

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARIDA QUDSIYYAH**  
NIM. 17620055



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FARIDA QUDSIYYAH  
NIM. 17620055**

**diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Eschericia coli***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**FARIDA QUDSIYAH  
NIM. 17620055**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
Tanggal: 14 Desember 2021**

**Dosen Pembimbing I**



**Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si  
NIP. 19710919 200003 2 001**

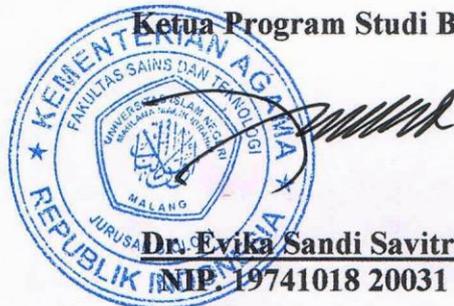
**Dosen Pembimbing II**



**Dr. H. M. Imamudin, Lc., MA  
NIP. 19740602 200901 1 010**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Biologi**



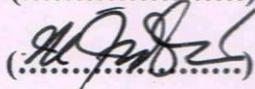
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 20031 2 202**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Eschericia coli***

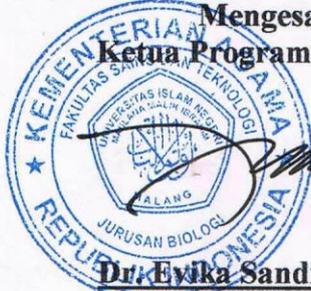
**SKRIPSI**

Oleh:  
**FARIDA QUDSIYYAH**  
NIM. 17620055

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu  
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 14 Desember 2021

Penguji Utama	: Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	(.....  )
Anggota Penguji 1	: Dr. Nur Kusmiyati, M.Si NIP. 19890816 2016080 1 2061	(.....  )
Anggota Penguji 2	: Prof. Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si NIP. 19710919 200003 2 001	(.....  )
Anggota Penguji 3	: Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A NIP. 19740602 2009011 010	(.....  )

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi



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

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Alhamdulillah rabbil 'alamin...*

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman jahiliyah menuju jalan yang terang benderang. Skripsi ini dipersembahkan kepada orang-orang yang telah banyak membantu dan memberi dukungan kepada penulis, khususnya:

1. Kedua orang tua tercinta, Ayah Kholis Haji Mukhamad Dahlan S. Kep. Ns. dan Mama Khoiriyati yang selalu memberikan kasih sayang, do'a, nasehat, serta dukungan sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si dan Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A sebagai dosen pembimbing skripsi saya. Terima kasih atas kesabaran serta keikhlasan telah memberikan bimbingan, pengarahan serta dorongan dalam proses menyusun skripsi ini.
3. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd selaku dosen wali yang senantiasa memberikan banyak sekali arahan dan motivasi selama masa studi.
4. Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si, Dr. Nur Kusmiyati, M.Si, Prillya Dewi M. Sc, dan Retno Novitasari HD, M. Sc yang telah membimbing dan memberikan arahan berdasarkan ilmunya kepada penulis dengan sangat sabar. Serta Kiyai dan guru-guru penulis yang telah banyak memberikan ilmu dan nasehat.
5. Adek tercinta Zanuwar Zindan yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
6. Teman penelitian di laboratorium Icha Rizky Chrismonita, sahabat tercinta Yuanita Refa Kusuma, Oktavianisaul Fitriyah, dan teman-teman sebimbingan yang banyak membantu serta memberikan nasehat kepada penulis.
7. Teman-teman Wolves 2017 terutama teman sekelas penulis "Squirrel" yang selalu memberikan semangat kepada penulis hingga mampu menyelesaikan studi dengan baik.

## MOTTO

شبان اليوم رجال الغد

**"Pemuda hari ini adalah pemimpin hari esok"**

خير الناس أنفعهم للناس

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

**(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadits ini dihasankan oleh al-**

**Albani di dalam Shahihul Jami’ no: 3289)**

## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

### HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Farida Qudsiyyah  
NIM : 17620055  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli*

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

Malang, 14 Desember 2021  
yang membuat pernyataan,



Farida Qudsiyyah  
NIM. 17620055

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli*

Farida Qudsiyyah, Bayyinatul Muchtaromah, dan M. Imamudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRAK

Seperti yang sudah banyak diketahui bahwa daun bidara memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa tanin, flavonoid, saponin, dan alkaloid yang mana senyawa-senyawa tersebut dapat berguna sebagai antibakteri. Pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia daun bidara yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk yang bertujuan untuk mengetahui apakah pada daun bidara tersebut positif mengandung keempat senyawa tersebut, selain itu juga dilakukan uji antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga metode yaitu uji zona hambat, KHM dan KBM. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, dan saponin dari daun tersebut. Uji zona hambat menggunakan konsentrasi ekstrak 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% serta kontrol positif tetrasiklin dan kontrol negatif aquades steril hasilnya diameter uji zona hambat dengan metode difusi cakram paling lebar dari kedua bakteri tersebut yaitu terdapat pada konsentrasi 100%. Diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar  $10,97 \pm 2,47$  mm yang termasuk kategori kuat, sedangkan pada *Eschericia coli* sebesar  $5,26 \pm 0,45$  mm dengan kategori lemah. Uji aktivitas antibakteri selanjutnya yaitu uji KHM dengan menggunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Hasil dari uji KHM dengan metode mikro dilusi diketahui dengan mengamati perubahan kekeruhan media setelah diinkubasi. Lalu dilanjutkan dengan uji KBM sebagai konfirmasi kehadiran mikroba setelah masa inkubasi melalui metode *pour plate*. Nilai KHM dari ekstrak daun bidara diperoleh pada konsentrasi 50%, pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan total koloni sebanyak  $6,2 \times 10^6$  CFU/mL dan pada *Eschericia coli* dengan total koloni  $5,2 \times 10^7$  CFU/mL. Nilai KBM yang diperoleh pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yaitu pada konsentrasi 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dari daun bidara terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Bidara, Ekstrak, *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

# **The Effectiveness Test of Ethanol Extract of Bidara Leaves (*Ziziphus Mauritiana*) As Antibacterial Against *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli***

Farida Qudsiyyah, Bayyinatul Muchtaromah, dan M. Imamudin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang

## **ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine what secondary metabolites are contained in bidara leaves and to determine the antibacterial activity of bidara leaves. The results of phytochemical screening of bidara leaves taken from Klagen village, Rejoso sub-district, Nganjuk district showed that there were secondary metabolites in the form of flavonoids, tannins, and saponins. The present study used an extraction method using 70% ethanol as a solvent. The first antibacterial activity test was the inhibition zone test using the disc diffusion method using extract concentrations of 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, and 100% as well as a positive control of tetracycline and a negative control of sterile distilled water.. The result showed that the diameter of the inhibition zone was the widest of the two bacteria, which was found at a concentration of 100%. The diameter of the inhibition zone in *Staphylococcus aureus* is  $10.97 \pm 2.47$  mm which is in the strong category, while in *Escherichia coli* it is  $5.26 \pm 0.45$  mm in the weak category. The next antibacterial activity test was the MIC test using concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25% which was then continued with the MBC test. The result of the MIC test was known by observing changes in the turbidity of the media after incubation. Then proceed with the KBM test as confirmation of microbes after the incubation period through the pour plate method. The MIC value of Bidara leaf extract was obtained at a concentration of 50%, on *Staphylococcus aureus* with a total colony of  $6.2 \times 10^6$  CFU/mL and on *Escherichia coli* with a total colony of  $5.2 \times 10^7$  CFU/mL. The MBC value obtained on the test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were at a concentration of 100%. So it can be concluded that there is antibacterial activity of bidara leaves against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: Antibakterial, Bidara Leaves, Extract, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*

## الملخص

### اختبار فعالية مستخلص الإيثانول لأوراق بيدارا (*Ziziphus mauritiana*) كمضاد للبكتيريا ضد المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية

فريدة قدسية ، بيينة المحترمة ، محمد إمام الدين

برنامج دراسة الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

كما هو معروف ، تحتوي أوراق بيدارا على مستقلبات ثانوية في شكل التانينات ، والفلافونويد ، والصابونين ، والقلويدات ، والتي يمكن أن تكون مفيدة كمضادات للبكتيريا. في هذه الدراسة ، تم أخذ اختبار فحص كيميائي نباتي لأوراق بيدارا من قرية كلاكين، منطقة ريجوسو، الفرعية غانجوك . والتي تهدف إلى تحديد ما إذا كانت أوراق بيدارا إيجابية لهذه المركبات الأربعة، كما أجريت اختبارات مضادة للجراثيم ضد بكتريا *S. aureus* و *E. coli*. ظهرت نتائج اختبار المسح الكيميائي النباتي وجود مستقلبات ثانوية في شكل مركبات الفلافونويد والعفص والصابونين من الأوراق. طريقة الاستخلاص المستخدمة في هذه الدراسة هي طريقة النقع باستخدام 70% من الإيثانول كمذيب. تم إجراء اختبار النشاط المضاد للبكتيريا من خلال ثلاث طرق ، وهي اختبار منطقة التثبيط ، و MIC و KBM. ستخدم اختبار منطقة التثبيط مستخلص بتركيزات 40% ، 50% ، 60% ، 70% ، 80% ، 90% ، و 100% بالإضافة إلى تحكم إيجابي في التتراسيكلين والتحكم السليبي في الماء المقطر المعقم. بتركيز 100%. كان قطر منطقة التثبيط في *Staphylococcus aureus*  $10.97 \pm 2.47$  مم والتي كانت ضمن الفئة القوية ، بينما كانت في فئة *Eschericia coli*  $5.26 \pm 0.45$  مم في الفئة الضعيفة. ان اختبار النشاط المضاد للبكتيريا التالي هو اختبار MIC باستخدام تركيزات 100% و 50% و 25% و 12.5% و 6.25%. كانت نتائج اختبار MIC باستخدام طريقة التخفيف الدقيق معروفة من خلال ملاحظة التغيرات في تعكر الوسط بعد الحضانة. ثم تابع اختبار KBM كتأكيد لوجود الميكروبات بعد فترة الحضانة من خلال طريقة لوحة الصب. تم الحصول على قيمة MIC لمستخلص أوراق بيدارا بتركيز 50% ، على *Staphylococcus aureus* بمستعمرة إجمالية تبلغ  $6.2 \times 10^6$  CFU / mL وعلى *Eschericia coli* بمستعمرة إجمالية  $5.2 \times 10^7$  CFU / mL. تم الحصول على قيمة MBC على بكتيريا الاختبار *Staphylococcus aureus* و *Eschericia coli* بتركيز 100%.

الكلمات المفتاحية: مضاد للجراثيم ، أوراق بيدارا ، مستخلص ، المكورات العنقودية الذهبية ، الإشريكية القولونية

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaimum Wr. Wb.*

*Bismillahirrohmaanirrohiim*, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul "Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*". Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah membawa umat islam dari zaman jahiliyah kepada zaman yang terang benderang yakni addinul Islam.

Skripsi ini dapat terselesaikan tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, dan arahan dari berbagai pihak, baik berupa pikiran, motivasi, tenaga, maupun doa, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Muhammad Zainuddin, M.A, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P selaku ketua program studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si dan Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan.
5. Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si dan Dr. Nur Kusmiyati M. Si selaku penguji skripsi yang telah banyak memberikan saran.
6. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd selaku dosen wali yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi selama masa studi.
7. Segenap sivitas akademika Program Studi Biologi terutama seluruh dosen yang telah memberikan ilmunya selama penulis kuliah di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Kedua orang tua penulis, Ayah Kholis Haji Mukhamad Dahlan, S. Kep. Ns. dan Mama Khoiriyati serta adik penulis Zanuwar Zindan yang senantiasa memberikan doa serta dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kesalahan, kekurangan, dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca terutama dalam pengembangan ilmu dibidang Biologi.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 14 Desember 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
MOTTO .....	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT .....	ix
المخلص.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan .....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
1.6 Hipotesis .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
2.1 Integrasi .....	9
2.2 Bidara ( <i>Ziziphus mauritiana</i> ) .....	11
2.3 Morfologi .....	12
2.4 Senyawa Aktif .....	12
2.5 Ekstraksi.....	13
2.5.1 Cara Dingin .....	14
2.5.2 Cara Panas .....	16
2.6 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
2.7 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	18
2.8 Antibakteri .....	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	20
3.2 Waktu dan Tempat .....	20
3.3 Variabel Penelitian .....	20
3.4 Alat dan Bahan .....	21
3.4.1 Alat .....	21
3.4.2 Bahan .....	21
3.5 Prosedur Penelitian.....	21
3.5.1 Persiapan Sampel.....	21

3.5.2 Ekstraksi Sampel .....	22
3.5.3 Uji Fitokimia .....	22
3.5.4 Uji Antibakteri.....	24
3.6 Interpretasi Jumlah Koloni.....	28
3.7 Analisis Data .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>31</b>
4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Bidara .....	31
4.2 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji Zona Hambat .....	34
4.3 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji Mikrodilusi .....	41
4.3.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum .....	41
4.3.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum .....	43
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>51</b>
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>57</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Pengukuran zona hambat yaitu (Sungkar dkk., 2018).....	26
Tabel 3.2 Kategori diameter zona hambat (Pagraputri, 2016) .....	26
Tabel 4.1 Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun bidara .....	31
Tabel 4.2 Analisis data zona hambat bakteri <i>S. aureus</i> .....	35

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam.....	12
Gambar 2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
Gambar 2.3 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	18
Gambar 3.1 Langkah kerja uji konsentrasi hambat minimum .....	27
Gambar 4.1 Hasil pengamatan uji zona hambat dari ekstrak daun bidara konsentrasi 100% terhadap bakteri a. <i>E. coli</i> dan b. <i>S. aureus</i> .....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	57
Lampiran 2. Preparasi Sampel.....	58
Lampiran 3. Rumus-Rumus .....	66
Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	67
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	69
Lampiran 6. Gambar Hasil .....	72
Lampiran 7. Analisis Data SPSS .....	81
Lampiran 8. Kartu Bimbingan Skripsi.....	84
Lampiran 9. Kartu Bimbingan Skripsi Integrasi.....	85
Lampiran 10. Lembar Bukti Cek Plagiasi.....	86

## DAFTAR SINGKATAN

HCl	: Asam Klorida
FeCl	: <i>Ferric Chloride</i>
NaCl	: <i>Natrium Chloride</i>
Mg	: Magnesium
pH	: <i>Power of Hydrogen</i>
°C	: Derajat Celsius
...%	: Persen
O <sub>2</sub>	: Oksigen
CO <sub>2</sub>	: Karbon Dioksida
H <sub>2</sub> O	: Air
mm	: Milimeter
g	: Gram
μL	: Mikroliter
mL	: Mililiter
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MHB	: <i>Mueller Hinton Broth</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimum

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kasus resistensi dari beberapa bakteri patogen terhadap antibiotik saat ini cukup meningkat, maka dari itu dicari senyawa antibakteri baru yang mampu bekerja efektif sebagai agen antibakteri. Resistensi bakteri patogen pada antibiotik yang sudah ada jadi permasalahan besar untuk dunia kesehatan. Pencarian obat antibakteri ini sangatlah berarti guna menghindari perkembangan bakteri patogen yang bisa menimbulkan penyakit pada manusia. Maka dari itu pencarian sumber senyawa antibakteri juga telah banyak dilakukan pada beberapa jenis tumbuhan yang sekiranya memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang mampu bekerja sebagai senyawa antibakteri.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, daun bidara merupakan salah satu tumbuhan yang diuji keefektifitasannya sebagai agen antibakteri. Hal tersebut dikarenakan pada daun bidara terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yang mampu bekerja sebagai antibakteri. Menurut Muharrami *et al.* (2019) melaporkan bahwa hasil skrining fitokimia daun bidara yang diekstraksi dengan metode maserasi memakai pelarut etanol 96% memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu senyawa fenolik, tanin, dan saponin. Selain itu Preeti dan Tripathi (2014) menambahkan dari hasil skrining fitokimia bahwa daun bidara memiliki beberapa golongan senyawa aktif antara lain alkaloid, flavonoid, terpenoid, glikosida, fenolik dan saponin.

Bidara atau tumbuhan yang memiliki nama ilmiah *Ziziphus mauritiana* merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah Asia Barat. Bidara adalah satu dari bermacam-macam tumbuhan yang dituliskan di dalam Al Qur'an, yang dalam

bahasa arabnya disebut Sidr. Sebagaimana yang telah difirmankan di dalam surat Saba' [34]: 16 yaitu:

فَأَعْرَضُوا فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُمْ بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِ أُكُلٍ حَمْطٍ وَأَثَلٍ وَشَيْءٍ  
مِّنْ سِدْرٍ قَلِيلٍ ﴿١٦﴾

Artinya: *Tetapi mereka berpaling, Maka Kami datangkan kepada mereka banjir yang besar dan Kami ganti kedua kebun mereka dengan dua kebun yang ditumbuhi (pohon-pohon) yang berbuah pahit, pohon Atsl dan sedikit dari pohon Sidr.*

Shihab (2005) di dalam bukunya menuliskan tafsir dari surat Saba' ayat 16 tersebut sebagai berikut Allah telah melimpahkan banyak sekali anugerah kepada manusia dan senantiasa pula membukakan pintu taubat, akan tetapi mereka berpaling mendurhakai Allah dan bersyukur. Kami datangkan banjir besar kepada mereka dengan merobohkan bendungan serta merusak perkebunan mereka. Kami gantikan dua kebun mereka dengan kebun yang ditumbuhi pohon yang berbuah pahit. Pohon Atsl dengan penuh duri dan tidak berbuah serta pohon Sidr (Bidara) yang memiliki sedikit kegunaannya. Demikianlah Kami balas dengan memberikan siksa kepada mereka dikarenakan kekafiran, yakni keengganan mereka untuk bersyukur. Dan Kami tidak memberikan siksa yang demikian selain hanya kepada mereka yang kafir kepada Allah serta mengingkari nikmat-Nya.

Firman Allah SWT dalam Al Qur'an ayat 16 dari surat Saba' tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan pohon-pohon berbuah pahit dan memiliki sedikit manfaat untuk menggantikan tumbuhan yang mati karena terkena banjir sebagai peringatan dan siksaan. Ditumbuhkannya pohon Sidr (Bidara) yang memiliki sedikit manfaat guna memberikan peringatan kepada orang kafir yang tidak mau bersyukur, tetapi lambat laun masyarakat mulai menyadari bahwa tumbuhan Bidara memiliki banyak sekali manfaat. Maka dari

itu sudah sepatutnya manusia bersyukur atas semua rahmat yang diberikan Allah SWT, karena segala sesuatu yang telah diciptakan pasti memiliki manfaat.

Pemilihan daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) sebagai bahan antibakteri dikarenakan salah satu bahan alami yang memiliki aktivitas antibakteri dan memiliki banyak keutamaan serta manfaat dalam bidang kesehatan yang tercantum dalam Al-Qur'an dan Hadits yaitu daun bidara atau sidr. Suatu penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L) dapat menghambat lima macam bakteri patogen diantaranya *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, dan *Vibrio* sp. Aktivitas antibakteri tersebut dikarenakan daun bidara mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, fenol dan saponin (Asy'syifa dkk., 2020).

Agar daun bidara dapat digunakan dengan baik sebagai antibakteri, maka perlu dilakukannya ekstraksi. Metode ekstraksi yang akan digunakan dalam pengujian ini adalah prosedur maserasi. Maserasi sendiri merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan karena sederhana dan menggunakan suhu ruangan. Menurut Hasrianti dkk. (2016) maserasi adalah cara paling umum digunakan untuk mengekstraksi sampel yang menggunakan pelarut yang sesuai pada suhu kamar. Pada saat metabolit sekunder diisolasi, tekanan intraseluler dan ekstraseluler dapat menghancurkan dinding sel tanaman dan melarutkan zat aktif dalam sitoplasma dalam pelarut.

Larutan yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini yaitu etanol 70% dikarenakan senyawa yang akan diidentifikasi adalah senyawa yang memiliki sifat polar. Menurut Mahardika & Roanisca (2019) etanol merupakan

pelarut polar dengan laju ekstraksi lebih tinggi daripada pelarut semi-polar dan non-polar. Selain itu menurut Suhendra dkk. (2019) etanol merupakan pelarut yang mampu melarutkan senyawa fenolik. Hal ini karena pelarut etanol dapat merusak dinding sel, yang dapat mendorong pelepasan senyawa bioaktif dari sel tumbuhan. Etanol 70% dapat menarik senyawa metabolit sekunder lebih baik daripada etanol kurang dari 70% (40%, 50%, dan 60%) dan lebih dari 70% (80%, 90%).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman bidara telah digunakan sebagai agen antibakteri. Metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, dan saponin diketahui dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Seperti yang telah dijelaskan oleh Siregar (2020) bahwa senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan dari daun bidara yaitu saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid, yang mana senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut, yang dapat merusak membran sel mikroba. Tanin memiliki kemampuan menciutkan dinding sel yang kemudian mengganggu permeabilitas dari sel mikroba sehingga mengganggu aktivitas transpor zat seluler pada bakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antimikroba yaitu merusak komponen peptidoglikan dari bakteri, yang mana hal tersebut dapat menjadi penyebab lisisnya sel bakteri.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengonfirmasi kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun bidara yang dikumpulkan dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk. Pada daerah tersebut memiliki ketinggian 45 m di atas permukaan laut dengan curah hujan berada pada angka 1400-1900 mm per tahun serta kelembaban antara 67%-84%. Menurut penelitian

perbedaan lokasi pengambilan sampel dapat mempengaruhi perbedaan kandungan senyawa metabolit sekundernya sehingga dilakukan uji skrining fitokimia pada sampel daun bidara ini. Seperti yang telah disampaikan oleh Katuuk dkk. (2020) bahwa kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik internal maupun eksternal. Adapun faktor internal yang mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman yaitu gen, sedangkan faktor eksternalnya berupa suhu, pH, cahaya matahari, kelembaban, ketinggian tempat, dan kandungan unsur hara pada tanahnya.

Karena senyawa metabolit sekunder yang mampu bertindak sebagai agen antibakteri juga terdapat dalam daun bidara, maka dilakukan pengujian terhadap *S. aureus* dan *E. coli* untuk membuktikannya. Menurut Septiani dkk. (2017) melaporkan bahwa *S. aureus* tergolong ke dalam bakteri patogen yang diketahui paling sering menjadi penyebab terjadinya infeksi. Tingkat keparahan infeksi bakteri ini dapat berkisar dari infeksi kulit ringan, infeksi saluran kemih, dan infeksi pernapasan hingga infeksi mata. Septiani juga menjelaskan bahwa *E. coli* termasuk bakteri patogen yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan serta dapat mengganggu kerja lambung.

Antibakteri sendiri merupakan senyawa yang bisa dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Dalam beberapa tahun terakhir, banyak senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman telah digunakan sebagai agen antibakteri. Senyawa ini dapat bertindak sebagai antibakteri atau antibakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri dan mengubah permeabilitas membran sel. Beberapa metabolit sekunder yang dapat merusak dinding sel bakteri adalah fenol, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat dimanfaatkan

untuk antibakteri alami terhadap bakteri patogen seperti *S. aureus* dan *E. coli* (Septiani, dkk., 2017).

Penelitian sebelumnya juga telah membahas penggunaan ekstrak daun bidara sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Muharrami *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa penelitian yang dilakukannya memiliki tujuan agar dapat mengetahui hasil skrining fitokimia serta aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun bidara terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Konsentrasi yang digunakan dari ekstrak etanol daun bidara yaitu 1%, 10%, 20%, 30%, dan 40%. Penelitian ini menggunakan metode kertas cakram (agar plate). Hasil dari uji aktivitas antibakteri diperoleh bahwa konsentrasi 40% dapat mencegah pertumbuhan bakteri *S. aureus* sebesar 0,03-1,68 mm yang masuk kedalam kategori lemah, sedangkan pada bakteri *E. coli* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Penelitian ini merupakan tindak lanjut dari penelitian sebelumnya untuk menguji ekstrak etanol daun bidara sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Konsentrasi perlakuan ekstrak daun bidara yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 40% , 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Selain dilakukan pengujian antibakteri dari daun bidara dilakukan pula pengujian kandungan senyawa aktif dari daun bidara tersebut. Dilakukannya uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun bidara yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana hasil uji skrining fitokimia daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur?
2. Bagaimana nilai zona hambat ekstrak etanol daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
3. Bagaimana nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dari daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur berdasarkan hasil uji skrining fitokimia.
2. Untuk mengetahui nilai zona hambat ekstrak etanol daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk memberikan informasi ilmiah mengenai kandungan senyawa aktif di dalam daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) yang diambil dari desa Klagen,

kecamatan Rejoso, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur berdasarkan uji fitokimia.

2. Untuk memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri dari daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### **1.5 Batasan Masalah**

Batasan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Sampel daun bidara berasal dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, Kabupaten Nganjuk, Jawa Timur.
2. Ekstraksi daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%.
3. Uji skrining fitokimia dilakukan pada senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.
4. Pengujian antibakteri dari ekstrak daun bidara dengan menggunakan konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
5. Aktivitas antibakteri daun bidara diketahui dari diameter uji zona hambat, hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan hasil uji konsentrasi bunuh minimum (KBM).

### **1.6 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Ekstrak etanol daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) dapat bekerja sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Integrasi

Allah SWT telah menciptakan bumi dan isinya dengan keanekaragaman yang melimpah, dari mulai berbagai macam makhluk hidup baik flora maupun fauna. Bahkan tumbuh-tumbuhan dapat tumbuh dengan subur di muka bumi ini karena memperoleh rahmat yang luar biasa berupa air hujan. Sebagaimana yang telah disebutkan di dalam Al Qur'an surat Thaha [20]: 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ  
أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

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

Ayat ke 53 surat Thaha tersebut menjabarkan mengenai penciptaan tumbuhan di bumi dengan keanekaragaman yang melimpah. Kalimah (أَخْرَجْنَا بِهِ) (أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى) memaparkan bahwa Allah SWT telah menumbuhkan banyak tanaman dengan ciri khas dari segi rasa, jenis, warna, bentuk dan manfaat sebagai tanda kebesaran Allah SWT (Shihab, 2002). Semua makhluk hidup, khususnya tumbuhan yang diciptakan oleh Allah swt, tentunya memiliki keunikan tersendiri bagi manusia dan makhluk hidup lainnya. Dalam Al Qur'an surat Luqman [31]: 10 Allah SWT juga telah berfirman:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ  
وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

Artinya: *Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.*

Lafadz (كريم) menjelaskan sifat baik pada objeknya dan objek yang dimaksud pada ayat ini yaitu tumbuhan. Tumbuhan yang baik ialah tumbuhan yang dapat tumbuh subur serta mampu memberikan sesuatu yang bermanfaat sesuai dengan yang diinginkan oleh penanamnya (Shihab, 2002). Seperti halnya tumbuhan Bidara atau Sidr yang merupakan satu dari ribuan tumbuhan yang sudah Allah SWT ciptakan yang mampu tumbuh dengan subur dan memberikan banyak manfaat. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan bidara bermanfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan juga dapat bermanfaat sebagai antibakteri (Siregar, 2020).

Manfaat dari tumbuhan bidara juga diperkuat dengan surat Al Imran [3]:

191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا  
مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطِيلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: *(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.*

Ayat ini menjelaskan bahwa segala sesuatu yang ada di planet ini, tidak diciptakan oleh Allah SWT dengan sia-sia dan bahwa segala sesuatu harus memiliki kelebihan masing-masing. Sama halnya dengan daun bidara, terdapat metabolit sekunder berupa flavonoid, sehingga memiliki keunggulan yaitu dapat

digunakan sebagai agen antimikroba atau antibakteri. Menurut Suhendra dkk. (2019) daun bidara mempunyai senyawa aktif berupa flavonoid, yang mana pada beberapa penelitian sebelumnya dikatakan bahwa senyawa flavonoid dapat digunakan untuk antibakteri.

## 2.2 Bidara (*Ziziphus mauritiana*)

*Ziziphus mauritiana* merupakan tumbuhan yang masuk ke dalam jenis pohon kecil dengan daun berwarna hijau, dan juga merupakan pohon penghasil buah. Tumbuh ini dapat dijumpai di daerah Afrika Utara serta Asia Barat. Bidara mampu bertahan hidup di daerah lembah dengan ketinggian kurang lebih 500 m. Tumbuhan ini di wilayah Indonesia banyak dijumpai di Sumbawa (Nusa Tenggara Barat) (Asy'syifa dkk., 2020). Tumbuhan bidara terkenal memiliki sifat antidiabetes, antiinflamasi, antiplasmodial, dan antimikroba, serta sifat hemolitik, sedatif, anxiolytic, diuretik, analgesik dan antioksidan (Akhtar dkk, 2016).

Klasifikasi dari tumbuhan bidara sesuai dengan yang telah ditulis di dalam buku milik Palejkar *et al* (2012) yaitu:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Rosales
Family	: Rhamnaceae
Genus	: <i>Ziziphus</i>
Spesies	: <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam.



**Gambar 2.1** Gambar *Ziziphus mauritiana* Lam. (Palejkar *et al.*, 2012)

### 2.3 Morfologi

Bidara (*Ziziphus mauritiana*) adalah tumbuhan yang dapat bertahan hidup pada lingkungan sedikit kering, dapat juga tumbuh di lahan yang memiliki tanah basa, tanah asin dan sedikit asam. Tinggi tumbuhan ini mencapai 1,5 m, memiliki perawakan batang yang tumbuh tegak dan juga menyebar dengan cabang menjuntai. Bidara termasuk tanaman yang di batangnya terdapat duri, durinya terletak pada ranting. Daunnya berwarna hijau atau setengah menguning. Tumbuhan bidara memiliki batang, akar, bunga, buah, dan daun (Raharjeng dan Anis, 2020).

### 2.4 Senyawa Aktif

Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanol daun bidara menunjukkan bahwa daun bidara mengandung metabolit sekunder seperti tanin, steroid, saponin dan flavonoid. Diketahui juga bahwa metabolit sekunder ini memiliki sifat antioksidan dan antibakteri. Mekanisme antibakteri dari saponin adalah meningkatkan permeabilitas atau kerusakan sel, sehingga senyawa yang ada di dalam bakteri akan keluar. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel dan kemudian mengikat membran sitoplasma, mengurangi stabilitas. Hal ini menyebabkan pelepasan sitoplasma di dalam sel, yang dapat menyebabkan apoptosis (Muharrami *et al.*, 2019).

Saponin dapat berperan sebagai antibakteri karena dapat membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen. Tujuannya untuk membunuh sel bakteri dengan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Muharrami *et al.*, 2019). Sedangkan, mekanisme dari flavonoid yang bekerja sebagai antibakteri ialah dengan menghambat dari sintesis asam nukleat sehingga memblokir pertumbuhan dari sel bakteri dan berakhir dengan matinya bakteri tersebut. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara memberikan reaksi pada membrane sel yaitu dengan menginaktivasi enzim atau menghambat sintesis enzim, sehingga dapat menyebabkan hilangnya viabilitas serta menyebabkan lisisnya sel bakteri (Hasanah, 2019).

## **2.5 Ekstraksi**

Ekstraksi ialah suatu proses penarikan senyawa terlarut dari larutannya dengan menggunakan suatu pelarut yang sesuai (Harianti dkk., 2016). Proses ekstraksi pada tumbuhan memiliki beberapa tahapan yaitu dilakukannya sortasi bagian tumbuhan seperti daun, bunga, akar, dan lain sebagainya. Kemudian dikeringkan dan digiling bagian tumbuhan yang akan diekstraksi tersebut. Tahapan selanjutnya adalah pemilihan pelarut yang akan dipakai untuk ekstraksi. Pelarut dalam metode ekstraksi terdapat tiga golongan, yang pertama yaitu pelarut polar seperti etanol, metanol, dan air. Pelarut jenis kedua dalam proses ekstraksi yaitu semipolar seperti etil asetat dan diklorometan, sedangkan jenis pelarut yang terakhir yaitu pelarut nonpolar seperti n-heksan, kloroform, dan petroleum eter (Mukhriani, 2014).

### 2.5.1 Cara Dingin

#### a. Maserasi

Maserasi yaitu satu dari beberapa metode untuk ekstraksi yang lebih sering digunakan. Tahap awal dari metode maserasi yaitu memasukkan serbuk tumbuhan ke dalam wadah inert dan ditambahkan pelarut yang sesuai kemudian ditutup rapat disimpan pada suhu ruang. Proses ekstraksi berakhir ketika kesetimbangan konsentrasi telah tercapai antara senyawa pada pelarut dengan konsentrasi pada sel tumbuhan. Setelah diekstraksi kemudian dilakukan pemisahan antara pelarut dengan sampel dengan cara disaring. Metode maserasi sendiri sebenarnya memiliki beberapa kerugian diantaranya membutuhkan pelarut dalam jumlah banyak, membutuhkan waktu yang cukup panjang, serta memiliki kemungkinan kehilangan beberapa dari senyawanya. Selain itu, terdapat beberapa senyawa yang sulit diekstraksi dengan menggunakan suhu ruang. Akan tetapi metode maserasi berguna untuk meminimalisir terjadinya kerusakan pada beberapa senyawa yang mempunyai sifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Maserasi adalah proses merendam sampel dalam pelarut organik pada suhu kamar. Metode maserasi sangat berguna dalam mengisolasi senyawa aktif. Hal ini karena ketika dinding sel direndam, lisis terjadi karena perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel. Setelah terjadinya pemecahan dinding sel maka senyawa aktif yang terdapat pada sitoplasma akan ikut terlarut ke dalam pelarut organik. Pelarut organik yang dipilih untuk maserasi juga memberikan pengaruh yang besar. Berdasarkan penelitian sebelumnya etanol adalah pelarut yang paling banyak dipakai pada proses maserasi untuk mengisolasi senyawa aktif (Hasrianti dkk., 2016).

Prinsip dari maserasi yaitu mengisolasi zat aktif dari suatu organ tumbuhan dengan cara direndam menggunakan pelarut yang sesuai serta disimpan di temperatur kamar dan juga tidak terdapat cahaya matahari. Kemudian pelarut organik berdifusi melalui dinding sel ke dalam sel dan akhirnya senyawa aktif di dalam sel larut dalam pelarut karena perbedaan konsentrasi larutan di luar sel dan di dalam sel. Larutan konsentrasi tinggi didorong keluar sel (proses difusi) sehingga dapat digantikan oleh pelarut konsentrasi rendah. Proses difusi berlanjut sampai tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel. Selama proses ekstraksi sesekali rendaman diaduk dan dilakukan penggantian cairan pelarut. Endapan yang telah didapat kemudian dipisahkan serta filtratnya dipekatkan. Metode maserasi memiliki beberapa keuntungan yaitu peralatan yang digunakan cukup sederhana, sedang untuk kerugiannya ialah membutuhkan waktu untuk mengekstrak sampel lumayan panjang, membutuhkan pelarut dalam jumlah banyak, metode maserasi tidak dapat diaplikasikan pada bahan-bahan dengan tekstur yang keras misalnya benzoin, lilin, serta tiraks (Hasrianti dkk., 2016).

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses pengeluaran pelarut organik di atas sampel sampai cairan pelarut mengambil beberapa senyawa organik dari sampel dan larut dengan pelarut. Akan tetapi efektivitas dari metode perkolasi dapat bekerja maksimal hanya pada senyawa aktif yang dapat dengan mudah larut bersama dengan pelarut yang digunakan (Hasrianti dkk., 2016).

### 2.5.2 Cara Panas

#### a. Sokletasi

Metode Soklet menggunakan bahan berbentuk Soklet untuk mensirkulasikan pelarut yang dapat terus menerus membasahi sampel, sehingga menghemat panas dan pelarut. Proses ini sangat bermanfaat untuk persediaan yang tidak terpengaruh oleh panas (Hasrianti dkk., 2016).

#### b. Digesti

Digesti adalah metode maserasi dengan pengadukan konstan pada suhu kamar, biasanya di atas 40-50 °C (Hasrianti dkk., 2016).

#### c. Infus

Infus adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut berupa air selama 15 menit pada suhu waterbath (waterbath direndam dalam waterbath mendidih diukur pada temperatur terukur 90°C) selama 15 menit (Hasrianti dkk., 2016).

#### d. Refluks

Metode refluks ialah metode ekstraksi dimana pelarut memiliki titik didih selama jangka waktu tertentu dan pelarut dalam jumlah yang terbatas dan relatif tetap ketika didinginkan kembali (Hasrianti dkk., 2016).

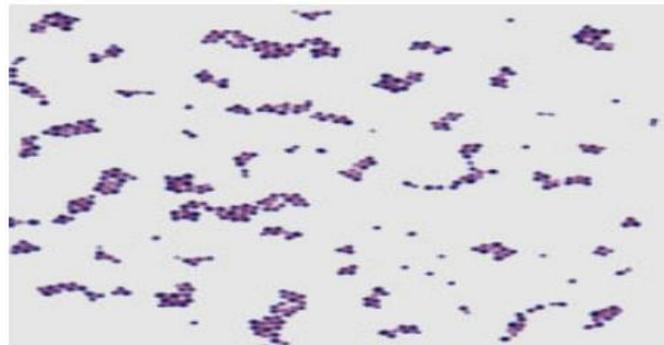
#### e. Dekok

Dekok adalah suatu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut cair berupa air pada suhu 90°C selama 30 menit (Hasrianti dkk., 2016).

## 2.6 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari bakteri *S. aureus* menurut Soedarto (2015):

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



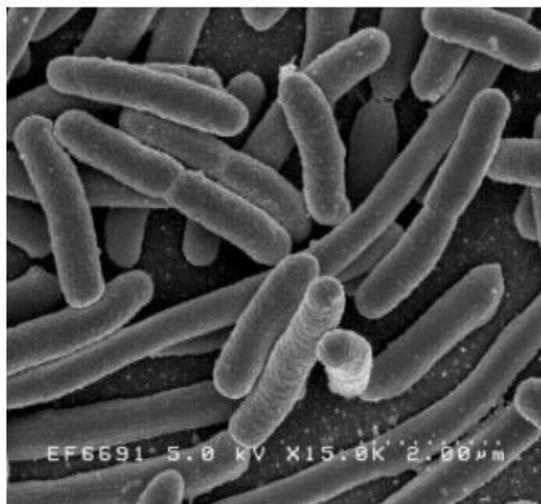
**Gambar 2.2** Bakteri *Staphylococcus aureus* (Mamza *et al.*, 2016)

Bakteri *S. aureus* termasuk kedalam bakteri patogen yang dapat menjadi penyebab terjadinya infeksi endokarditis, infeksi kulit, saluran kemih, saluran pencernaan, pernapasan, infeksi pada aliran darah (Mamza *et al.*, 2016). *S. aureus* masuk ke dalam kelompok bakteri gram positif dengan bentuk sel berupa kokus dengan diameter antara 0,5 sampai 1,0 mm. Bakteri *S. aureus* biasanya mengelompok yang menyerupai buah anggur berantai pendek atau berpasangan. *S. aureus* tidak membentuk spora serta tidak dapat bergerak (Karimela dkk., 2017).

## 2.7 Bakteri *Escherichia coli*

Sutiknowati (2016) menuliskan klasifikasi dari bakteri *E. coli* sebagai berikut:

Domain : Bacteria  
Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gammaproteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*



**Gambar 2.3** Bakteri *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016)

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang digolongkan pada golongan bakteri gram negatif yang memiliki bentuk sel seperti batang serta diameter 0,5 mikrometer dan juga panjang 2 mikrometer. Volume dari bakter *E. coli* berkisar antara 0,6 sampai 0,7 m<sup>3</sup>. Bakteri *E.coli* dapat hidup pada suhu antara 20 °C dan

40 °C, dengan suhu pertumbuhan optimal 37 °C. *E. coli* biasanya bisa ditemukan pada usus besar manusia (Sutiknowati, 2016).

## **2.8 Antibakteri**

Agen antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mencegah pertumbuhan bakteri, terutama bakteri patogen berbahaya. Senyawa aktif yang dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang berindikasi dapat menjadi penyebab infeksi baik bagi manusia, hewan serta tumbuhan juga harus memiliki sifat toksisitas selektif. Maksudnya senyawa tersebut wajib memiliki sifat toksik pada bakteri penyebab infeksi, akan tetapi senyawa tersebut tidak bersifat toksik pada inang atau hospesnya (Asy'syifa dkk., 2020).

Antibakteri yaitu senyawa aktif yang bisa dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Biasanya antibakteri dapat ditemukan dalam suatu organisme tumbuhan berupa senyawa metabolit sekunder. Senyawa tersebut dapat bekerja sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas membran sel, menghambat kerja sintesis protein, serta dapat mengganggu kerja enzim. Adapun beberapa senyawa metabolit sekunder yang fungsinya untuk merusak dari dinding sel yaitu fenol, alkaloid, serta flavonoid. Beberapa senyawa yang telah disebutkan tadi dapat dimanfaatkan untuk antibakteri terhadap bakteri patogen seperti *E. coli* dan *S. aureus* (Septiani dkk., 2017).

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen. Sampel tumbuhan bidara (*Ziziphus mauritiana*) diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk, Jawa Timur. Rancangan penelitian dari uji zona hambat adalah rancangan acak lengkap dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Adapun pada skrining fitokimia, uji konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) deskriptif eksploratif.

### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan pada 23 Agustus hingga 5 November 2021 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.3 Variabel Penelitian**

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu konsentrasi dari ekstrak daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Variabel terikat dari penelitian ini yaitu diameter dari zona hambat, uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan uji KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Variabel terkontrol atau variabel kontrol dari penelitian ini yaitu variabel yang dikontrol agar memiliki kondisi yang sama seperti pada temperatur, waktu, inkubasi, serta media yang dipakai.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Adapun alat yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu untuk proses ekstraksi dan uji skrining fitokimia adalah wadah maserasi, *rotary vacuum evaporator*, timbangan analitik, botol vial, aluminium foil, beaker glass, kertas saring, pipet tetes, tabung reaksi, gelas ukur, rak tabung, dan bunsen. Selain itu, alat yang diperlukan untuk pengujian antibakteri antara lain ose, autoklaf, mikropipet, erlenmeyer, cawan petri, laminar flow, hot plate, tisu, kertas label, inkubator, dan rak tabung.

#### **3.4.2 Bahan**

Adapun bahan penelitian yang dibutuhkan yaitu daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*), bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus*. Bahan proses ekstraksi yaitu etanol 70%. Bahan yang dibutuhkan dalam pengujian antibakteri yaitu media *Mueller-Hiton Broth* (MHB), *Mueller-Hiton Agar* (MHA), NaCl 0,9%, aquades, tetrasiklin, alkohol 70%, aluminium foil, kapas, kasa, dan plastik wrap. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah HCl pekat, serbuk magnesium, pereaksi Burchard, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff dan FeCl<sub>3</sub> 1%.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Persiapan Sampel**

Organ tumbuhan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah daun bidara dalam kondisi segar, dipetik saat fotosintesis maksimal pada pukul 9-10 pagi. Daun biadara yang telah dipetik selanjutnya disortasi dan dicuci (Taufiq, 2018). Daun bidara dikeringkan dengan menggunakan oven pada temperatur 50°C

selama 3-4 hari (hingga simplisia ketika diremas dapat hancur). Kemudian daun bidara kering digiling hingga menjadi serbuk dan diayak serta ditimbang sebanyak 100 gram (Suhendra, 2019).

### **3.5.2 Ekstraksi Sampel**

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian kali ini adalah metode maserasi. Serbuk dari daun Bidara ditimbang 100 gram dan diletakkan ke dalam wadah tempat maserasi. Kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 600 mL etanol 70%, setelah itu sampel disimpan di tempat yang tidak terdapat cahaya matahari. Perendaman sampel dilakukan dalam kurun waktu 3 hari serta sesekali diaduk. Jika proses perendaman sudah selesai kemudian sampel disaring, untuk ampasnya dilakukan maserasi ulang dengan menggunakan pelarut etanol 70% yang baru sebanyak 600 mL. Tahap selanjutnya yaitu pemisahan filtrat dari pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 50°C sehingga akan diperoleh ekstrak yang pekat. Pada proses evaporasi dilakukan 2-3 jam bertujuan agar dapat menghilangkan pelarut etanol 70%. Ekstrak pekat yang didapat dari sampel dipakai untuk identifikasi metabolit sekundernya dan uji antibakteri (Taufiq, 2018).

### **3.5.3 Uji Fitokimia**

#### **A. Identifikasi Flavonoid**

Setelah ekstrak dilarutkan dalam air suling yang dipanaskan, 0,5 ml ekstrak ditambahkan dengan pipet, ditambahkan bubuk Mg secukupnya, kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika berubah menjadi merah

muda, merah tua, atau jingga, berarti mengandung flavonoid (Nigussie *et al.*, 2021).

### **B. Identifikasi Alkaloid**

Ekstrak dilarutkan menggunakan aquades yang dipanaskan kemudian dipipet 0,5 ml ke dalam 3 tabung kemudian ditambahkan pereaksi Burchard, Mayer, dan Dragendorff dari masing-masing tabung. Mengandung alkaloid dengan endapan putih atau kuning, endapan Bouchard coklat dan endapan Dragendorf oranye (Nigussie *et al.*, 2021).

### **C. Identifikasi Tanin**

Setelah ekstrak dilarutkan dalam air suling yang dipanaskan, ditambahkan 0,5 ml dengan pipet, kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika warnanya berubah menjadi hijau, biru, ungu, biru tua, atau coklat kehitaman, dikatakan positif tanin (Nigussie *et al.*, 2021).

### **D. Identifikasi Saponin**

Setelah melarutkan ekstrak dalam air suling yang dipanaskan, tambahkan 0,5 ml dengan pipet, tambahkan 2 ml air panas, kocok kuat-kuat hingga membentuk gelembung, tambahkan 1 tetes asam klorida pekat. Jika busanya kuat, berarti mengandung saponin (Nigussie *et al.*, 2021).

### 3.5.4 Uji Antibakteri

#### A. Sterilisasi alat

Alat dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Sedangkan api bunsen digunakan untuk membakar pinset dan jarum ose (Pinta dkk., 2017).

#### B. Media MHB (Mueller Hinton Broth)

Media *Mueller Hinton Broth* (MHB) sebanyak 6,3 gram dilarutkan ke dalam 300 mL aquades pada erlenmeyer. Larutan dididihkan dengan suhu 200°C diatas *hot plate* diaduk dengan menggunakan *magnetik stirer* sampai homogen berwarna kuning jernih. Tutup erlenmeyer hingga rapat dengan memakai kapas dan disterilisasikan selama 15 menit dengan autoklaf pada temperatur 121°C (HiMedia, 2019).

#### C. Media MHA (Mueller Hinton Agar)

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) merupakan media yang secara khusus diformulasikan untuk pengujian kerentanan (Hudaya dkk, 2014). Media MHA dibuat dengan menggunakan 19 gram media dengan pelarut yang digunakan 500 mL aquades, selanjutnya dipanaskan sambil diaduk memakai *magnetik stirer* hingga homogen. Terakhir media MHA disterilkan pada autoklaf dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit pada temperatur 121°C (HiMedia, 2018).

#### D. Peremajaan Bakteri

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dari stok disiapkan. Media MHA steril ditempatkan dalam cawan petri steril kemudian dibiarkan memadat. Satu ose

bakteri diambil dari stok kemudian diinokulasi dengan cara mengikis media (streak plate). Bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (HiMedia, 2018).

### **E. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Setelah menyiapkan biakan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, mereka diinokulasikan dalam media MHB dan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, satu koloni bakteri diambil dan diinokulasi ke dalam 10 ml larutan NaCl 0,9%. Tabung kemudian dikocok hingga homogen dan standar kekeruhannya Mc Farland 0,5 ( $10^8$  CFU/mL) (Nigussie, 2021) dan uji mikrodilusi cair yakni  $5 \times 10^5$  CFU/mL (Gambar 3.1).

Komposisi larutan standar McFarland terdiri dari 0,05 ml larutan barium klorida 1,175% dan 9,95 ml asam sulfat 1%. Langkah kerja pembuatan larutan standar McFarland adalah dengan menempatkan barium klorida dan asam sulfat dalam tabung reaksi kemudian dihomogenkan. Jika kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan McFarland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah  $10^8$  CFU/mL (Fatisa, 2013).

### **F. Uji Zona Hambat**

Media MHA steril dituangkan secukupnya ke dalam cawan petri steril. Diinokulasikan suspensi bakteri *E. coli* serta *S. aureus* sebanyak 100 µL pada permukaan media agar, diratakan dengan *cotton swab* dan didiamkan hingga mengering. Dibuat zona triplo pada permukaan bawah cawan petri. Disiapkan ekstrak daun dengan konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%, kontrol negatif (aquades steril) dan kontrol positif (tetrasiklin) (Effendi dkk.,

2014). Tetrasiklin termasuk antibiotik yang mampu mengganggu proses sintesis protein bakteri, sehingga menjadi antibiotik pilihan yang digunakan sebagai penghambat pertumbuhan dari bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Fatimah dkk., 2016).

Celupkan kertas cakram (diameter 6 mm) ke dalam ekstrak daun selama 30 menit, lalu letakkan di atas media agar. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Balouiri *et al.*, 2016). Daerah bening yang ada di sekitar kertas cakram menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak daun tersebut. Diameter zona hambatan diukur dalam milimeter (mm) dengan jangka sorong. (Effendi dkk., 2014).

**Tabel 3.1** Pengukuran zona hambat yaitu (Sungkar dkk., 2018)

$$\text{Diameter zona hambat} = \text{Diameter zona bening} - \text{Diameter kertas cakram}$$

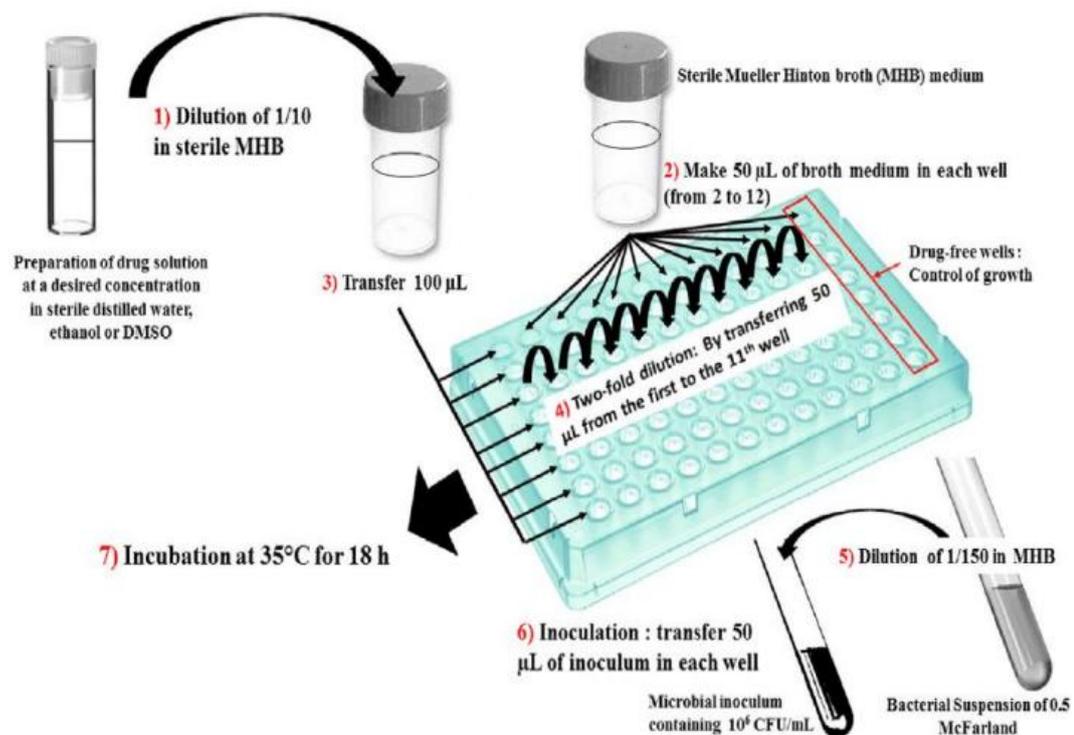
**Tabel 3.2** Kategori diameter zona hambat (Pagraputri, 2016)

Diameter	Kategori
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

### G. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Mengacu pada penelitian sebelumnya Devi & Deepak (2009) pada uji KHM digunakan konsentrasi bertingkat dengan konsentrasi setengah dari konsentrasi sebelumnya. Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak daun bidara yang digunakan yaitu konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, K+ (tetrasiklin) dan K- (aquades steril). Larutan uji dengan konsentrasi 100% diencerkan ke dalam media MHB steril dengan perbandingan 1:10. Kemudian dipipet 200  $\mu$ L larutan (konsentrasi 100%) ke dalam sumuran pertama *well-96*. Dilakukan pengenceran

bertingkat dari larutan ekstrak (konsentrasi 100%) dengan cara dipipet 100  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak lalu dimasukkan ke dalam sumuran setelahnya yang telah diisi 100  $\mu\text{L}$  media MHB steril, dilakukan cara yang sama hingga sumuran kelima. Pembuatan suspensi bakteri uji dengan membuat suspensi bakteri yang kekeruhannya sama dengan larutan Mc Farland, kemudian diencerkan suspensi tersebut pada media MHB steril dengan perbandingan 1:150 (Gambar 3.1)



**Gambar 3.1** Langkah kerja uji konsentrasi hambat minimum

Inkubasi dilakukan selama 24 jam di dalam inkubator selanjutnya dilakukan pengamatan pada kekeruhan media (Pinta dkk., 2017). Pertumbuhan dari bakteri mampu diketahui dengan cara pengamatan dengan mata telanjang pada media yang mengeruh. Semakin banyak bakteri yang tumbuh pada media, maka tingkat kekeruhan media akan semakin tinggi. Pembacaan aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara memberikan penilaian menggunakan notasi

(+++) untuk media yang sangat keruh, (++) untuk media tampak keruh, (+) media sedikit keruh, serta (-) media jernih (Effendi dkk., 2014).

#### **H. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)**

Pengujian KBM dilaksanakan dengan menggunakan metode dilusi agar, yaitu dengan menginokulasi bakteri ke dalam media agar dengan metode *pour plate*. KBM ditentukan dengan melakukan pengamatan ada tidaknya bakteri yang tumbuh dalam media agar setelah diinkubasi. Dinyatakan positif KBM dilihat dari konsentrasi terendah yang menunjukkan kematian bakteri (tidak ada bakteri yang tumbuh) (Fitriana dkk., 2019).

Tujuan lain dari uji KBM yaitu untuk mengkonfirmasi hasil dari uji KHM. Setiap sumuran pengenceran dari uji KHM dipipet sebanyak 10  $\mu$ L dan dipindahkan ke cawan petri steril kemudian diisi dengan media MHA steril (*pour plate*). Terakhir media diinkubasi selama 24 jam dengan temperatur 37°C. Selanjutnya dilakukan perhitungan koloni bakteri yang tumbuh dari setiap cawan petri (Schwalbe *et al.*, 2007). Perhitungan koloni bakteri dilaksanakan dengan cara diamati secara langsung serta dihitung menggunakan *digital colony counter* (Yunita dkk., 2015).

#### **3.6 Interpretasi Jumlah Koloni**

Interpretasi jumlah koloni bakteri dihitung sesuai dengan standar *Total Plate Count* (30-300 koloni/cawan). Perhitungan pada koloni menggunakan alat *colony counter* dengan syarat dalam perhitungan koloni sebagai berikut (APHA, AWWA, WEF., 2005):

1. Dinyatakan satu koloni jika berdiri sendiri (tidak tumpang tindih atau bergabung dengan koloni lain dan terdapat jarak antar koloni).
2. Dihitung satu koloni jika ditemukan suatu koloni saling tumpang tindih atau bersinggungan dengan koloni lain.
3. Dihitung satu koloni jika ditemukan suatu koloni berantai atau bergabung yang tidak dapat dibedakan secara jelas koloni penyusunnya. Sedangkan apabila koloni berantai yang saling tumpang tindih dapat dibedakan koloni penyusunnya, maka setiap koloni yang berbeda dihitung satu koloni.
4. Dihitung satu koloni jika ditemukan suatu koloni yang menyebar (*spreader*) dengan karakter sebagai berikut:
  - a. Membentuk koloni berantai yang tidak dapat dibedakan dengan jelas koloni penyusunnya.
  - b. Koloni yang tumbuh di antara agar dengan bagian bawah agar.
  - c. Koloni yang tumbuh pada bagian lapisan air tipis di permukaan agar atau bagian tepi agar.

### **3.7 Analisis Data**

Analisis data dari uji skrining fitokimia dilakukan dengan secara deskriptif kualitatif. Analisis data dari uji zona hambat yaitu dengan uji *One Way Anova* pada setiap bakteri, jika nilainya signifikan maka kemudian diuji lanjut dengan uji DMRT. Analisis data uji KHM dilihat dari kekeruhan pada media yang diamati secara langsung dengan mata telanjang kemudian dianalisis secara deskriptif, selanjutnya diberi penilaian menggunakan notasi (++) untuk media tampak keruh, (+) media agak keruh, dan (-) media jernih. Analisis data uji KBM yaitu dengan

dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media agar dengan menggunakan *colony counter (Total Plate Count)* (Yunita dkk., 2015).

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Data kandungan senyawa fitokimia ekstrak daun bidara diperoleh dengan skrining fitokimia. Data hasil aktivitas antibakteri dari bahan uji ekstrak daun bidara didapat melalui skrining fitokimia, uji zona hambat, uji konsentrasi hambat minimum (KHM), dan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM). Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif kuantitatif.

#### **4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Bidara**

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendapatkan informasi metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun bidara. Penapisan fitokimia dilakukan secara kualitatif dan senyawa yang diuji adalah flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Hasil dari skrining fitokimia secara kualitatif pada ekstrak daun bidara dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun bidara

Senyawa	Ekstrak Daun Bidara	Keterangan
Flavonoid	+	Berwarna jingga
Tanin	+	Berwarna hijau kehitaman
Saponin	+	Terbentuk busa permanen
Alkaloid	-	Tidak ada endapan putih

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada daun bidara yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk diketahui bahwa daun bidara tersebut mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, dan tanin. Menurut penelitian sebelumnya oleh Usman dkk. (2021) yang juga telah melakukan skrining fitokimia pada daun bidara yang diambil dari desa Mattiro Langi Pulau Sarappo Lompo Pangkep Sulawesi Selatan positif mengandung senyawa aktif berupa tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid.

Elfasyari dkk. (2019) juga menambahkan bahwa hasil skrining fitokimia dari daun bidara yang di ambil dari kota Pekanbaru, Riau diketahui memiliki senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, dan juga saponin.

Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk tidak ditemukannya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, sedangkan pada penelitian yang diambil dari lokasi berbeda ditemukan senyawa alkaloid. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan adanya pengaruh dari faktor biotik dan abiotik serta faktor genetiknya. Menurut Radusiene *et al.* (2012) tanaman dari spesies yang sama tumbuh di lingkungan yang berbeda mungkin memiliki perbedaan konsentrasi metabolit sekunder tertentu. Hal tersebut dikarenakan tanaman selalu berinteraksi dengan lingkungan sekitarnya, mereka bersentuhan dengan komponen abiotik yang berbeda seperti air, cahaya, suhu, tanah dan bahan kimia (mineral/pupuk). Jumlah komponen abiotik yang sedikit banyak ini menyebabkan stres pada tanaman yang pada akhirnya menyebabkan variasi dalam produksi atau akumulasi senyawa metabolit sekundernya. Selain itu Verma *et al.* (2015) mengatakan beberapa penelitian genetik melaporkan bahwa produksi metabolit sekunder pada tanaman berada di bawah kendali genetik, sehingga hal tersebut mempengaruhi adanya perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada setiap tanaman.

Perbedaan lokasi memberikan pengaruh besar terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder suatu tanaman. Pada lokasi pengambilan sampel daun bidara terdapat pada daerah dataran rendah dengan ketinggian 45 m di atas permukaan laut. Menurut Sholekah (2017) ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Akibatnya

serangkaian proses metabolisme pada tanaman tersebut juga akan terganggu sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat.

Senyawa metabolit sekunder pertama yang terdapat pada ekstrak daun bidara yaitu flavonoid. Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang paling berperan penting dalam pengujian antibakteri. Seperti yang dikatakan oleh Adamczak *et al.* (2020) bahwa senyawa metabolit sekunder yang berperan penting dalam mekanisme antibakteri yaitu flavonoid, hal tersebut dikarenakan flavonoid mampu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dengan mempengaruhi permeabilitas serta mengganggu kinerja beberapa enzim penting.

Selain flavonoid, terdapat juga senyawa metabolit sekunder berupa tanin pada ekstrak daun bidara. Pada penelitian sebelumnya juga telah dijelaskan bahwa tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antimikroba atau antibakteri. Seperti yang dikatakan oleh Farha *et al.* (2020) tanin dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroba, seperti bakteri, jamur, dan khamir. Sifat struktur tanin berkontribusi pada aktivitas antibakterinya. Ekambaram *et al.* (2016) menambahkan sebagai polifenol makromolekul, tanin mengandung banyak hidroksi fenolik, yang merupakan salah satu alasan mengapa tanin menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat.

Senyawa metabolit sekunder terakhir yang ditemukan pada ekstrak daun bidara pada penelitian ini yaitu saponin. Saponin sendiri merupakan senyawa metabolit sekunder yang hampir pada semua tanaman ada, hal tersebut dikarenakan saponin berfungsi untuk melindungi tanaman tersebut dari serangan

hama maupun mikroba patogen. Ravi *et al.* (2016) menjelaskan bahwa saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada seluruh *kingdom* tumbuhan, hal tersebut ditandai dengan adanya saponin pada jaringan tanaman yang sebagian besar rentan terhadap serangan jamur atau bakteri. Zhao *et al.*(2020) menambahkan bahwa saponin memiliki efek bakteristatik yang baik, yang dapat mengubah permeabilitas membran, menghancurkan struktur membran sel, dan menghambat pertumbuhan bakteri.

#### **4.2 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji Zona Hambat**

Uji zona hambat pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun bidara terhadap bakteri uji berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Uji zona hambat kali ini menggunakan metode difusi cakram. Uji zona hambat dilakukan dengan mencelupkan kertas cakram berukuran 6 mm ke dalam ekstrak daun bidara dan meletakkannya pada media agar yang telah diinokulasi bakteri uji dengan menggunakan *cotton swab*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam uji zona hambat yaitu 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%.

**Tabel 4.2** Analisis data zona hambat bakteri *S. aureus*

Perlakuan	Rata-Rata (mm) $\pm$ SD	Kategori
K-	0 $\pm$ 0	Lemah
Ekstrak 40%	4,00 $\pm$ 0,58	Lemah
Ekstrak 50%	6,01 $\pm$ 0,42	Sedang
Ekstrak 60%	6,44 $\pm$ 0,91	Sedang
Ekstrak 70%	7,42 $\pm$ 0,53	Sedang
Ekstrak 80%	8,01 $\pm$ 0,48	Sedang
Ekstrak 90%	9,54 $\pm$ 1,91	Sedang
Ekstrak 100%	10,97 $\pm$ 2,47	Kuat
K+	16,11 $\pm$ 4,13	Kuat

Keterangan :

K+ (kontrol positif) : Tetrasiklin

K- (Kontrol negatif) : Aquades steril

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara dapat berperan sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. (Gambar zona hambat dapat dilihat pada lampiran 6.2). Data dari penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan uji *One Way Anova*. Karena persyaratan uji *One Way Anova* adalah data harus mengikuti distribusi normal dan memiliki variansi yang homogen, normalitas dan homogenitas data harus diperiksa sebelum uji *One Way Anova* (Febriansari, 2018). Data pertama yang dianalisis yaitu data dari uji zona hambat *S. aureus*.

Hasil dari uji normalitas data zona hambat pada *S. aureus* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal (Lampiran 7.1.1). Jelas bahwa data bakteri *S. aureus* berdistribusi normal, karena didasarkan pada nilai signifikansi semua konsentrasi uji  $> \alpha = 0,05$ . Selain itu, pada uji homogenitas ditunjukkan nilai signifikansi  $0,06 > \alpha = 0,05$  yang menunjukkan homogenitas data. (Lampiran 7.1.2). Setelah dilakukan pengecekan normalitas dan homogenitasnya maka dilakukan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* adalah signifikansi 0,00

$< \alpha = 0,05$  sehingga hasilnya signifikan, hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian ekstrak daun bidara untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Lampiran 7.1.3).

Berdasarkan rata-rata dari diameter zona hambat juga dapat disimpulkan kategori dari zona hambat pada *S. aureus*. Pada konsentrasi 40% dengan diameter rata-rata zona hambat sebesar  $4,00 \pm 0,58$  mm dikategorikan kedalam kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% termasuk ke dalam kategori sedang. Konsentrasi 100% masuk ke dalam kategori kuat, dikarenakan memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar  $10,97 \pm 2,47$  mm.

**Tabel 4.3** Analisis data zona hambat bakteri *E. coli*

Perlakuan	Rata-Rata (mm) $\pm$ SD	Kategori
K-	$0 \pm 0$	Lemah
Ekstrak 40%	$1,24 \pm 0,22$	Lemah
Ekstrak 50%	$1,57 \pm 0,47$	Lemah
Ekstrak 60%	$2,68 \pm 0,53$	Lemah
Ekstrak 70%	$3,21 \pm 0,64$	Lemah
Ekstrak 80%	$3,54 \pm 0,51$	Lemah
Ekstrak 90%	$3,71 \pm 0,41$	Lemah
Ekstrak 100%	$5,26 \pm 0,45$	Sedang
K+	$16,17 \pm 3,81$	Kuat

Keterangan :

K+ (kontrol positif) : Tetrasiklin

K- (Kontrol negatif) : Aquades steril

Data kedua yang dianalisis yaitu data *E. coli* (Gambar zona hambat dapat dilihat pada lampiran 6.2), sama halnya seperti pada data *S. aureus* data ini juga harus diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasil dari uji normalitas data *E. coli* dapat diketahui bahwa nilai signifikansi dari semua konsentrasi  $> \alpha = 0,05$ , sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal (Lampiran 7.2.1). Selain itu hasil dari uji homogenitas diperoleh nilai signifikansinya  $0,07 > \alpha = 0,05$  yang berarti bahwa data homogen (Lampiran 7.2.2). Hasil dari uji *One Way*

*Anova* diperoleh signifikansi  $0,00 < \alpha = 0,05$  sehingga hasilnya signifikan, yang artinya terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun bidara untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (Lampiran 7.2.3).

Tabel 4.3 menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat untuk setiap konsentrasi dan kategori. Konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% dari rerata diameter zona hambat diklasifikasikan sebagai kategori lemah. Jika rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 100% adalah  $5,26 \pm 0,45$  mm termasuk dalam kategori sedang.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%, hal tersebut dikarenakan pada penelitian sebelumnya konsentrasi ekstrak 40% tidak terdapat pengaruh antibakteri terhadap bakteri *E. Coli*. Hasil penelitian Muharrami *et al.* (2019) bahwa pada ekstrak daun bidara yang diujikan pada bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat 1,36 mm pada konsentrasi 40%, konsentrasi 30% 1,22 mm, konsentrasi 20% sebesar 0,92 mm dan konsentrasi 10% tidak terdapat zona hambat. Berbeda dengan hasil uji pada bakteri *E. coli* dari konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% yang tidak ditemukan aktivitas antibakteri atau tidak terdapat zona hambatnya.

Data dari uji zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara dapat bekerja sebagai antibakteri paling besar yaitu pada *S. aureus*, pada bakteri *E. coli* terdapat aktivitas antibakteri akan tetapi tidak sebesar pada *S. aureus*. Hal tersebut terjadi dikarenakan pada *S. aureus* dan *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang berbeda, sehingga kemampuan ekstrak dalam menembus dinding sel untuk melakukan aktivitas antibakteri pun juga berbeda. Seperti yang telah dijelaskan oleh Soleimani *et al.* (2015) bawa aktivitas ekstrak antibakteri memberikan hasil

lebih baik pada bakteri gram positif (*S. aureus*) dibandingkan dengan bakteri gram negatif (*E. coli*).

Perbedaan aktivitas antibakteri daun bidara terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* kemungkinan disebabkan oleh perbedaan dinding sel kedua bakteri tersebut. Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari sejumlah besar peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan ini terdiri atas jaringan yang memiliki banyak pori, yang mana hal tersebut menyebabkan penetrasi eksogen ke dalam sel. Berbeda dengan dinding sel pada bakteri gram positif, bakteri gram negatif dinding selnya terdiri dari membran peptidoglikan pada lapisan dalam serta terdapat membran luar yang terdiri atas fosfolipid, lipoprotein, dan lipopolisakarida. Struktur dinding sel bilayer pada bakteri gram negatif ini menjadi salah satu faktor penghalang yang kuat terhadap molekul asing yang akan mencoba menembus dinding sel bakteri (Feng, *et al.* 2000).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Mardhiyani dkk. (2021) juga menjelaskan adanya aktivitas antibakteri dari daun bidara terhadap bakteri *S. aureus*. Hanya saja daun bidara dari penelitian tersebut diambil dari Pekanbaru, Riau yang mana menggunakan konsentrasi uji sebesar 30%, 50%, dan 70%. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa diperoleh nilai zona hambat dari konsentrasi 30% sebesar 8,39 mm, konsentrasi 50% sebesar 10,64 mm, dan konsentrasi 70% sebesar 12 mm.

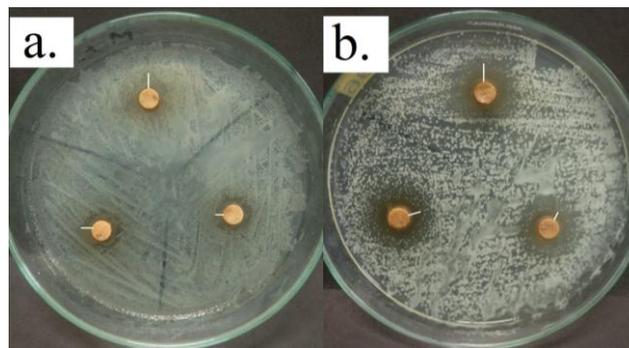
Adanya perbedaan hasil dari penelitian ini dengan penelitian sebelumnya disebabkan karena beberapa faktor, salah satunya karena daun bidara yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri diambil dari lokasi yang berbeda. Perbedaan lokasi tersebut memberikan pengaruh juga terhadap kandungan

senyawa metabolit sekunder pada daun bidara. Pada penelitian ini daun bidara diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk yang memiliki ketinggian 45 m di atas permukaan laut dengan curah hujan berada pada angka 1400-1900 mm per tahun serta kelembaban antara 67%-84%. Berbeda dengan daerah penelitian sebelumnya di Pekanbaru Riau memiliki ketinggian 50 m di atas permukaan laut dengan curah hujan 38,6-435 mm per tahun serta kelembaban 96%-100%. Perbedaan ketinggian, curah hujan, serta kelembaban dapat menjadi salah satu penyebab hasil uji antibakteri yang berbeda. Menurut Katuuk dkk. (2020) bahwa kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik internal maupun eksternal. Adapun faktor internal yang mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman yaitu gen, sedangkan faktor eksternalnya berupa suhu, pH, cahaya matahari, kelembaban, ketinggian tempat, dan kandungan unsur hara pada tanahnya.

Hasil pengamatan pada diameter zona hambat dari kontrol positif yaitu pada *S. aureus* memiliki diameter  $16,11 \pm 4,13$  mm, sedangkan diameter zona hambat kontrol positif pada bakteri *E. coli* yaitu sebesar  $16,17 \pm 3,81$  mm. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan obat antibakteri tetrasiklin. Kemudian, hasil zona hambat dari kontrol negatif yang menggunakan aquades steril yaitu tidak menghasilkan zona hambat atau tidak memiliki potensi antibakteri. Menurut Mulyono dkk. (2016) di dalam jurnalnya dijelaskan bahwa penggunaan aquades steril sebagai kontrol negatif adalah mutlak untuk menyingkirkan kemungkinan adanya aktivitas antibakteri.

Antibiotik dari golongan tetrasiklin menunjukkan efektivitas antibakteri yang luas, terutama dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Tetrasiklin banyak digunakan sebagai obat untuk infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri gram positif dan gram negatif (Sumardjo, 2009). Cara kerja dari tetrasiklin sebagai antibakteri yaitu dengan menargetkan pada sintesis protein. Sintesis protein sendiri merupakan prekursor penting biosintesis makromolekul yang merupakan proses penting dari pertumbuhan mikroba dan homeostasis (Zhanel *et al.*, 2019).



**Gambar 4.1** Hasil pengamatan uji zona hambat dari ekstrak daun bidara konsentrasi 100% terhadap bakteri a. *E. coli* dan b. *S. aureus*

Metode difusi cakram pada uji zona hambat dalam beberapa penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya pH, suhu inkubasi, kemampuan difusi antibakteri ke dalam media, stabilitas bahan uji, ukuran molekul, zat inhibitor, serta sifat dari media (Jawetz dkk., 2005). Selain itu Nurmila (2009) di dalam bukunya dituliskan juga bahwa uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram dapat dipengaruhi oleh jenis antimikrobanya (dapat berupa konsentrasi ekstrak atau kepolarannya), kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak serta bahan yang ikut terbawa oleh ekstrak, dan juga jenis dari mikroba uji yang digunakan. Nurmilah juga menuliskan bahwa efektivitas dari senyawa antibakteri juga dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksinya.

### 4.3 Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Uji Mikrodilusi

#### 4.3.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Parameter kedua pada penelitian ini yaitu uji KHM. Uji KHM dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui standar konsentrasi ekstrak terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Selain itu tujuan utama dilakukannya uji KHM ini yaitu untuk memperoleh perspektif klinis penentuan dosis yang efektif untuk mengoptimalkan menghambat pertumbuhan bakteri serta meminimalkan adanya peluang resistensi (Dorey *et al.*, 2016). Kurniawan dkk. (2019) juga menambahkan penentuan nilai KHM dilakukan berdasarkan nilai kekeruhan dari suspensi setiap bakteri uji dengan menggunakan metode serial dilusi yaitu membandingkan turbiditas awal dan akhir. Adapun hasil dari uji KHM pada penelitian ini telah dituliskan pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4** Hasil uji konsentrasi hambat minimum

Perlakuan	Mikroba Uji	Ulangan	Konsentrasi				
			100%	50%	25%	12,5%	6,25%
Ekstrak daun bidara	<i>E. coli</i>	U1	-	+	++	++	+++
		U2	-	+	++	++	+++
		U3	-	+	++	+++	+++
	<i>S. aureus</i>	U1	-	-	+	+++	+++
		U2	-	-	++	++	+++
		U3	-	-	+	+++	+++
K+	<i>E. coli</i>	U1	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	U1	-	-	-	-	-
K-	<i>E. coli</i>	U1	++	++	++	++	++
	<i>S. aureus</i>	U1	++	++	++	++	++

Keterangan:

(- : Jernih, +: Sedikit Keruh, ++: Keruh, +++: Sangat Keruh)

: Positif KHM

K+ (Kontrol positif) : Tetrasiklin

K- (Kontrol negatif) : Aquades steril

Hasil dari uji KHM dianalisa berdasarkan konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya bakteri yang tumbuh pada media (media tampak jernih) setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam. Data dari pengamatan tersebut dipakai sebagai konsentrasi acuan untuk menentukan dosis terendah antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Mahboubi *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil dari uji KHM secara kualitatif (Gambar pengamatan uji KHM dapat dilihat pada lampiran 6.3) diketahui bahwa nilai positif KHM dari ekstrak daun bidara terhadap bakteri *S. aureus* yaitu terdapat pada konsentrasi 50%, sedangkan pada bakteri *E. coli* hasil KHM terdapat pada konsentrasi 100%. Menurut Sepriana dkk. (2017) menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri bekerja lebih baik pada bakteri gram positif karena struktur monolayer dinding sel yang relatif sederhana, memungkinkan senyawa antimikroba untuk menembus lebih mudah ke dalam sel. Rahmawati dkk. (2014) menambahkan bahwa dikarenakan dinding sel bakteri *S. aureus* tidak memiliki lapisan lipopolisakarida, senyawa antibiotik lebih mudah menembus sel dan melisis sel bakteri.

Hasil uji KHM pada bakteri *E. coli* konsentrasi minimum ekstrak daun bidara yang mampu bekerja untuk menghambat pertumbuhan bakteri yaitu pada konsentrasi 100%. Hal tersebut dikarenakan dinding sel pada bakteri *E. coli* tersusun dari dua lapis, sehingga senyawa metabolit sekunder akan susah untuk masuk ke dalam sel. Kurniawan dkk. (2019) menuliskan bahwa bakteri gram negatif jauh lebih resisten daripada bakteri gram positif karena mereka memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks. Sepriana dkk. (2017) menambahkan bahwa bakteri gram negatif lebih resisten terhadap senyawa antimikroba karena memiliki dinding sel yang berlapis.

### 4.3.2 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum

Guna mengkonfirmasi hasil uji KHM dilakukan uji KBM. Penentuan hasil uji KBM dilakukan secara kuantitatif yaitu dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*. Sampel yang diuji yaitu semua konsentrasi dari masing-masing sumuran yang diambil sebanyak 100  $\mu$ L, kemudian dituangkan pada cawan petri steril lalu ditambahkan media agar yang masih cari dan diratakan. Metode yang digunakan dalam pengujian KBM ini adalah metode *pour plate* (Gambar hasil dapat dilihat pada lampiran 6.4). Mahboubi *et al.*, (2015) mengatakan konsentrasi bunuh minimum diperoleh pada konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada media setelah inkubasi selama 24 jam. Kurniawan dkk. (2019) menambahkan bahwa penentuan nilai KBM yaitu ditandai dengan ada tidaknya bakteri yang tumbuh pada media biakan.

**Tabel 4.5** Hasil uji konsentrasi bunuh minimum

Perlakuan	Mikroba	Konsentrasi				
		100%	50%	25%	12,5%	6,25%
Ekstrak daun bidara	<i>E. coli</i>	0	5,2 x 10 <sup>7</sup>	$\infty$	$\infty$	$\infty$
	<i>S. aureus</i>	0	6,2 x 10 <sup>6</sup>	$\infty$	$\infty$	$\infty$
K+	<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0
	<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0
K-	<i>E. coli</i>	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$
	<i>S. aureus</i>	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$

Keterangan:

$\infty$  : TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung)

 : Positif KBM

 : Nilai kuantitatif KHM

Metode yang digunakan pada uji KBM ini yaitu metode *pour plate* dan perhitungan koloni pada cawan petri (Sari *et al.*, 2019). Perhitungan dari koloni

bakteri dilakukan dengan cara pengamatan dan perhitungan langsung menggunakan *colony counter*. Perhitungan koloni bakteri mengacu pada *Standar Plate Count* (SPC), rata-rata jumlah koloni yang dihitung berdasarkan SPC yaitu 30-300 CFU (*Colony Forming Unit*). Rata-rata jumlah koloni ini digunakan sebagai acuan dalam menentukan semua faktor yang berpengaruh pada hasil akhir dan juga untuk meminimalisir kesalahan analisa (Yunita dkk., 2015).

Hasil uji KBM pada penelitian ini dapat dilihat dari tabel 4.5 yang mana konsentrasi yang memiliki nilai positif KBM yaitu pada konsentrasi 100%, hal tersebut dikarenakan media agar pada konsentrasi 100% dengan bakteri uji *S. aureus* maupun *E. coli* tidak ditemukan sama sekali koloni bakteri yang tumbuh di dalamnya. Menurut Pratiwi (2008) di bukunya menjelaskan bahwa metode pengenceran uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum zat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji pengenceran ini diperoleh dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri uji pada media agar. Effendi dkk. (2014) juga melaporkan bahwa konsentrasi bunuh minimum adalah konsentrasi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya *E. coli* dan *S. aureus* yang tumbuh pada cawan petri, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut terbunuh oleh larutan uji pada konsentrasi tersebut.

Hasil kuantitatif KHM ditemukan pada konsentrasi 50% yaitu pada bakteri uji *S. aureus* ditemukan koloni bakteri tumbuh di media agar sebanyak  $6,2 \times 10^6$  CFU/mL, sedangkan pada bakteri uji *E. coli* yaitu sebanyak  $5,2 \times 10^7$  CFU/mL. Perbedaan hasil uji KHM dari kedua bakteri uji tersebut disebabkan karena beberapa faktor, salah satunya yaitu karena kedua bakteri tersebut memiliki

struktur dinding sel yang berbeda. Menurut Romero *et al.*, (2015) dari hasil penelitiannya juga menyatakan bahwa bakteri gram negatif lebih resisten terhadap bahan antibakteri daripada bakteri gram positif. Hal tersebut dikarenakan pada bakteri gram negatif dinding selnya lebih kompleks. Dinding sel tersebut dibentuk oleh lapisan peptidoglikan tipis yang berdekatan dengan membran sitoplasma dan membran luar yang disusun oleh fosfolipid dan lipopolisakarida. Sehingga hal tersebut yang menyebabkan sulitnya senyawa metabolit sekunder untuk masuk ke dalam sel.

Faktor utama adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* adalah dari ekstrak daun bidara itu sendiri, yang mana seperti yang telah diketahui bahwa pada ekstrak daun bidara terdapat senyawa metabolit sekunder penting yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Kurniawan dkk. (2019) melaporkan bahwa senyawa-senyawa aktif dari daun bidara yang berperan penting sebagai agen antibakteri yaitu diantaranya tanin, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Juliantina dkk, (2009) menambahkan bahwa senyawa yang paling berperan penting sebagai antibakteri yaitu flavonoid. Flavonoid bertindak dengan meracuni protoplas, menembus dinding sel dan menyimpan protein sel bakteri. Flavonoid juga menonaktifkan enzim penting dalam sel bakteri, menyebabkan kebocoran sel dan menghambat pertumbuhan sel bakteri.

Allah SWT telah berfirman di dalam Al Qur'an surat An Nahl ayat [16]:

114 yang berbunyi:

فَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلالًا طَيِّبًا وَاشْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ ﴿١١٤﴾

Artinya: *Maka makanlah yang halal lagi baik dari rezeki yang telah diberikan Allah kepadamu; dan syukurilah nikmat Allah, jika kamu hanya kepada-Nya saja menyembah.*

Ibnu Katsir dalam tafsirnya dari surat An Nahl ayat 114 tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan seluruh umat islam untuk mengonsumsi makanan yang halal dan baik. Dalam tafsirnya juga menjelaskan bahwa ayat tersebut memerintahkan untuk selalu mengingat dan bersyukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rizki. Sebagai manusia sudah sepatutnya untuk bersyukur atas rezeki yang telah Allah SWT berikan kepada kita. Salah satu rezeki terbesar yang telah Allah SWT limpahkan kepada umat manusia yaitu adanya berbagai macam tumbuhan yang tumbuh subur di bumi ini. Tumbuh-tumbuhan tersebut pastinya memiliki manfaat yang besar bagi manusia. Salah satunya seperti yang telah kita ketahui dari hasil penelitian ini, bahwa daun bidara dapat bermanfaat sebagai obat antibakteri. Maka dari itu kita harus senantiasa bersyukur kepada Allah SWT yang telah menciptakan tumbuhan bidara yang sangat berguna dalam kehidupan manusia.

Penciptaan alam semesta dan seisinya tidak mungkin tanpa alasan dan manfaat di dalamnya. Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini pasti memiliki tujuan dan manfaat. Seperti halnya keanekaragaman spesies dan jenis tumbuhan yang ada di planet ini, tentunya semuanya memiliki kelebihannya masing-masing. Allah SWT telah berfirman di dalam Al Qur'an surat Al Imran [3]: 191, yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا  
مَا خَلَقْتَهُ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.

Merujuk pada *Li Yaddabbaru Ayatih* Prof. Dr. Umar bin Abdullah Al-Muqbil menjelaskan bahwa pada kalimat "*allaziina yadzkuunallahu qiyaman wa qu'uudan wa 'alaa junuubihim*" yang menjelaskan mengenai berdzikir dalam semua keadaan dianjurkan, dan lebih utama lagi jika berdzikir dalam keadaan duduk ataupun berbering demi kemaslahatan umat. Pada kalimat "*wa yatafakkaruuna fii kholqis-samawaati wal-ardh robbanaa maa kholaqta haadzaa baathilaa, subhaanaka fa qinaa 'adzaaban-naar*" yang dalam ayat ini dijelaskan bahwa orang-orang beriman itu setelah mereka berpikir, mereka kemudian berbuat sesuatu yang bermanfaat, kemudian mereka memohon kepada Allah jannah-Nya, dan mereka juga memohon perlindungan dari siksaan api neraka. Allah mengatakan مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا, dan tidak dengan kalimat ( هذه هولا ) ما خلق karena maksud Allah tertuju kepada hamba-Nya yang dilangit dan dibumi, hal itu diisyaratkan oleh kalimat سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ “Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa apapun yang diciptakan Allah SWT pasti ada manfaatnya. Salah satu tumbuhan yang ada di bumi ini seperti tumbuhan bidara. Tanaman bidara diketahui dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Menurut hasil penelitian yang dilakukan, daun tanaman bidara dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *S. aureus* dan *E. coli*. Oleh karena itu, sudah sepantasnya kita sebagai manusia mensyukuri nikmat Allah SWT yang telah menciptakan tanaman bidara yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri.

Dalam penelitian ini juga ditemukan bahwa daun bidara memiliki metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin dan saponin yang berperan penting dalam kehidupan manusia. Seperti yang dituliskan oleh Kurniawan dkk., (2019) di

dalam jurnalnya bahwa Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun bidara dapat berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan antitumor. Siregar (2020) menambahkan dari hasil penelitiannya bahwa daun bidara juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengawet alami, misalnya untuk mengawetkan daging secara ilmiah. Hal ini disebabkan adanya aktivitas fenolik dan flavonoid yang terdapat di dalam daun bidara yang dapat merusak dinding sel bakteri penyebab daging busuk.

Setelah dilaksanakan penelitian ini maka kita dapat ketahui bahwa daun bidara memiliki segudang manfaat, yang mana diharapkan kedepannya masyarakat dapat memanfaatkan daun bidara dengan sebaik-baiknya. Sebagai contoh, penelitian ini menunjukkan bahwa daun bidara dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, memungkinkan orang untuk menggunakan daun bidara sebagai alternatif antibakteri untuk bahan kimia yang biasa digunakan. Seperti yang telah difirmankan Allah SWT pada surat Al An'am [6]: 141, yang berbunyi:

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْثَادًا  
 وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ  
 حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

Artinya: *Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon kurma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan.*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan agar dapat dimanfaatkan oleh manusia. Seperti halnya tumbuhan bidara, daun dari tumbuhan bidara ini memiliki banyak sekali manfaatnya dan sudah sepatutnya kita sebagai manusia memanfaatkannya dengan sebaik-baiknya. Sesuai dengan penelitian ini bahwa daun bidara dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri alami yang mana dapat menggantikan obat antibakteri kimia yang mungkin dapat memberikan efek samping ketika digunakan.

Akan tetapi ketika kita mengetahui bahwa daun bidara ini memiliki banyak sekali manfaat salah satunya sebagai obat antibakteri alami, bukan berarti kita dapat menggunakan atau mengeksploitasi daun bidara secara bebas tanpa memperhatikan kelestariannya. Sehingga sudah sepatutnya diimbangi dengan tetap melestarikan tanaman bidara ini agar tetap bisa dimanfaatkan seterusnya. Seperti yang telah disebutkan pada ayat di atas pada kalimat "*wa laa tusrifuu*" yang artinya janganlah berlebih-lebihan, Allah SWT telah memperingatkan kita bahwa kita tidak boleh memanfaatkan tumbuhan tersebut secara berlebihan (Shihab, 2002).

Allah SWT juga telah berfirman di dalam surat Al An'am [6] : 99 yang berbunyi:

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

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

Surat Al An'am ayat 99 menjelaskan bahwa Allah SWT telah menurunkan hujan untuk menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang menghijau. Pada kalimat tumbuh-tumbuhan yang menghijau dapat diketahui bahwa warna hijau pada daun tersebut dikarenakan terdapat klorofil di dalamnya. Fungsi dari klorofil pada daun adalah merupakan faktor utama yang mempengaruhi fotosintesis. Fotosintesis merupakan proses perubahan senyawa anorganik ( $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ ) menjadi senyawa organik (karbohidrat) dan  $\text{O}_2$  dengan bantuan cahaya matahari. Salah satu hasil fotosintesis adalah  $\text{O}_2$  yang mana telah diketahui bahwa  $\text{O}_2$  merupakan faktor penting yang dibutuhkan oleh alam (Song Ai *et al.*, 2011). Seperti halnya tumbuhan yang lain, daun tumbuhan bidara yang berwarna hijau tersebut mampu menghasilkan  $\text{O}_2$  yang bermanfaat bagi lingkungan sekitar.  $\text{O}_2$  tersebut berfungsi untuk melindungi bumi dari radiasi sinar matahari (sebagian sinar matahari diserap udara sehingga suhu di bumi tidak begitu tinggi), dan yang paling utama  $\text{O}_2$  berperan penting pada proses pernapasan manusia.

## **BAB V PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang bisa diambil dari penelitian ini yaitu:

1. Hasil skrining fitokimia dari daun bidara yang diambil dari desa Klagen, kecamatan Rejoso, kabupaten Nganjuk menunjukkan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin dan saponin.
2. Nilai zona hambat dari ekstrak daun bidara terbaik terdapat pada konsentrasi 100%. Uji zona hambat pada bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 100% memiliki diameter sebesar  $10,97 \pm 2,47$  mm yang tergolong kategori kuat, sedangkan pada bakteri *E. coli* dengan perlakuan konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambat sebesar  $5,26 \pm 0,45$  mm yang masuk ke dalam kategori lemah.
3. Nilai KHM ekstrak daun bidara terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan pada konsentrasi 50% sebanyak  $6,2 \times 10^6$  CFU/mL, sedangkan nilai KHM bakteri *E. coli* diperoleh pada konsentrasi 50% sebanyak  $5,2 \times 10^7$  CFU/mL. Nilai KBM ekstrak daun bidara pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu pada konsentrasi 100%.

### **5.2 Saran**

Saran dari penelitian ini yaitu:

1. Perlu dilakukan uji skrining fitokimia pada senyawa-senyawa lainnya dari daun bidara.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri daun bidara yang diambil dari daerah lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adamczak, Artur, Marcin Ozarowski & Tomasz M. Karpinski. 2020. Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *Journal of Clinical Medicine*. Vol. 9.
- Akhtar, Naveed, Shakeel Ijaz, Haji M Shoaib Khan, Bushra Uzair, Adam Reich, & Barkat Ali Khan. 2016. Ziziphus Mauritiana Leaf Extract Emulsion For Skin Rejuvenation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 15(5).
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). 2005. *APHA Method 9215: Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater*. Washington, D.C: APHA.
- Asy'syifa, Nurlaeli Siti, Fitrianti Darusman, & Mentari Luthfika Dewi. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Christi*L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Prosiding Farmasi*. Vol. 6(2).
- Balouiri, M., M. Sadiki & S. K Ibsouda. 2016. Method On In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Vol. 6.
- Devi, S. A., & Deepak G. 2009. Antimicrobial Activity of *Acorus calamus* (L.) Rhizome and Leaf Extract. *Acta Biologica Szegediensis*. Vol 53(1): 45-59.
- Dewi, F. I. & M. R. Wahyunitisari. 2018. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus aureus*. *Journal of Vacation Health Studies*. Vol.1.
- Dorey, L., S. Hobson, & P. Lees. 2016. Factors Influencing the Potency of Marbofloxacin for Pig Pneumonia Pathogens *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida*. *Research in Veterinary Science*.
- Effendi, Ferry, Anna P. Roswiem, & Ernie Stefani. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Journals of Universitas Pakuan*.
- Ekambaram, S. P., Perumal, S. S., & Balakrishnan, A. 2016. Scope of hydrolysable tannins as possible antimicrobial agent. *Phytotherapy Research*. Vol. 30. 1035–1045.
- Elfasyari, Trie Yuni, & Lita Riastienanda Putri, Sawitri Wulandari. 2019. Formulasi dan Evaluasi Gel Antioksidan Ekstrak Daun Bidara. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. Vol.16(2).
- Farha, Arakkaveetil Kabeer, Qiong-Qiong Yang, Gowoon Kim, Hua-Bin Li, Fan Zhu, Hong-Yan Liu, Ren-You Gan, & Harold Corke. 2020. Tannins As An Alternative To Antibiotics. *Food Bioscience*. Vol. 39.
- Fatimah, Siti, Fitri Nadifah, & Islamiati Burhanudin. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea* var. *Capitata* f. *alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Biogenesis*. Vol. 4(2).

- Fatasa, Y. 2013. Daya Antibakteri Estrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan*. Vol. 10(1).
- Febriansari, Florensia. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Santa Dharma.
- Feng, Q.L., J. Wu, G.Q. Chen, F.Z. Cui, T.N. Kim, & J.O. Kim. 2000. A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *John Wiley & Sons, Inc.*
- Fitriana, Yolla Arinda Nur, Vita Arfiana Nurul Fatimah, & Ardhistia Shabrina Fitri. 2019. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *SAINTEKS*. Vol. 16(2).
- Handayani, S., A. Najib & N. P. Wati. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus Ilcifolius L.*) Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil (DPPH). *JFFI*. Vol. 5(2).
- Hasanah, Aural Miftahul NMCAR. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus Spina-Christi L.*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. *Pharm J Islam Pharm*. Vol. 3(1). 31.
- Hasrianti, Nururrahmah, & Nurasia. 2016. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah Dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *Jurnal Dinamika*. Vol. 07(1).
- HiMedia Laboratories, 2018. *Technical data Mueller Hinton Agar*.
- HiMedia Laboratories. 2019. *Technical data Mueller Hinton Broth*.
- Hudaya, Adeng, Nani Radiastuti, Dede Sukandar, & Ira Djajanegara. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *E. coli* Dan *S. aureus* Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Biologi*. Vol. 7(1).
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Jakarta: Salemba Medika.
- Juliatina, D. A., Citra, B., Nirwani, T. Nurmasitoh, E. T. & Bowo. 2009. Manfaat Sirih MeRah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakteri Terhadap Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Vol. 1(5).
- Karimela, Ely John, Frans G. Ijong, & Henny Adeleida Dien. 2017. Karakteristik *Staphylococcus Aureus* yang Diisolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* . Vol. 20(1).
- Katuuk, Rino H.H., Sesilia A. Wanget, Pemmy Tumewu. 2020. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum Conyzoides L.*). *Agroteknologi*.
- Kurniawan, Edy, Dwi Soelistya Dyah Jekti, & Lalu Zulkifli. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. Vol. 19(1).
- Mahardika, R. G. & O. Roanisca. 2019. Microwave assisted extraction of polyphenol content from leaves of *Tristaniaopsis merguensis* Griff. *AJChE*. Vol. 19(2). 110-119.

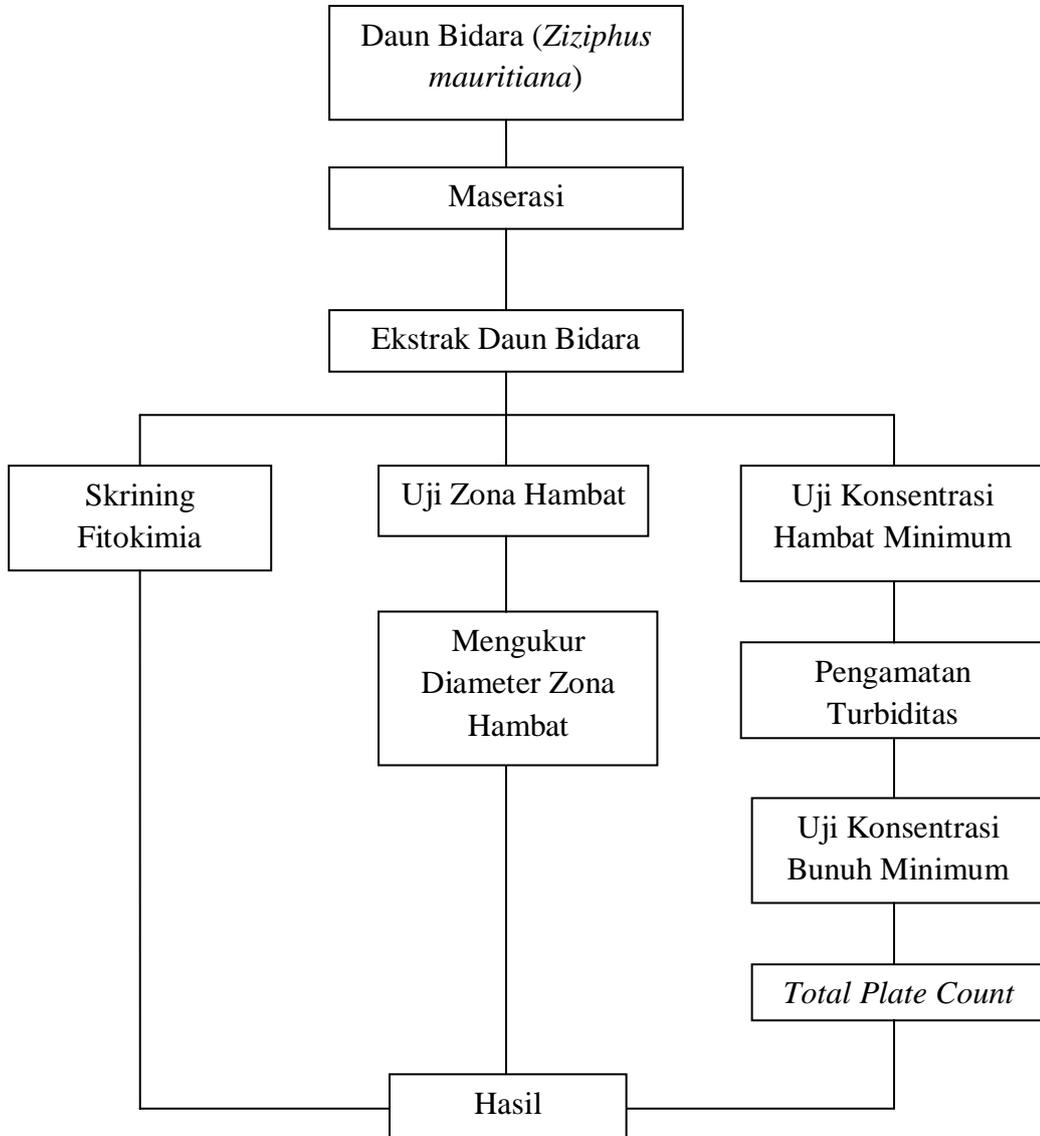
- Mahboubi, Arash, Jinous Asgarpanah, Parisa Nosrati Sadaghiyani, & Mehrdad Faizi. 2015. Total Phenolis and Flavonoid Content and Antibacterial Activity of *Punica granatum* L. var. Pleniflora Flowers (Golnar) Against Bacterial Strains Causing Foodborne Diseases. *BMC Complementary & Alternative Medicine*. Vol. 15 (366).
- Mamza, S. A., Geidam, Y. A., Mshelia, G. D., Egwu, G. O. & Gulani I. 2016. Morphological and Biochemical Characterization of Staphylococci Isolated from Food-Producing Animals in Northern Nigeria. *Direct Research Journal of Veterinary Medicine and Animal Science*. Vol. 1(1).
- Mardhiyani, Dini, & Moni Afriani. 2021. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Proteksi Kesehatan*. Vol 10(1).
- Muharrami LK, Munawaroh F, Ersam T, Santoso M, Setiawan E, & Hidayati Y. 2019. Antibacterial Activity of Leaves Extract of Bukkol (*Ziziphus mauritania* Lam) against *E.coli* and *S.aureus*. *KnE Eng*. Vol. 1(2).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7(2).
- Muljono, Patrick, Fatimawali, & Aaltje E. Manampiring. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal e-Biomedik*. Vol. 4(1).
- Nigussie, Dereje, Gail Davey, Belete Adefris Legesse, Abebaw Fekadu, & Eyasu Makonnen. 2021. Antibacterial Activity Of Methanol Extracts Of The Leaves Of Three Medicinal Plants Against Selected Bacteria Isolated From Wounds Of Lymphoedema Patients. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. Vol. 21(2).
- Nurliana, M. Sudarwanto, L.I. Sudirman, & A.W Sanjaya. 2009. Prospek Makanan Tradisional Aceh sebagai Makanan Kesehatan: Deteksi Awal Aktivitas Antimikrob Minyak Pliek I dan Ekstrak Kasar dari Pliek U. *Forum Pascasarjana*. Vol 32(1).
- Palejkar C. et al, 2012, A Plant Review On *Ziziphus Mauritiana*, International Journal Of Universal Pharmacy And Life Sciences, Vol. 2.
- Pargaputri, A. F., E. Munadziroh & R. Indrawati. 2016. Antibacterial Effects Of *Pluchea Indica* Less Leaf Extract On *E. Faecalis* And *Fusobacterium Nucleatum* (In Vitro). *Dental Journal*. Vol.49(2).
- Pinta, W. A. Lolo & V. Y. Yamlean. 2017. Identifikasi Kandungan Fitokimia Dan Uji Kadar Hambat Minimum Dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Daun Pangi (*Pangium Edule* Reinw. Ex Blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6(3).
- Pratiwi, ST 2008. *Farmasi Mikrobiologi*. Jakarta : Erlangga. Hlm 188-191.
- Preeti & Tripathi, S. 2014. Tinjauan Phytopharmacological *Ziziphus jujube*. *Jurnal Internasional Penelitian dan Pengembangan di Farmasi dan Ilmu Hayati*. Vol. 3 (3).
- Radusiene J, Karpaviciene B, & Stanius Z, 2012. Effect of external and internal factors on secondary metabolites accumulation in St. John's wort. *Bot. Lithuanica*. Vol. 18, 101–108.

- Raharjeng, Sih Wahyuni, & Anis Masliyah. 2020. Identifikasi Morfologi Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Di Wilayah Sidoarjo. *Jurnal Farmasi Indonesia Afamedis*. Vol.1(2).
- Rahmawati, F. & Bintari, S.H. (2014). Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. *Unnes J Life Sci*. Vol. 3(2).103-111.
- Ravi, Lokesh, Manasvi V, & Praveena Lakshmi B. 2016. Antibacterial And Antioxidant Activity Of Saponin From Abutilon Indicum Leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 9.
- Romero, Julio Cesar Lopez, Humberto Gonzalez-Rios, Anabela Borges, & Manuel Simoes. 2015. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 1.
- Sari, Gina Lova, Yulinah Trihadiningrum, & Ni'matuzahroh. 2019. Isolation and Identification of Native Bacteria from Total Petroleum Hydrocarbon Polluted Soil in Wonocolo Public Oilfields, Indonesia. *Journal of Ecological Engineering*. Vol 20 (8). 60-64.
- Schwalbe, Richard, Lynn Steele-Moore, & Avery C. Goodwin. 2007. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. Taylor & Francis Group: London, New York.
- Sepriana, C., Jekti, D.S.D. & Zulkifli, L. 2017. Bakteri Endofit Kulit Batang Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Kemampuannya sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*. Vol. 3(2). 52-59.
- Septiani, Eko Nurcahya Dewi & Ima Wijayanti. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. Vol.13(1).
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholekah, Friska Fitriani. 2017. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica Pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biolog*.
- Siregar, Maulana.2020.Berbagai Manfaat Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Lamk) Bagi Kesehatan Di Indonesia. *Jurnal Pandu Husada*. Vol. 2(1).
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Soleimani, Neda, Ashraf Mohabati Mobarez, Mahroo Seyed Jafari Olia, & Fatemeh Atyabi. 2015. Synthesis, Characterization and Effect of the Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticle on Vancomycin-Resistant Enterococcus and Other Gram Negative or Gram Positive Bacteria. *International Journal of Pure & Applied Sciences & Technology*. Vol 26 (1). 14-23.
- Song Ai, Ao, dan Yunia Banyo. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 1(2).

- Suhendra, C. P., I. W. R. Widarta & A. A. I. S. Widanyani. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 8(1).
- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sungkar, O.F., S. Khanza & R. A. Pangestu. 2018. Aktivitas Antibakteri Bedak yang Diperkaya Dengan Konsentrasi Ekstrak Buah. *Jurnal Teknologi Pangan*. Vol. 2(2).
- Sutiknowati, Lies Indah. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia Coli*. *Oseana*. Vol. 41(4).
- Tafsir Surat An Nahl. <https://risalahmuslim.id/quran/an-nahl/16-114/> . Diakses 6 Desember 2021.
- Taufiq. 2018. Aktifitas Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Bidara Laut (*Ziziphus Mauritiana* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Dan *Escherichia Coli*.
- Umar bin Abdullah al-Muqbil. *Li Yaddabbaru Ayatih*. Fakultas Syari'ah Universitas Qashim, Saudi Arabia. <https://tafsirweb.com/1323-surat-ali-imran-ayat-191.html> . Diakses 6 Desember 2021.
- Usman ,Samsidar, Firawati, & Zulkifli. 2021. Efektivitas Ekstrak Daun Bidara (*Zizipus Mauritiana* L.) pada Kulit Akibat Luka Bakar dalam Berbagai Varian Konsentrasi Ekstrak Terhadap Hewan Uji Kelinci (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol. 3(3).
- Verma, Nidhi, Sudhir Shukla. 2015. Impact Of Various Factors Responsible For Fluctuation In Plant Secondary Metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. Vol. 49(9).
- Yunita, Merisa, Yusuf Hendrawan, & Rini Yulianingsih. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Gaaruda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) dengan Metode Pour Plate. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol. 3(3).
- Zen, N.A. M., Edwin D. Q. & Marina S. 2015. Uji Bioaktivitas Ekstrak Padina Australis Dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Vol. 2(1).
- Zhanel, George, Ian Critchley, Lynn-Yao Lin, & Nancy Alvandi. 2019. Microbiological Profile of Sarecycline, a Novel Targeted Spectrum Tetracycline for the Treatment of Acne Vulgaris. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol. 63(1).
- Zhao, Ying, Ruiqi Su, Wenting Zhang, Guang-Long Yao, & Jian Chen. 2020. Antibacterial Activity Of Tea Saponin From *Camellia oleiferashell* By Novel Extraction Method. *Industrial Crops & Products*.

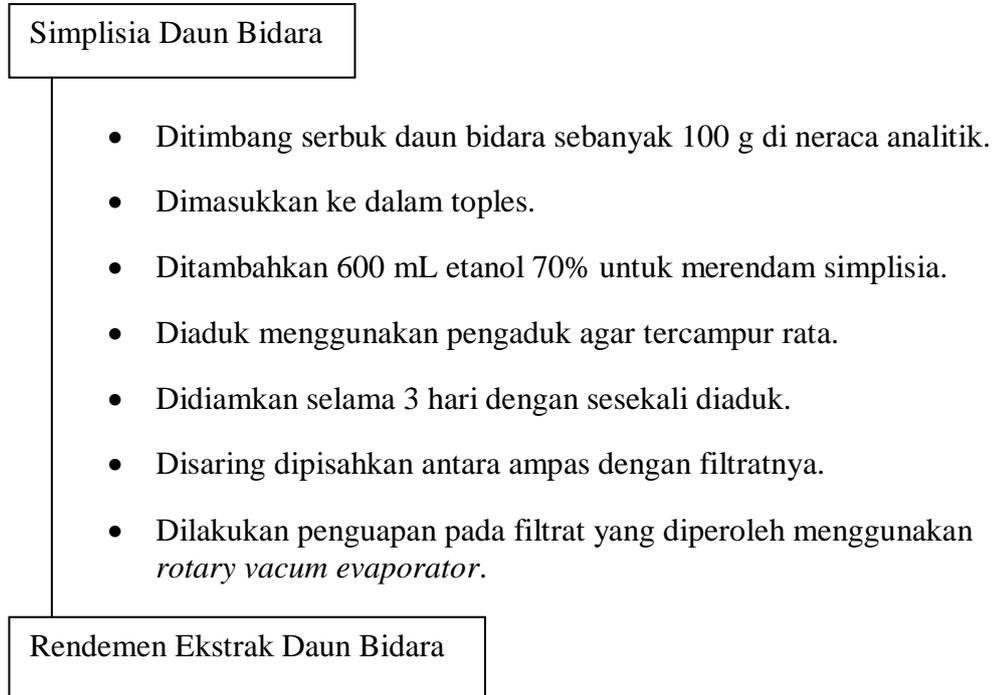
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

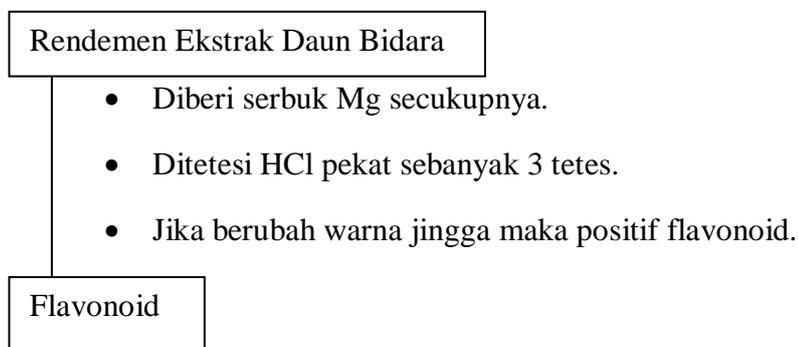


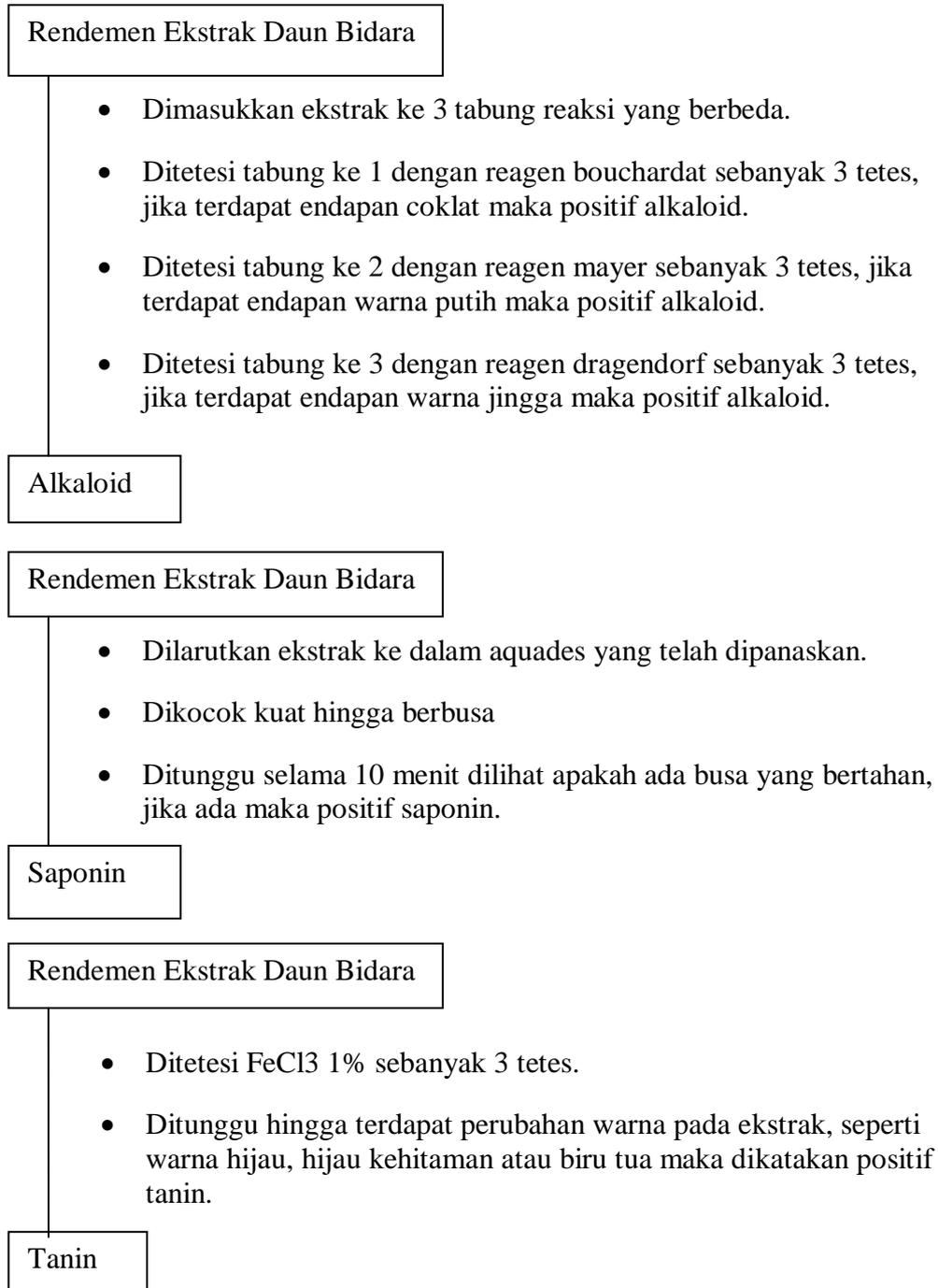
## Lampiran 2. Preparasi Sampel

### 2.1 Ekstraksi Sampel

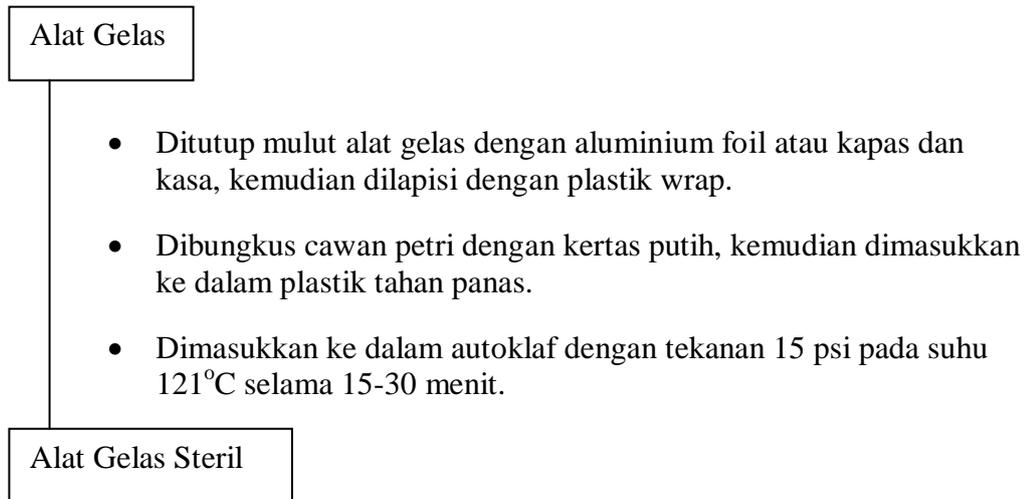


### 2.2 Skrining Fitokimia

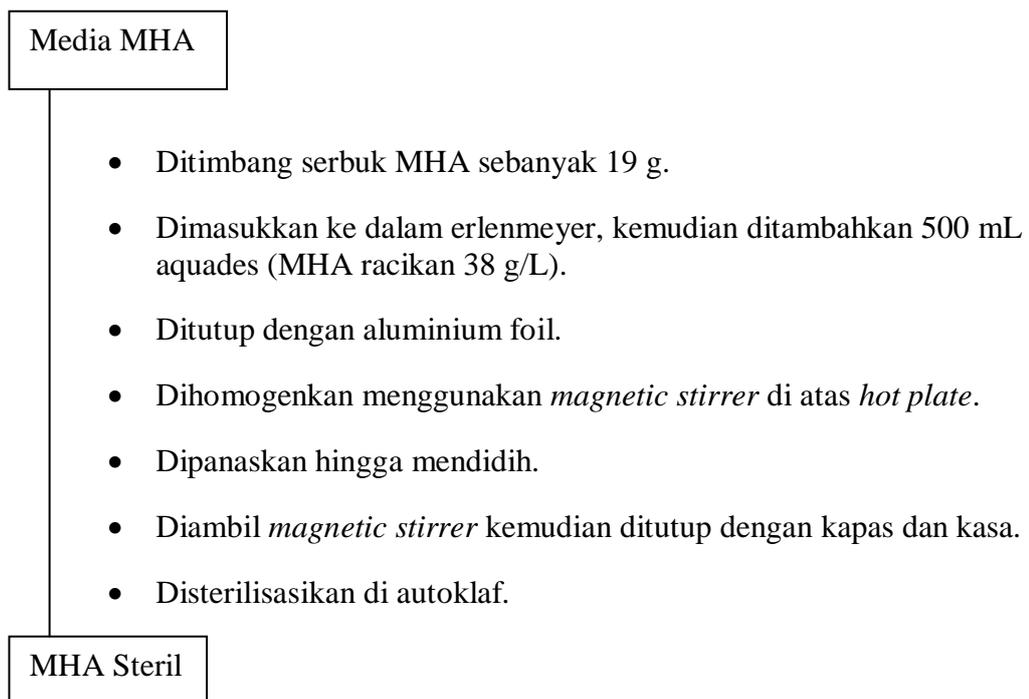


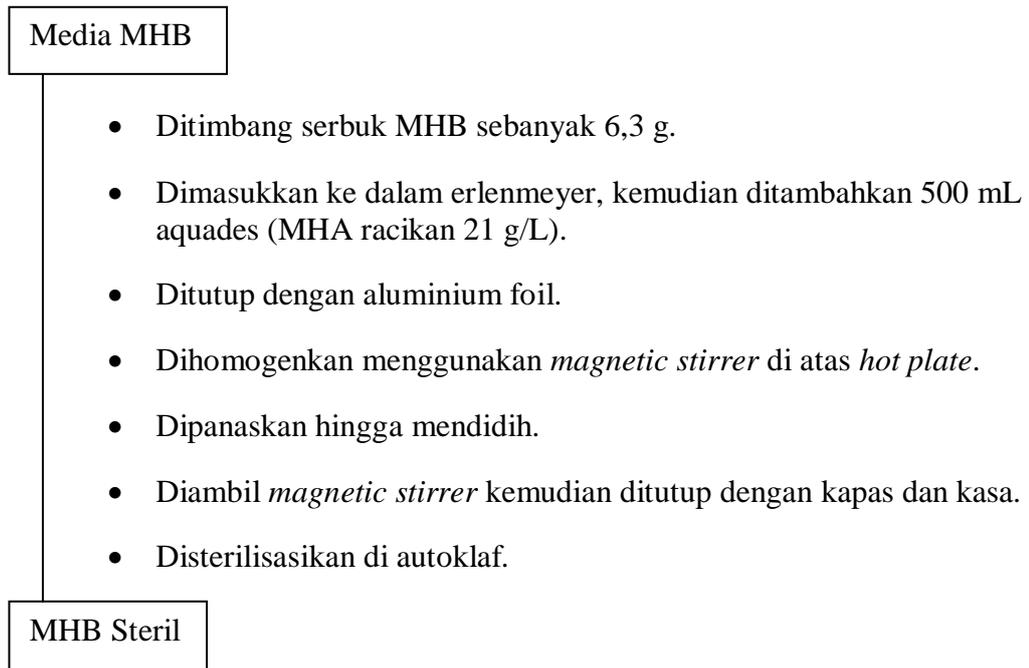


### 2.3 Sterilisasi Alat

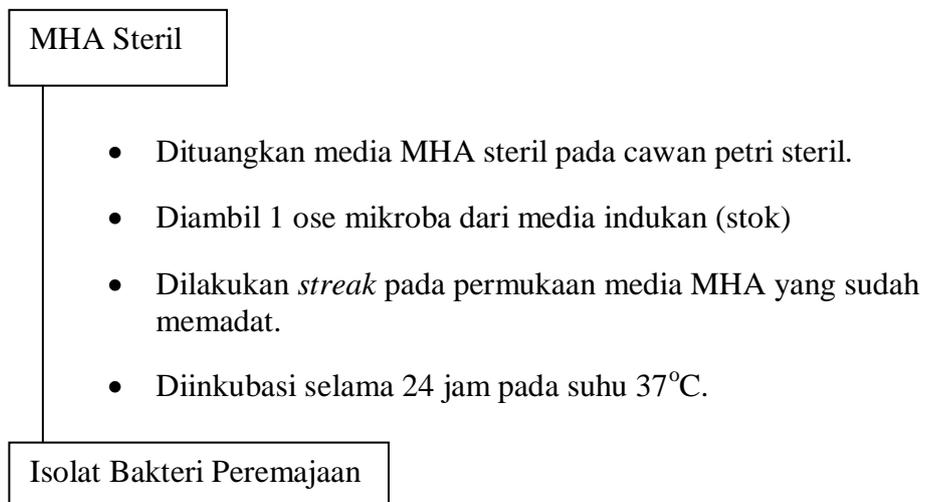


### 2.4 Pembuatan Media

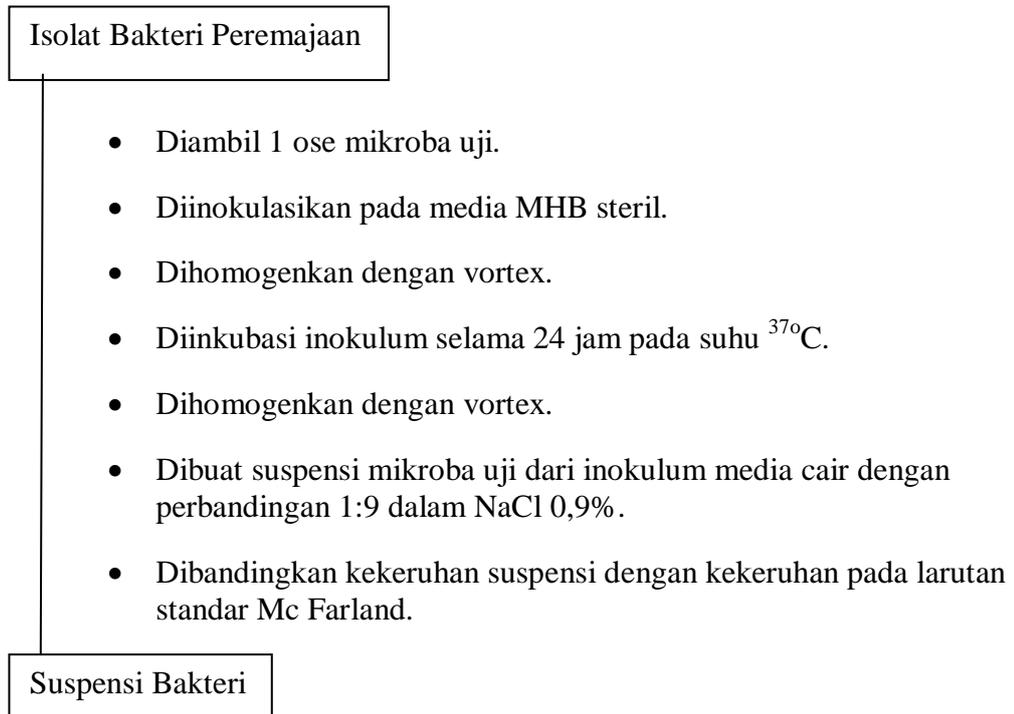




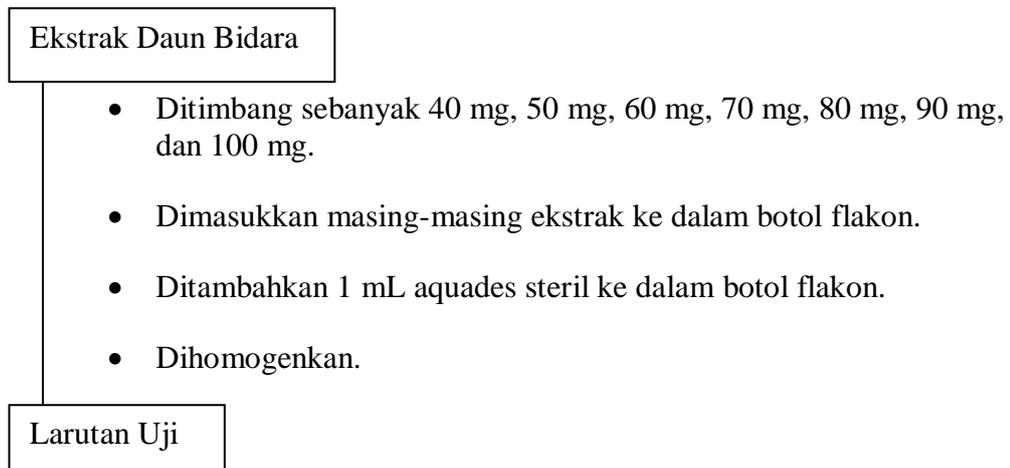
## 2.5 Peremajaan Bakteri



## 2.6 Pembuatan Suspensi Mikroba Uji



## 2.7 Pembuatan Larutan Uji



## 2.8 Uji Zona Hambat

Media MHA Steril

- Dituangkan media MHA steril ke dalam cawan petri steril.
- Ditunggu hingga media memadat.
- Direndam kertas cakram 6 mm steril ke dalam larutan uji ekstrak selama 30 menit.
- Diambil 100  $\mu$ L suspensi mikroba uji dan dituang di permukaan media padat.
- Diratakan mikroba uji di permukaan media padat menggunakan *cotton swab*.
- Dibuat 3 jaring area di bagian bawah cawan petri.
- Diletakkan 3 buah kertas cakram yang telah direndam larutan antibakteri pada masing-masing area jaring.
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.
- Dianalisis.

Hasil

## 2.9 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

### 96-Well Plate Steril

- Ditentukan kode perlakuan untuk setiap sumuran pada *well-96* steril huruf A-H : menunjukkan perlakuan larutan uji dan kontrol serta ulangan, angka 1-12 : menunjukkan konsentrasi perlakuan.
- Diencerkan sampel uji ke dalam media cair MHB steril dengan perbandingan 1:10.
- Diencerkan mikroba uji dari media suspensi ke dalam media cair MHB steril dengan perbandingan 1:150.
- Diisi setiap sumuran pertama dengan 200  $\mu$ L sampel uji yang telah diencerkan.
- Diisi sumuran ke-2 hingga ke-5 dengan 100  $\mu$ L media cair steril.
- Dilakukan pengenceran bertingkat dengan mengambil 100  $\mu$ L dari sumuran pertama, lalu dimasukkan ke sumuran ke-2 dan seterusnya.
- Diisi masing-masing sumuran dengan suspensi mikroba uji yang telah dicairkan.
- Ditutup permukaan sumuran dan dilapisi dengan plastik wrap.
- Dishaker 120 rpm selama 10-15 menit.
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Dishaker 120 rpm selama 10-15 menit.
- Diamati secara langsung kekeruhan larutan disetiap sumuran.
- Dianalisa data yang diperoleh.

### Hasil

## 2.10 Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Mikroba Uji KHM

- Dipipet 100  $\mu$ L mikroba uji pada cawan petri steril.
- Dituang media MHA steril ke dalam cawan petri berisi mikroba uji KHM (*Pour plate*)/
- Diratakan dengan cara menggoyangkan cawan petri secara perlahan membentuk angka delapan.
- Diberi label pada cawan petri kemudian dilapisi dengan plastik wrap.
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*.
- Dianalisa data yang diperoleh.

Hasil

### Lampiran 3. Rumus-Rumus

#### 3.1 Rumus Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat = Diameter zona bening - Diameter kertas cakram

#### 3.2 Rumus *Total Plate Count*

$$\Sigma_{sel} = \Sigma_{koloni} \times \frac{1}{fp} \times \frac{1}{\Sigma_{inokulum}}$$

## Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

### 4.1 Hasil Uji Zona Hambat

No.	Bakteri	Perlakuan	Diameter (mm)			Rata-Rata	Kategori
			U1	U2	U3		
1.	<i>S. aureus</i>	100%	13,39	8,45	11,07	10,97	Kuat
		90%	7,49	11,26	9,88	9,54	Sedang
		80%	8,39	7,47	8,18	8,01	Sedang
		70%	7,9	7,52	6,85	7,42	Sedang
		60%	7,5	5,94	5,88	6,44	Sedang
		50%	5,87	6,48	5,67	6,01	Sedang
		40%	4,61	3,96	3,44	4,00	Lemah
		K+	15,01	12,63	20,68	16,11	Kuat
		K-	0	0	0	0	Lemah
2.	<i>E. coli</i>	100%	5,58	5,47	4,74	5,26	Sedang
		90%	4,17	3,59	3,36	3,71	Lemah
		80%	4,13	3,34	3,15	3,54	Lemah
		70%	3,80	3,31	2,53	3,21	Lemah
		60%	3,29	2,28	2,47	2,68	Lemah
		50%	1,49	1,14	2,08	1,57	Lemah
		40%	1,3	1,43	0,99	1,24	Lemah
		K+	14,38	20,56	13,58	16,56	Kuat
		K-	0	0	0	0	Lemah

#### 4.2 Hasil Total Plate Count

No.	Bakteri	Perlakuan	Jumlah Koloni Bakteri		
			U1	U2	U2
1.	<i>S. aureus</i>	100%	0	0	0
		90%	37	0	0
		80%	∞	∞	∞
		70%	∞	∞	∞
		60%	∞	∞	∞
		50%	∞	∞	∞
		40%	∞	∞	∞
		K+	0	0	0
		K-	∞	∞	∞
2.	<i>E. coli</i>	100%	0	0	0
		90%	146	0	158
		80%	∞	∞	∞
		70%	∞	∞	∞
		60%	∞	∞	∞
		50%	∞	∞	∞
		40%	∞	∞	∞
		K+	0	0	0
		K-	∞	∞	∞

## Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

### 5.1 Ekstraksi Sampel

			
<p>Memetik daun bidara yang masih segar</p>	<p>Mensortasi daun bidara yang akan digunakan</p>	<p>Daun bidara dicuci hingga bersih</p>	<p>Daun bidara diangin-anginkan</p>
			
<p>Daun bidara dioven pada suhu 45°C selama 3 hari</p>	<p>Daun bidara diblender hingga halus</p>	<p>Diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh</p>	<p>Ditimbang serbuk daun bidara sebanyak 100 g</p>
			
<p>Direndam serbuk daun bidara dengan etanol 70% sebanyak 600mL</p>	<p>Diaduk hingga homogen, kemudian ditutup rapat dan direndam selama 3 hari</p>	<p>Ekstrak disaring menggunakan kertas saring <i>whatman</i> no. 41</p>	<p>Dipisahkan pelarut dengan rendemen menggunakan <i>rotary vacuum evaporator</i></p>

 <p>Ekstrak setelah dipisahkan dengan pelarutnya</p>	 <p>Ekstrak yang sudah diencerkan sesuai konsentrasinya dan siap digunakan sebagai bahan uji</p>	 <p>Proses skrining fitokimia</p>
---	---	---

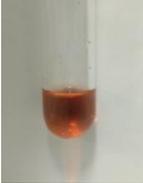
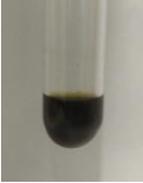
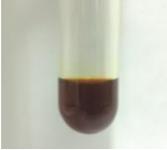
## 5.2 Proses Uji Antibakteri

 <p>Menimbang serbuk media</p>	 <p>Pembuatan media</p>	 <p>Sterilisasi alat dan media</p>	 <p>Isolat bakteri</p>
 <p>Pembuatan suspensi bakteri</p>	 <p>Kertas cakram 6 mm</p>	 <p>Media MHA steril dituangkan di cawan petri steril, dan kertas cakram direndam pada ekstrak selama 30 menit</p>	 <p>Bakteri diinokulasikan dengan <i>cotton swab</i></p>

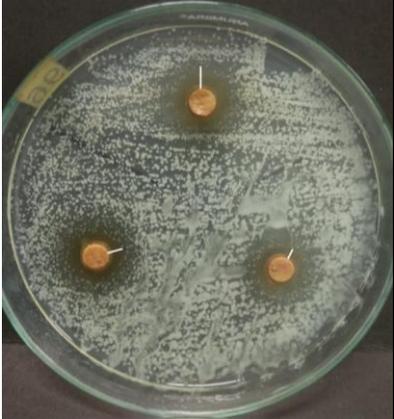
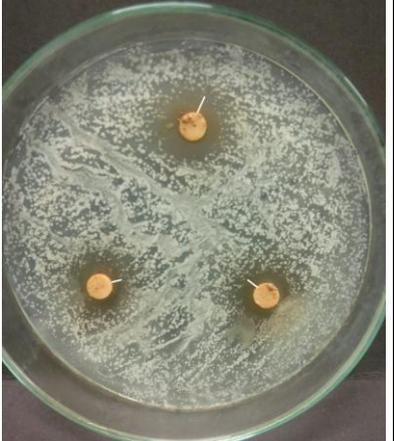
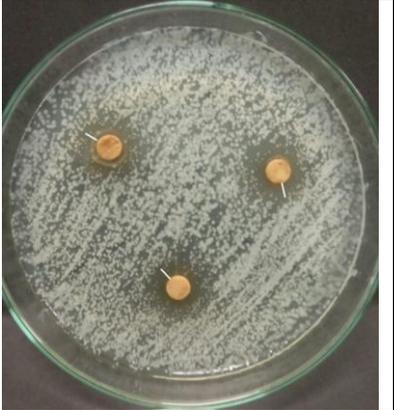
 <p>Diletakkan kertas cakram di atas media</p>	 <p>Well plate-96 steril</p>	 <p>Proses uji KHM</p>	 <p>Dishaker 120 rpm selama 15 menit</p>
 <p>Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C</p>	 <p>Diamati turbiditasnya kemudian dilanjutkan uji KBM</p>	 <p>Uji KBM dengan metode <i>pour plate</i></p>	 <p>Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C</p>
 <p>Mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong</p>	 <p>Menghitung koloni bakteri menggunakan <i>colony counter</i></p>	 <p>Mendestruk semua alat yang telah digunakan</p>	

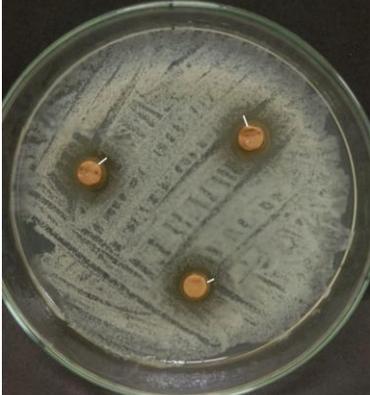
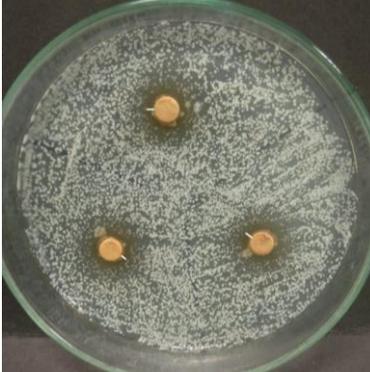
## Lampiran 6. Gambar Hasil

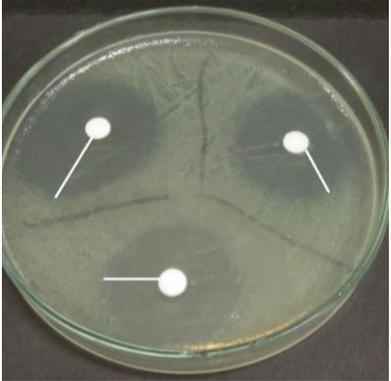
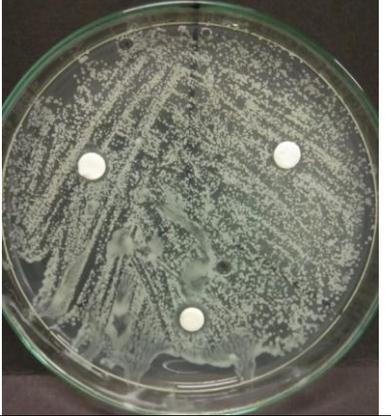
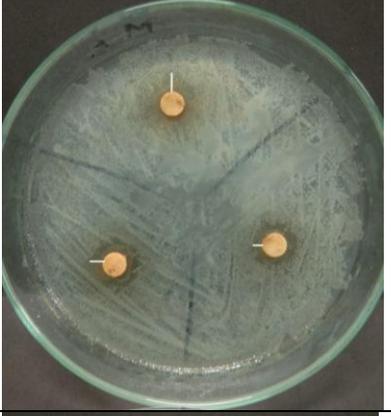
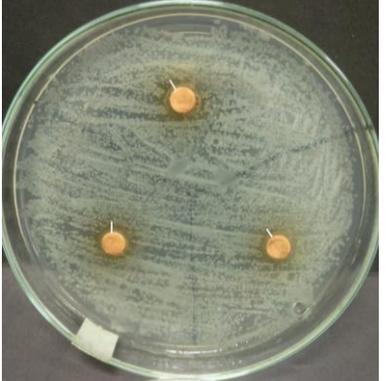
### 6.1 Gambar Uji Skrining Fitokimia

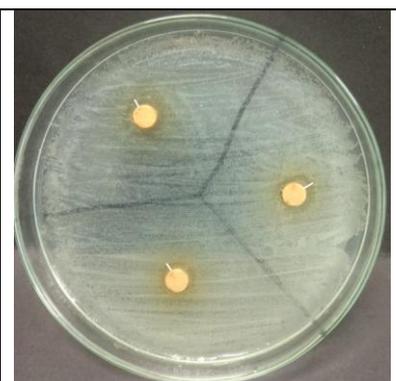
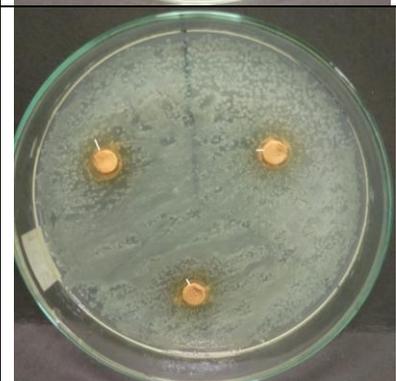
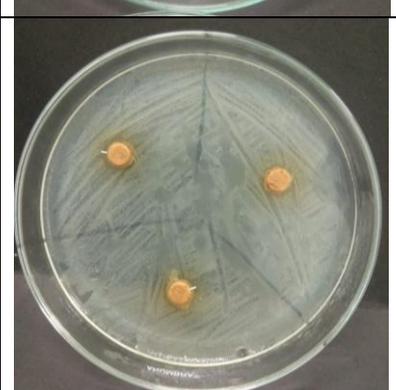
Jenis Senyawa	Keterangan	Foto
Flavonoid	Larutan berubah warnanya menjadi jingga	
Tanin	Larutan berubah warnanya menjadi hijau tua	
Saponin	Terdapat busa yang bertahan	
Alkaloid	Tidak terdapat endapan berwarna putih	
	Tidak terdapat endapan berwarna coklat	
	Tidak terdapat endapan berwarna jingga	

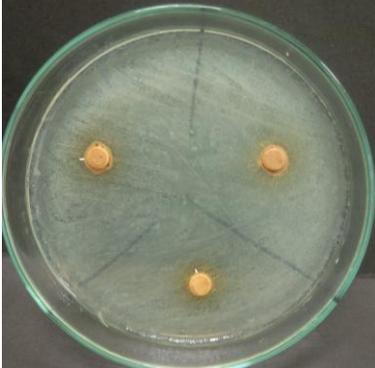
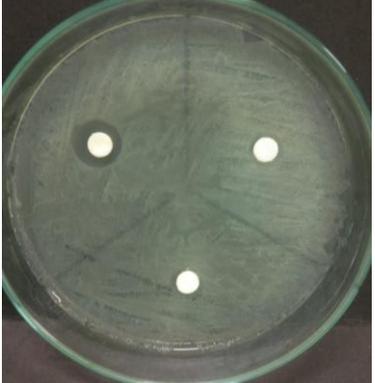
**6.2 Gambar Uji Zona Hambat**

<b>Bakteri</b>	<b>Perlakuan</b>	<b>Foto Hasil</b>
<i>S. aureus</i>	Ekstrak 100%	
	Ekstrak 90%	
	Ekstrak 80%	

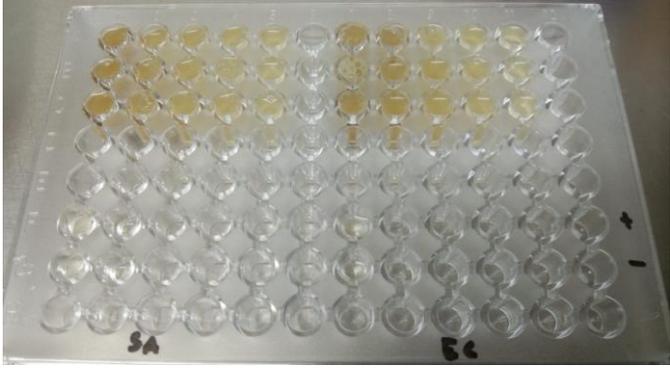
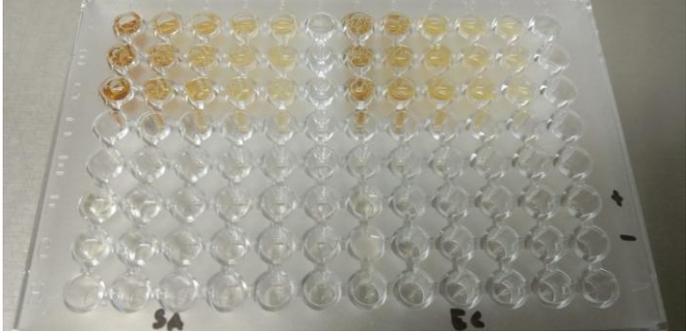
	Ekstrak 70%	
	Ekstrak 60%	
	Ekstrak 50%	
	Ekstrak 40%	

	K+	
	K-	
<i>E. coli</i>	Ekstrak 100%	
	Ekstrak 90%	

	Ekstrak 80%	
	Ekstrak 70%	
	Ekstrak 60%	
	Ekstrak 50%	

	Ekstrak 40%	
	K+	
	K-	

### 6.3 Hasil Uji KHM

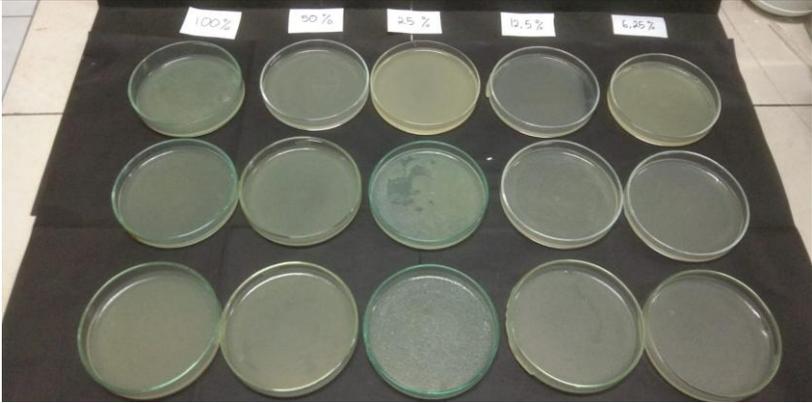
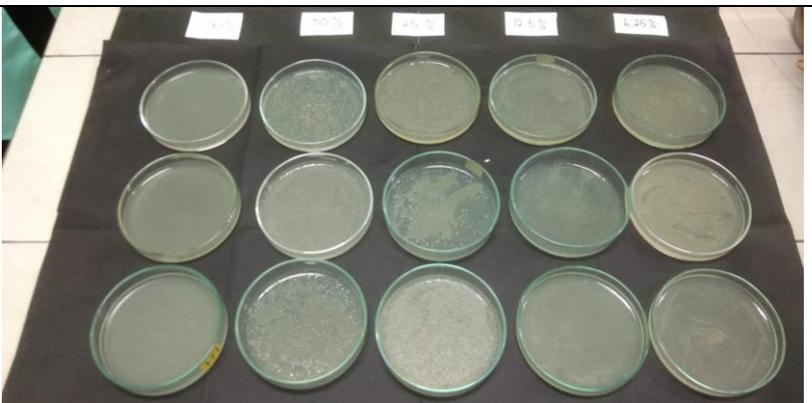
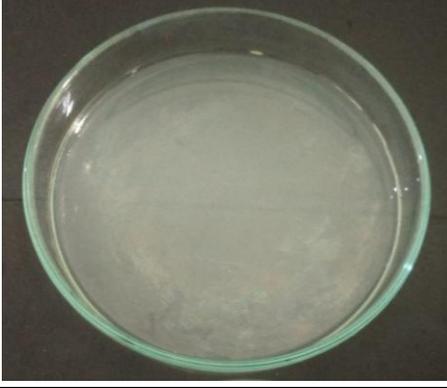
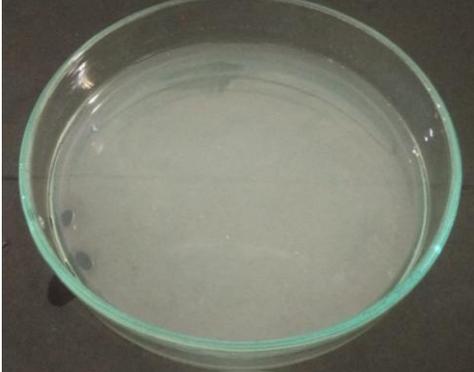
Perlakuan	Gambar
Sebelum Diinkubasi	
Setelah Diinkubasi	

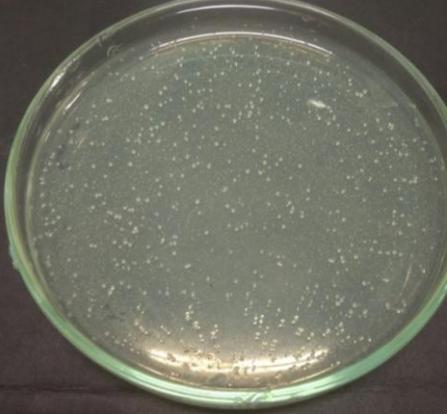
#### Keterangan

Sumuran	Bakteri	Konsentrasi
A1	<i>S. aureus</i>	100%
A2	<i>S. aureus</i>	50%
A3	<i>S. aureus</i>	25%
A4	<i>S. aureus</i>	12,5%
A5	<i>S. aureus</i>	6,25%
B1	<i>S. aureus</i>	100%
B2	<i>S. aureus</i>	50%
B3	<i>S. aureus</i>	25%
B4	<i>S. aureus</i>	12,5%
B5	<i>S. aureus</i>	6,25%
C1	<i>S. aureus</i>	100%
C2	<i>S. aureus</i>	50%
C3	<i>S. aureus</i>	25%
C4	<i>S. aureus</i>	12,5%
C5	<i>S. aureus</i>	6,25%
K+	<i>S. aureus</i>	100%
K-	<i>S. aureus</i>	

Sumuran	Bakteri	Konsentrasi
A7	<i>E. coli</i>	100%
A8	<i>E. coli</i>	50%
A9	<i>E. coli</i>	25%
A10	<i>E. coli</i>	12,5%
A11	<i>E. coli</i>	6,25%
B7	<i>E. coli</i>	100%
B8	<i>E. coli</i>	50%
B9	<i>E. coli</i>	25%
B10	<i>E. coli</i>	12,5%
B11	<i>E. coli</i>	6,25%
C7	<i>E. coli</i>	100%
C8	<i>E. coli</i>	50%
C9	<i>E. coli</i>	25%
C10	<i>E. coli</i>	12,5%
C11	<i>E. coli</i>	6,25%
K+	<i>E. coli</i>	100%
K-	<i>E. coli</i>	

## 6.4 Hasil Uji KBM

No.	Bakteri	Hasil
1.	<i>S. aureus</i>	
2.	<i>E. coli</i>	
3.	K+ <i>S. aureus</i>	
4.	K+ <i>E. coli</i>	

5.	K- <i>S. aureus</i>		
6.	K- <i>E. coli</i>		

## Lampiran 7. Analisis Data SPSS

### 7.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

#### 7.1.1 Uji Normalitas

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

Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona_Hambat Konsentrasi 100%	.183	3	.	.999	3	.933
Konsentrasi 90%	.237	3	.	.977	3	.707
Konsentrasi 80%	.302	3	.	.910	3	.419
Konsentrasi 70%	.239	3	.	.975	3	.698
Konsentrasi 60%	.374	3	.	.778	3	.062
Konsentrasi 50%	.294	3	.	.921	3	.457
Konsentrasi 40%	.196	3	.	.996	3	.878
Kontrol Positif	.271	3	.	.947	3	.557

a. Lilliefors Significance Correction

b. Zona\_Hambat is constant when Konsentrasi = Kontrol Negatif. It has been omitted.

#### 7.1.2 Uji Homogenitas

##### Test of Homogeneity of Variances

Zona\_Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.059	8	18	.06

#### 7.1.3 Uji *One Way Anova*

##### ANOVA

Zona\_Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	486.834	8	60.854	19.064	.000
Within Groups	57.459	18	3.192		
Total	544.293	26			

## 7.2 Bakteri *Eschericia coli*

### 7.2.1 Uji Normalitas

Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Zona_Hambat Konsentrasi 100%	.341	3	.	.846	3	.231
Konsentrasi 90%	.277	3	.	.941	3	.533
Konsentrasi 80%	.316	3	.	.889	3	.351
Konsentrasi 70%	.227	3	.	.983	3	.750
Konsentrasi 60%	.319	3	.	.885	3	.340
Konsentrasi 50%	.234	3	.	.979	3	.720
Konsentrasi 40%	.271	3	.	.947	3	.557
Kontrol Positif	.347	3	.	.835	3	.200

a. Lilliefors Significance Correction

b. Zona\_Hambat is constant when Konsentrasi = Kontrol Negatif. It has been omitted.

### 7.2.2 Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

Zona\_Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.271	8	18	.07

### 7.2.3 Uji *One Way Anova*

#### ANOVA

Zona\_Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	545.261	8	68.158	37.819	.000
Within Groups	32.440	18	1.802		
Total	577.701	26			

## Lampiran 8. Kartu Pembimbingan Skripsi



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

### PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Farida Qudsiyyah  
NIM : 17620055  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : 9  
Pembimbing : Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si  
Judul Skripsi : Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	15 Februari 2021	Konsultasi BAB I	
2.	29 Maret 2021	Konsultasi revisi BAB I, II, dan III	
3.	7 April 2021	Konsultasi revisi BAB I, II, dan III	
4.	7 Mei 2021	Konsultasi revisi BAB I, II, dan III	
5.	10 Mei 2021	Acc Proposal Skripsi	
6.	23 November 2021	Konsultasi BAB I-V	
7.	30 November 2021	Konsultasi Revisi BAB I-V	
8.	2 Desember 2021	Konsultasi Revisi BAB I-V	
9.	4 Desember 2021	Konsultasi Revisi BAB I-V	
10.	6 Desember 2021	ACC Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si  
NIP. 197410182003122002



Malang, 7 Desember 2021  
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.  
NIP. 197410182003122002

## Lampiran 9. Kartu Bimbingan Skripsi Integrasi



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

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933

Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

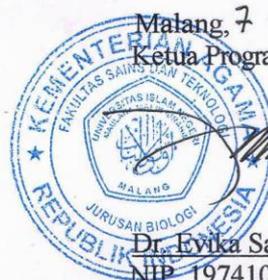
**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Farida Qudsiyyah  
NIM : 17620055  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : 9  
Pembimbing : Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A  
Judul Skripsi : Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Eschericia coli*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	21 April 2021	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan II	
2.	27 April 2021	Konsultasi Hasil Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan II	
3.	10 Mei 2021	Konsultasi Hasil Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan II	
4.	18 Mei 2021	Acc Proposal Skripsi	
5.	18 November 2021	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB I sd. BAB IV	
6.	22 November 2021	Konsultasi Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB I sd. BAB IV	
7.	29 November 2021	Acc Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A.  
NIP. 19740602 2009011 010



Malang, 7 Desember 2021  
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.  
NIP. 197410182003122002

## Lampiran 10. Lembar Bukti Cek Plagiasi



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**Form Checklist Plagiasi**

**Nama :Farida Qudsiyyah**

**NIM : 17620055**

**Judul : Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*)  
 Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan  
*Eschericia coli***

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M. Sc		
2.	Berry Fakhry Hanifa, M. Sc		
3.	Bayu Agung Prahardika, M. Si	18%	

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**

NIP. 19741018 200312 2 002