – Al-Isra’*. Jilid 1. Penterjemah: Bahrul Abu Bakar. Bandung: Penerbit Sinar Baru Algensindo.

Al-Mahalli dan As-Suyuthi, Imam Jalaluddin. 2008. *Tafsir Jalalain berikut Asbabun Nuzul Ayat: Surat Al-Kahfi – An-Nas*. Jilid 2. Penterjemah: Bahrul Abu Bakar. Bandung: Penerbit Sinar Baru Algensindo.

Al-Qarni Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*, Jakarta: Qisthi Press.

Atkins, P., Julio D. P. 2010. *Physical Chemistry* 9th ed. New York. W. H. Freeman and Company.

Aulanni'am, A. Rosdiana and Rahmah, N. L. 2012. The Potency of *Sargassum duplicatum* Bory Extract on Inflammatory Bowl Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences* 6.

Aulia, N.F. 2008. *Pola Kuman Aerob dan Sensitifitas Pada Gangren Diabetik*. Tesis. Medan: Bidang Patologi Klinik Pada Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

- Arai T, Yazawa K, Takahashi K, Maeda A, Mikami Y. 1985. Directed biosynthesis of new saframycin derivatives with resting cells of *Streptomyces lavendulae*. *Antimicrob Agents Chemother*. Jul: 28(1): 5-11.
- Baltazar F., Azevedo M.M., Pinheiro C., Yaphe J. 2009. Portuguese students' knowledge of antibiotics: a cross-sectional study of secondary school and university students in Braga. Portugal. *BMC Public Health*: 359 (3): 1-6.
- Breed R.S., Murray E.G.D., Smith N.R. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. *Seventh Edition*. U.S.A : The williams and Wil kins Company.
- Brooks G.F., Butel J. S., and Morse S. A. 2005. "Jawetz, Melnick & Adelbergh's: *Mikrobiologi Kedokteran*". Buku I, Edisi I. Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi FKU Unair. Jakarta: Salemba Medika.
- Calderon M.J., Burgos M.E., Perez G.C., Lopez L.M. 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Rev Med Chem*: 11(4) : 298–344
- Carey F. A. 2000. Organic Chemistry Fourth Edition. New York: McGraw-Hill.
- Chandra, A. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia rebaudiana dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur Ekstraksi. Pro Sem Nas Masy Biodiv Indon. Volume 1, nomor 1: 114-119
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as microbial agents. *Clinical Microbial Review*: 12(4): 564-582.

- Dalimartha, S. 2001. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Dalimartha, S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Trubus Agriwidya h: 170.
- Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djuanda S, Sularsito. 2005. SA. Dermatitits In: Djuanda A, ed Ilmu penyakit kulit dan kelamin. Edisi III. Jakarta: FK UI: 126-31.
- Depkes RI. 1995. farmakope Herbal Edisi Pertama. Jakarta
- de Villiers, A., Lestremau, F., Szucs, R., Gelebart, S., David, F., & Sandra, P. 2006. Evaluation of ultra-performance liquid chromatography. Part I: Possibilities and limitations. *Journal of Chromatography A*: 1127, 60-69.
- Dwidjoseputro. 1980. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan. Surabaya.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan. Jakarta
- Fiehn, O. 2002. *Plant Mol. Biol*: 48, 155–171.
- Ginting, P.H. 2008. Penentuan Kadar Air Inti Sawit pada Kernel Silo Menggunakan Alat Moisture Analyzer. Medan: PTPN III PKS Rambutan Tebing Tinggi. Universitas Sumatera Utara.

Geo. F. Brooks, Janet S. Butel, Stephen A. Morse. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

Gobel, Risco, B dkk. 2008. *Mikrobiologi Umum Dalam Praktek*. Makassar: Universitas Hasanuddin.

Guillarme, D., Nguyen, D. T.-T., Rudaz, S., & Veuthey, J.-L. 2007. Recent developments in liquid chromatography – Impact on qualitative and quantitative performance. *Journal of Chromatography A*: 1149, 20-29.

Gupte, S. 1990. “*Mikrobiologi Dasar*”. Terjemahan oleh Suryawidjaja, J.E. Jakarta: Bina Rupa Aksara.

Jabir, S.A.B. 2007. *Aisar At-Tafaasir li Al-kalaami li Al-Aliyyi Al-Kabir. Tafsir Al Qur'an Al Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah.

Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII. terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta. Salemba Medika: 205-209.

Jawetz, Melnick, dan Adelberg s. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Ed 23*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Jawetz, Melnick, dan Adelberg s. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

- Jawetz, E., Melnick, J. 2010. Review of Medical Microbiology 15th edition. California, Lange Medical Publication.
- Lutfi, Ahmad. 2004. Kimia Lingkungan. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional
- Kusmayati, Agustini, N.W.R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *J Biod.* 8(1): 48 – 53.
- Kusuma, W.H. 1993. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid IV. Jakarta. Pustaka Kartini.
- Kuswandi. 2001. Perkembangan Penyakit Infeksi di Daerah Tropis. 12 April 2001. *Kompas*: 5
- Lim, Y.H., Kim, I.H., and Seo, J.J. 2007. In vitro Activity of Kaempferol Isolated from *Impatiens balsamina* alone and in Combination with Erythromycin or Clindamycin against *Propionibacterium acnes*. *The Journal of Microbiology*. Vol. 45 No. 5, 473,477.
- Lindon, J. C., Nicholson, J. K., Holmes, E., Everett, J. R. 2000. Concepts Magn. Reson. 12: 289-320.
- Majid, 2009. Senyawa Antibakteri Dan Mekanisme Kerjanya. Universitas Diponegoro. Semarang. <http://Majid-Undip-Senyawa-Antibakteri-Dan-Mekanisme-Kerjanya.htm>.

- McMurry, J. 2000. Organic Chemistry Fifth Edition. USA: Brooks/Cole.
- Mei. 2009. Effect of Cinnamon Oil on icaA Expression and Biofilm Formation by *Staphylococcus epidermidis*. Appl and Environment Microb 75:6850-6855.
- M. Hanafi, Muchlis. 2012. Kesehatan Dalam Perspektif Al-Qur'an: tafsir Al-Qur'an tematik. Jakarta. Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an: 255.
- Muley, BP, SS Khadabadi and NB Banarase, 2009, Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): a Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 5, 455-465
- Nicholson, J. K.; Lindon, J. C.; Holmes, E. 1999. *Xenobiotica*, 29: 1181–1189.
- Nicholson, J. K.; Connelly, J.; Lindon, J. C.; Holmes, E. Nat. Rev. 2002. *Drug Discovery*. 1: 153-161.
- Nuryastuti Titik, Bastiaan P.Krom, Abu T.Aman, Henk J.Busscher, and Henny C.van der Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Radji, M. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta. Buku Kedokteran EGC
- Özkay Y., Işıkdag İ., İncesu Z. and Akalın G. (2010) Synthesis of 2-substituted-N-[4(1-methyl 4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl)phenyl]acetamide derivatives

and evaluation of their anticancer activity. *Eur. J. Med. Chem.*45, 3320–3328.

Purnomo *et al.*,2006. *Biologi*. Jakarta: Sunda Kelapa Pustaka, H.260.

Rohaeti, E. R. Heryanto, M. Rafi, A. Wahyuningrum, dan L. K. Darusman. 2011. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) Menggunakan Kombinasi Spektroskopi IR dengan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial. *Jurnal Kimia* 5 (2) : 101-108. ISSN 1907-9850.

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

Ryan, K. J., & Ray, C. G. 2010. *Sherris Medical Microbiology* (5th ed.). United States of America: McGraw-Hill.

Setyaningsih, I. 2004. *Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut*. Makalah Falsafah Sains. IPB. Bogor.

Sentot, Budi Raharjo. 2008 *KIMIA berbasis EKSPERIMEN 3*. Platinum: Jakarta

Shihab, M. Quraish. 2007. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al Qur'an Vol. 8*. Jakarta: Lentera Hati.

Shihab, M. Quraish. 2007. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al Qur'an Vol. 12*. Jakarta: Lentera Hati.

Singh IP, Bharate SB, Bhutani KK. 2005. Anti-HIV Natural Product. *Jurnal Current Science*: 89(2): 269-290.

Sitanggang, M. dan Dewani. 2006. *33 Ramuan Penakluk Asam Urat*. Jakarta. Agromedia Pustaka: 30.

Sukadana, I Made dan Sri Rahayu Santi. 2011. Senyawa Antibakteri Bis(2-Etilheksil) Ester dan Triterpenoid dalam Ekstrak *n*- Heksana Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis* L.), *Majalah Obat Tradisional*, 16, 1.

Sulasna J, Santoso B, Iskandar D. 2004. *Tempuyung: Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat*. Jakarta, Penebar Swadaya.

Susanti A. 2008. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica Less) terhadap Escherichia coli secara In Vitro*. Jurnal Universitas Airlangga. 2008;1(1).

Suwahyono, N. dan Sudarsono, B. 1992. Pengelolaan Data Etnobotani Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Etnobotani Februari 1992*. Bogor: Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI.

Swartz ME, Murphy B.2005.Am Lab 37:22–27

Swartz ME, Murphy B.2004.Lab Plus Int 18:6–9

Syahrurachman, A. dkk. 1994. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. BinarupanAksara, Jakarta.

Tortora, Kunke, Case, 2001. *Microbiology an introduction*. 6<sup>th</sup> edition. America: Addison Wesley Longman, Inch. P.593 – 595, 578 – 579, 454 – 455, 339 – 341, 340, 340

Utama, E.D., et al. 2006. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Medik : Praktikum Kering Clinical Skill Lab and Haemato-immunology*. Medan : Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU Medan, 63-68

Voight R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi Kelima. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Volk, W. A. dan Wheeler, M. F., 1990, “Mikrobiologi Dasar 2”, Alih bahasa: Markham, Erlangga, Jakarta.

Wikipedia. 1976. [https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Pseudomonas\\_aeruginosa\\_01.jpg](https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Pseudomonas_aeruginosa_01.jpg). diakses tanggal 8 Februari 2018.

Wikipedia. 2006. <https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Caffeine.svg>. diakses 30 Oktober 2019.

Wikipedia. 2007. [https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_epidermidis#/media/File:Staphylcoccus\\_epidermidis\\_01.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis#/media/File:Staphylcoccus_epidermidis_01.png). diakses 13 Juni 2017.

Wikipedia. 2008. <https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Flavon.svg>. diakses 30

Oktober 2019.

Wikipedia. 2008. [https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:\(-\)-Ephedrin.svg](https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:(-)-Ephedrin.svg). diakses 30 Oktober 2019.

Wikipedia. 2009. [https://id.wikipedia.org/wiki/Daun\\_Tempuyung](https://id.wikipedia.org/wiki/Daun_Tempuyung). diakses 5 Februari 2018.

Wikipedia. 2010. <https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Serotonin-skeletal.png>. diakses 30 Oktober 2019.

Wikipedia. 2014. [https://de.wikipedia.org/wiki/Mescaline#/media/Datei:2-\(3,4,5-trimethoxyphenyl\)ethanamine\\_200.svg](https://de.wikipedia.org/wiki/Mescaline#/media/Datei:2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanamine_200.svg). diakses 30 Oktober 2019.

Wikipedia. 2017. [https://en.wikipedia.org/wiki/Clindamycin#/media/File:Clindamyci\\_1.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Clindamycin#/media/File:Clindamyci_1.png). diakses 30 Oktober 2019.

Winarti, C., N. Nurdjanah. 2005. *Peluang rempah dan tanaman obat sebagai sumber pangan fungsional*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 24(2): 47-55.

Winarto, W.P. dan tim Karyasari. 2004. *Tempuyung, Tanaman penghancur Batu ginjal*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Yuliarti W. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji antioksidan asam fenolat dalam daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrasil (DPPH). *Chem Info Journal*. 1(1):294-304.

Yusuf Qardhawi, *Sunnah Rasul Sumber Ilmu Pengetahuan dan Peradaban*,  
Penerj. Abdul Hayyie Al-Kattanie dan Abduh Zulfidar, Jakarta: Gema  
Insani Press, 1998, h. 309.

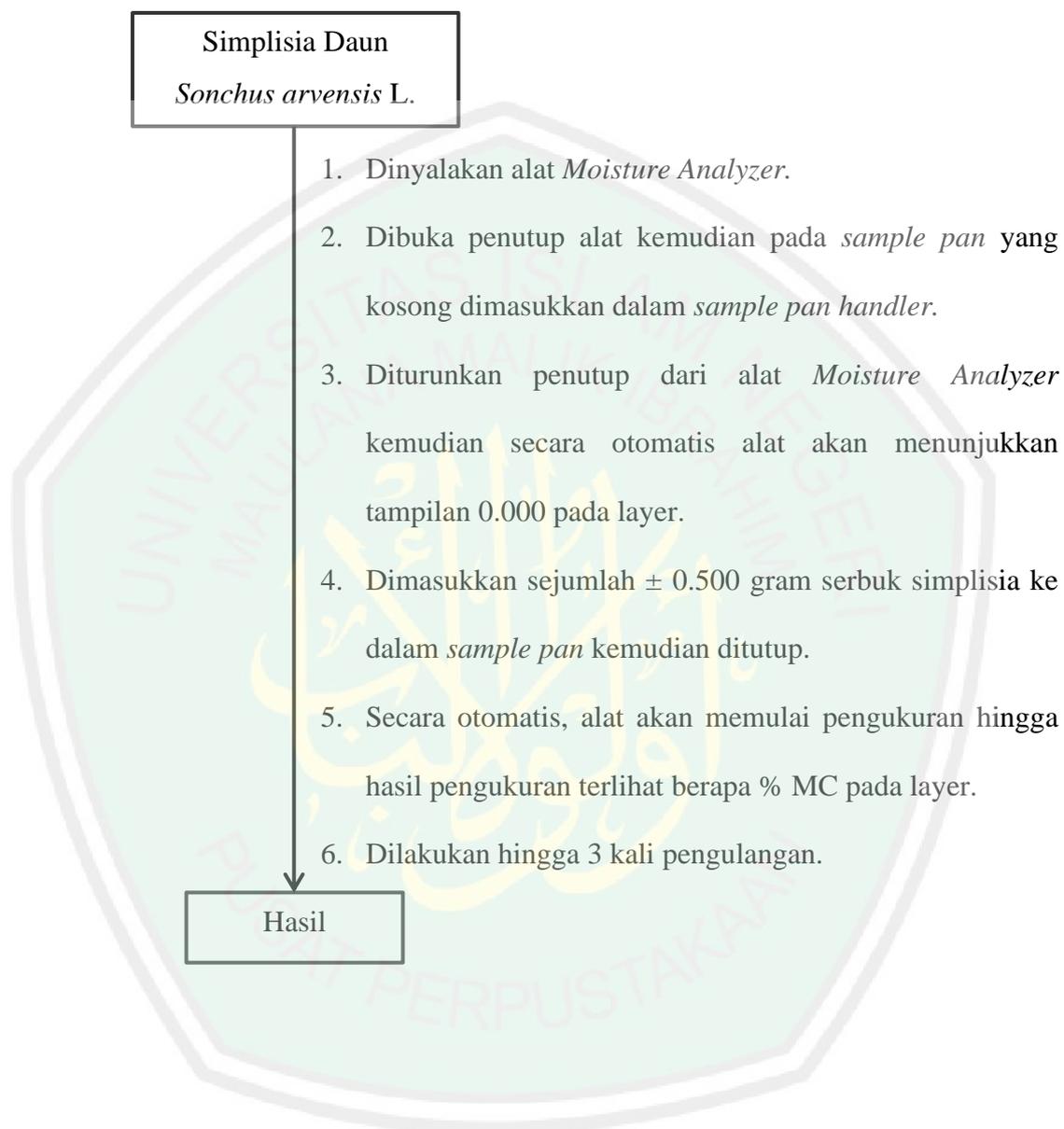


The logo of Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang is a shield-shaped emblem. It features a light green background with a white border. Inside the shield, there is a yellow calligraphic design in the center. The text "UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM" is written in a light green font along the top inner edge of the shield, and "PUSAT PERPUSTAKAAN" is written along the bottom inner edge. The word "LAMPIRAN" is superimposed over the center of the shield in a large, bold, black serif font.

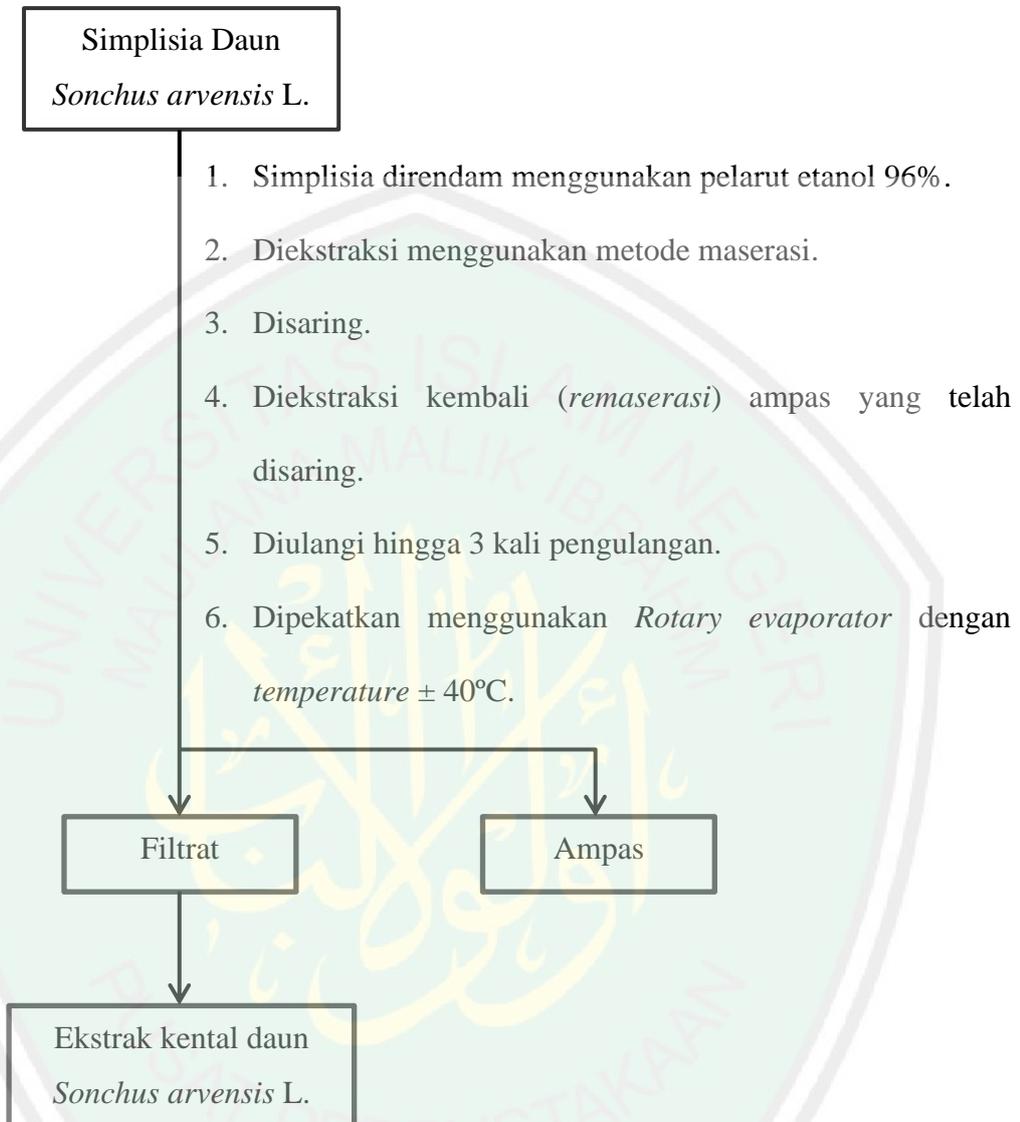
# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Skema Kerja

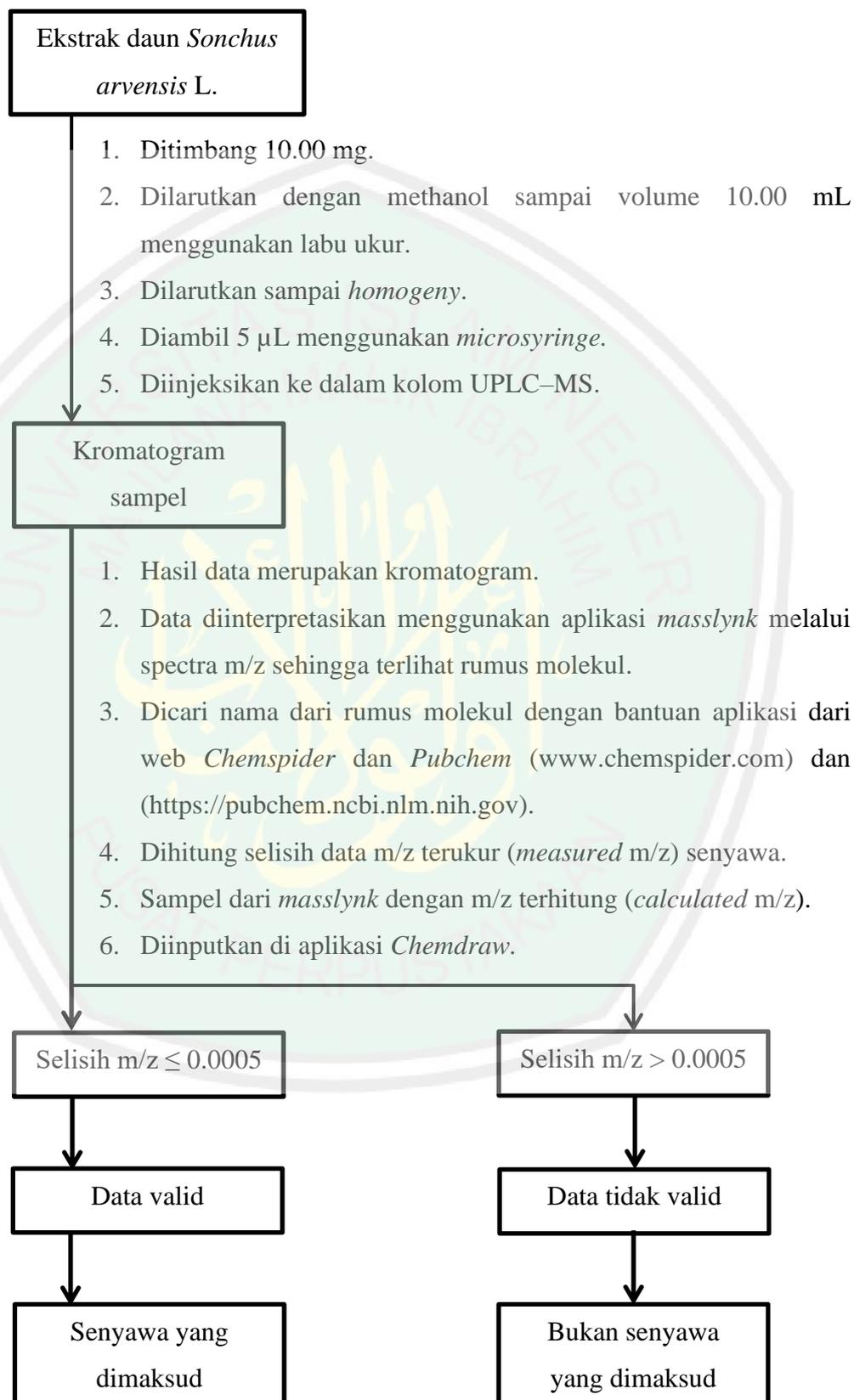
### 1.1 Analisis Kadar Air



## 1.2 Ekstraksi Daun *Sonchus arvensis* L.



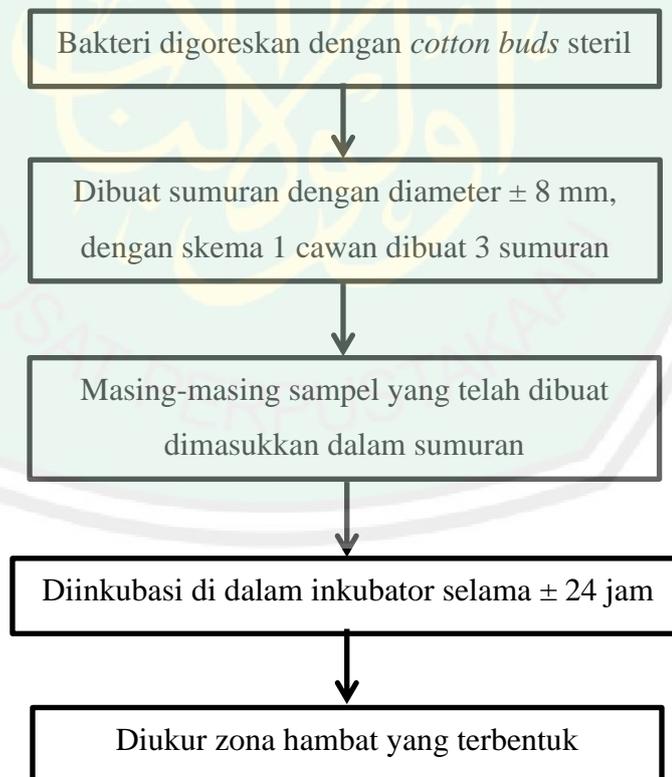
### 1.3 Metabolite Profiling menggunakan UPLC-MS



#### 1.4 Inokulasi Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

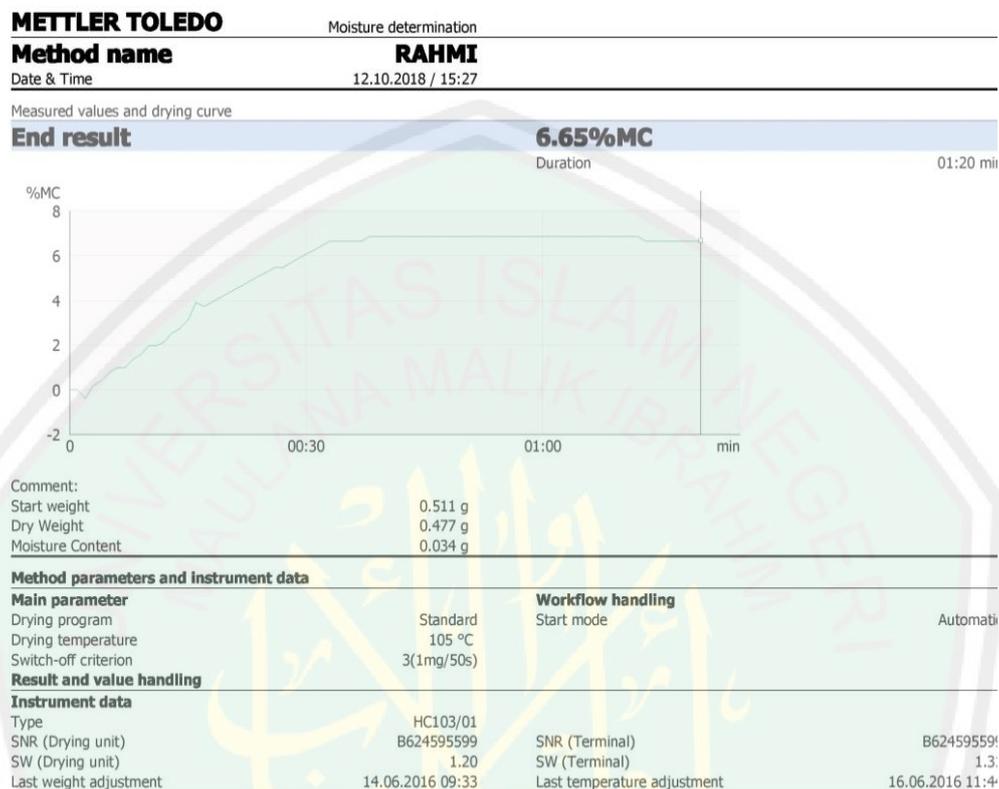


#### 1.5 Uji Difusi Sumuran Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Tempuyung *Sonchus arvensis* L. terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*



## Lampiran 2. Hasil Pengujian

### 1. Hasil Uji Kadar Air Simplisia Pertama



Comment \_\_\_\_\_

Date / Signature \_\_\_\_\_

Review date / Signature \_\_\_\_\_

## 2. Hasil Uji Kadar Air Simplisia Kedua

**METTLER TOLEDO** Moisture determination  
**Method name** RAHMI  
 Date & Time 12.10.2018 / 15:33

Measured values and drying curve

**End result** **6.86%MC**  
 Duration 01:20 min



Comment:  
 Start weight 0.510 g  
 Dry Weight 0.475 g  
 Moisture Content 0.035 g

**Method parameters and instrument data**

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

Comment \_\_\_\_\_

Date / Signature \_\_\_\_\_ Review date / Signature \_\_\_\_\_

### 3. Hasil Uji Kadar Air Simplisia Ketiga

**METTLER TOLEDO** Moisture determination  
**Method name** RAHMI  
 Date & Time 12.10.2018 / 15:37

Measured values and drying curve  
**End result** **6.02%MC**  
 Duration 01:20 min



Comment:  
 Start weight 0.515 g  
 Dry Weight 0.484 g  
 Moisture Content 0.031 g

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

Comment \_\_\_\_\_  
 Date / Signature \_\_\_\_\_ Review date / Signature \_\_\_\_\_

### Lampiran 3. Perhitungan

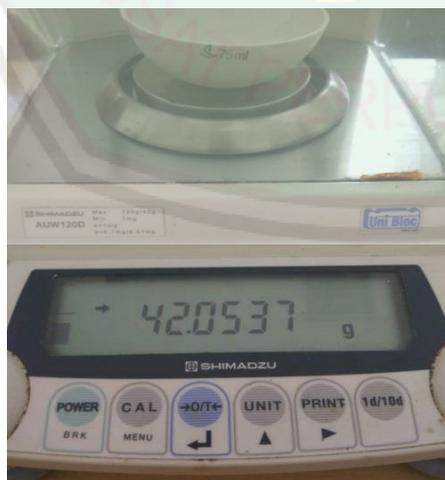
Perhitungan Rendemen	
Ekstrak Etanol 96%	
Berat Simplisia Daun Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis</i> L.)	= 400 gram
Berat Cawan Porselen	= 42.0537 gram
Ekstrak Ekstrak Kental + Cawan	= 60.7870 gram
Berat Ekstrak Kental	= 60.7870 - 42.0537
	= 18.7333 gram
$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Simplisia Pekat}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\% = \frac{18.7333 \text{ g}}{400 \text{ g}} \times 100\% = 4.6833\%$	
Perhitungan berbagai konsentrasi ekstrak etanol 96% daun tempuyung ( <i>Sonchus arvensis</i> L.)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dengan Konsentrasi 0.025%           <math display="block">0.025\% = \frac{25}{100} \times \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}</math> </li> <li>• Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dengan Konsentrasi 0.050%           <math display="block">0.050\% = \frac{50}{100} \times \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}</math> </li> <li>• Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dengan Konsentrasi 0.075%           <math display="block">0.075\% = \frac{75}{100} \times \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}</math> </li> <li>• Ekstrak Etanol Daun Tempuyung dengan Konsentrasi 0.1%           <math display="block">0.01\% = \frac{100}{100} \times \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}}</math> </li> </ul>	

#### Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

##### a. Proses Ekstraksi Simplisia



##### b. Penimbangan Cawan Porselen



c. Penimbangan Cawan Porselen + Ekstrak Kental



d. Proses Evaporasi Menggunakan *Rotary Evaporator*



- e. Proses Evaporasi Menggunakan *Rotary Evaporator*



- f. Proses Pengeringan Ekstrak Menggunakan Oven



g. Hasil Determinasi Tanaman Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

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

Nomor : 074/258A/102.7/2018  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : Determinasi Tanaman Tempuyung

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : AL MAS FIRAS KANZI JIZAN TARIS  
 NIM : 13670035  
 Fakultas : KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
 UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman tempuyung

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Asterales
Bangsa	: Asterales
Suku	: Compositae (Asteraceae)
Marga	: Sonchus
Jenis	: <i>Sonchus arvensis</i> L.
Sinonim	: Jombang, j. lalakina, galibug, galing, lempung, rayana (Sunda); tempuyung (Jawa)
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120a-121a-122a-1b-12b-23b

2. Morfologi : Habitus: Terna tahunan, tegak, tinggi 0,6 - 2 m, mengandung getah putih. Batang: Batang berongga dan berusuk. Daun: Tunggal, bagian bawah tumbuh berkumpul pada pangkal membentuk roset akar, helai dam berbentuk lanset atau lonjong, ujung runcing, pangkal bentuk jantung, tepi berbagi menyirip tidak teratur, panjang 6 - 48 cm, lebar 3 - 12 cm, warnanya hijau muda, daun yang keluar dari tangkai bunga bentuknya lebih kecil dengan pangkal memeluk batang, letak berjauhan, berseling. Bunga: Perbungaan berbentuk bonggol yang tergabung dalam malai, bertangkai, mahkota bentuk jarum, warnanya kuning cerah, lama kelamaan menjadi merah kecokelatan. Buah: Kotak, berusuk lima, bentuknya memanjang sekitar 4 mm, pipih, berambut, cokelat kekuningan. Akar: Tunggang warna putih kotor

3. Nama Simplisia : Sonchi Folium / Daun Tempuyung.

4. Kandungan Kimia : Mengandung oc-laktuserol, p-laktuserol, manitol, inositol, silika, kalium, flavonoid, dan taraksasterol. Daun mengandung saponin, flavonoid, polifenol.

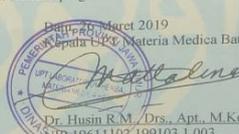
5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/tempuyung>, diakses tanggal 23 Oktober 2010.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batik, 20 Maret 2019  
 UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu

  
 Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.  
 S.I.P. 19611102 199103 1 003

h. Hasil Uji Antibakteri pada Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

