

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT,
DAN N-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

**oleh:
WIDI ARTHA POERWANTO
NIM. 19630040**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT,
DAN N-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

**oleh:
WIDI ARTHA POERWANTO
NIM. 19630040**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

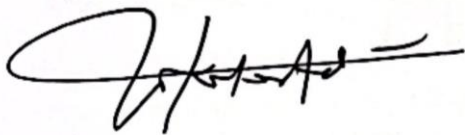
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT,
DAN N-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

oleh:
WIDI ARTHA POERWANTO
NIM. 19630040

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 16 Mei 2023

Pembimbing I



Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc
NIP. 19710311 200312 1 002

Pembimbing II



A. Ghannaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia



Rachmawati Angsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT,
DAN N-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

oleh:
WIDI ARTHA POERWANTO
NIM. 19630040

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 13 Juni 2023**

Penguji Utama	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)
Ketua Penguji	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Si NIDT. 19900906 20180201 2 239	(.....)
Sekretaris Penguji	: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc : NIP. 19710311 200312 1 002	(.....)
Anggota Penguji	: A. Ghanaime Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia


Rachmawati Angsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Widi Artha Poerwanto
NIM : 19630040
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 18 Mei 2023
Yang membuat pernyataan



Widi Artha Poerwanto
NIM. 19630040

MOTTO

***“Dan barang siapa bertaqwa kepada Allah, niscaya Dia menjadikan
kemudahan baginya dalam urusannya”***

Q.S At-Talaq [65]: 4

dan

“Bukan Allah tidak tahu sedihmu, tetapi Allah tahu kamu kuat”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin. Dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan rasa syukur kepada Allah Swt. atas segala nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Saya persembahkan karya ini kepada:

Kedua orang tua saya, Ayah Danang Poerwanto dan Mama Arini Puspitasari yang selalu dan tiada henti memanjatkan doa terbaik untuk saya, memberikan dukungan baik berupa material maupun non-material seperti nasihat, motivasi serta kasih yang tak terhingga kepada saya hingga saya mampu menyelesaikan karya ini. Kedua adik saya Satria dan Bintang yang selalu memotivasi dan mendoakan saya untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc selaku pembimbing utama dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku pembimbing agama sekaligus dosen wali yang telah sabar dalam membimbing serta memberikan dukungan kepada saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Ibu Dr. Akyunul Jannah S.Si., M.P dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku penguji yang telah membimbing dan memberikan arahan serta masukan dalam proses penyelesaian skripsi saya. Para dosen dan seluruh laboran Program Studi Kimia UIN Malang yang telah membantu saya menyelesaikan penelitian.

Saya ucapkan terima kasih kepada partner tersabar saya yakni Muhajir Aryansyah yang memberikan dukungan, menemani saya dalam kondisi apapun, mendengarkan keluh kesah saya, dan menjadi salah satu penyemangat terbaik saya. Haifa dan Farin yang sudah banyak membantu saya dan juga telah menjadi teman dalam segala hal dari awal perkuliahan hingga sekarang. Sahabat kecil saya FELADINA yang selalu men-support saya dalam segala hal. Semua teman dekat saya yang paling mengerti, memberikan bantuan, dan mau direpotkan. Terima kasih dan semoga Allah Swt. selalu memudahkan urusan kalian, *see you on top!*.

Terakhir, terima kasih yang tak terhingga saya ucapkan kepada diri saya sendiri yang sudah kuat dan bertahan melalui banyak hal. Selamat dan terima kasih Widi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “ **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***”. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad saw. yang telah menerangi dunia dengan cahaya iman dan Islam.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu proses penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini, penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Sri Harini, M.Si, selaku dekan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc, selaku dosen pembimbing utama yang telah sabar memberikan bimbingan, pengarahan, masukan, dan motivasi kepada penulis.
5. Bapak A. Ghana'im Fasya, M.Si, selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan banyak pengarahan, bimbingan serta saran kepada penulis.
6. Penguji utama dan ketua penguji dalam sidang skripsi penulis yang selalu memberikan saran terhadap isi naskah skripsi sehingga penyusunan naskah skripsi dapat terselesaikan dengan baik.
7. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu pengetahuan, pengalaman, dan wawasan sebagai pedoman bagi penulis

8. Seluruh Laboran Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang atas bantuan dan arahan selama proses penelitian.
9. Kedua orang tua yang senantiasa memberikan doa, dukungan, nasihat, dan motivasi serta keluarga yang menghibur dan memberikan semangat kepada penulis.
10. Teman-teman kimia yang telah membantu, menemani, berbagi informasi dan berjuang bersama-sama.
11. Semua pihak yang telah memberikan informasi, motivasi, bantuan, dan nasihat kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan pada penulisan skripsi ini baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasa. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka dengan saran dan kritik yang bersifat membangun dari berbagai pihak agar penulisan skripsi ini dapat lebih baik lagi. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan dapat menjadi informasi yang berguna dalam ilmu pengetahuan, aamiin.

Malang, 17 Mei 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1 Buah Lerak (<i>Sapindus rarak</i>).....	8
2.2 Kandungan Buah Lerak.....	9
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.4 <i>Escherichia coli</i>	13
2.5 Ekstraksi Sonikasi	14
2.6 Uji Fitokimia	15
2.7 Spektrofotometri UV-Vis	16
2.8 Spektrofotometri FTIR.....	16
2.9 Antibakteri.....	17
2.10 Uji Disk Difusi	18
2.11 ANOVA	19
 BAB III METODE PENELITIAN	 21
3.1 Waktu dan Tempat	21
3.2 Alat dan Bahan	21
3.2.1 Alat	21
3.2.2 Bahan.....	21
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Tahapan Penelitian	22
3.5 Prosedur Kerja.....	23
3.5.1 Preparasi <i>Sapindus rarak</i>	23
3.5.2 Ekstraksi Sonikasi	23

3.5.3 Uji Fitokimia	24
3.5.3.1 Uji Alkaloid	24
3.5.3.2 Uji Flavonoid	25
3.5.3.3 Uji Saponin	25
3.5.3.4 Uji Tanin	25
3.5.3.5 Uji Fenol	26
3.5.3.6 Uji Steroid/Triterpenoid	26
3.5.4 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	26
3.5.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri FTIR.....	27
3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri	27
3.5.6.1 Pembuatan Media	27
3.5.6.2 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	28
3.5.6.3 Peremajaan Bakteri	28
3.5.6.4 Pembuatan Inokulum Bakteri	28
3.5.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri	29
3.6 Analisis Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Preparasi Sampel	31
4.2 Ekstraksi Sampel	32
4.3 Uji Fitokimia	34
4.3.1 Uji Alkaloid.....	35
4.3.2 Uji Flavonoid.....	37
4.3.3 Uji Saponin.....	38
4.3.4 Uji Tanin	39
4.3.5 Uji Fenol.....	40
4.3.6 Uji Triterpenoid.....	41
4.4 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	43
4.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri FTIR.....	48
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri	52
4.7 Analisis Data	61
4.8 Perspektif Pemanfaatan Buah Lerak dalam Islam.....	63
BAB V PENUTUP.....	70
5.1 Kesimpulan.....	70
5.2 Saran.....	71
DAFTAR PUSTAKA.....	72
LAMPIRAN.....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Buah Lerak (<i>Sapindus rarak</i>)	8
Gambar 2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	13
Gambar 2.3	<i>Eschericia coli</i>	14
Gambar 4.1	Sampel Buah Lerak (a) Basah;(b) Serbuk	32
Gambar 4.2	Hasil Ekstraksi Buah Lerak dengan Pelarut (a) Etanol;(b) Etil Asetat;(c) n-Heksana	34
Gambar 4.3	Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Mayer	36
Gambar 4.4	Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Dragendroff	37
Gambar 4.5	Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl	38
Gambar 4.6	Perkiraan Reaksi Uji Saponin.....	39
Gambar 4.7	Perkiraan Reaksi Senyawa Tanin dengan FeCl ₃	40
Gambar 4.8	Perkiraan Reaksi Uji Fenol.....	41
Gambar 4.9	Perkiraan Reaksi Uji Triterpenoid.....	42
Gambar 4.10	Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Buah Lerak.....	44
Gambar 4.11	Hasil Spektra FTIR Ekstrak Buah Lerak.....	48
Gambar 4.12	Zona Hambat (a) Ekstrak Etanol; (b) Etil Asetat; (c)n-Heksana Buah Lerak; (d) Kontrol Positif dan Negatif; (e) Kontrol Pelarut terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Gambar 4.13	Zona Hambat a) Ekstrak Etanol; (b) Etil Asetat; (c)n-Heksana Buah Lerak; (d) Kontrol Positif dan Negatif; (e) Kontrol Pelarut terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	57

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan antara Pengaruh Konsentrasi dan Pelarut.....	22
Tabel 4.1 Rendemen Hasil Ekstrak Ekstraksi Buah Lerak dengan Variasi Pelarut.....	33
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Lerak	34
Tabel 4.3 Panjang Gelombang Maksimum Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Etanol (EE), Ekstrak Etil Asetat (EEA), dan Ekstrak n-Heksana (ENH) Buah Lerak.....	45
Tabel 4.4 Interpretasi spektra FTIR Ekstrak Buah Lerak.....	49
Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Lerak terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	53
Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Lerak terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	56
Tabel 4.7 Hasil <i>One Ways Anova</i> pada <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Tabel 4.8 Hasil <i>One Ways Anova</i> pada <i>Escherichia coli</i>	62
Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Jenis Pelarut terhadap Zona Hambat	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	86
Lampiran 2. Diagram Alir Penelitian.....	87
Lampiran 3. Perhitungan.....	94
Lampiran 4. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	96
Lampiran 5. Data Hasil Penelitian	96
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian.....	101

ABSTRAK

Poerwanto, Widi Artha. 2023. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc, Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si

Kata-kata kunci: *Sapindus rarak*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibakteri, etil asetat, etanol, n-heksana

Tumbuhan lerak (*Sapindus rarak*) dikenal sebagai salah satu tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat. Manfaat yang dimiliki buah lerak salah satunya disebabkan oleh adanya kandungan metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologi yaitu sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta senyawa yang berperan sebagai antibakteri.

Penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi sonikasi dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana. Uji fitokimia pada hasil ekstraksi meliputi uji senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid, dan triterpenoid. Aktivitas antibakteri ditentukan melalui pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram pada konsentrasi ekstrak 12,5%, 25%, 50%, dan 100% terhadap bakteri uji. Analisis data dilakukan menggunakan uji ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan triterpenoid, pada ekstrak etil asetat terdapat golongan, flavonoid, fenol, tanin, dan triterpenoid. Sedangkan pada ekstrak n-heksana terdapat golongan senyawa fenol, tanin, dan triterpenoid. Hasil ini juga diperkuat oleh hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan UV-Vis. Ekstrak etil asetat buah lerak memberikan aktivitas tertinggi pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing sebesar 14,12 mm dan 15,53 mm. Uji ANOVA memperlihatkan bahwa variasi pelarut memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri pada α 0,05 dengan pelarut etil asetat sebagai pelarut terbaik.

ABSTRACT

Poerwanto, Widi Artha. 2023. **Antibacterial Activity Test of Lerak Fruit (*Sapindus rarak*) Ethanol, Ethyl Acetate, and n-Hexane Extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor 1: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc, Advisor II: A. Ghanaim Fasya, M.Si

Keywords: *Sapindus rarak*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, antibacterial, ethyl acetate, etanol, n-hexane

The lerak plant (*Sapindus rarak*) is renowned for its numerous benefits. Among these benefits is its possession of secondary metabolites with pharmacological effects, particularly as antibacterial agents. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of lerak fruit extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria, as well as identify the compound groups present.

The sonication extraction method was employed in this research, utilizing ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. Phytochemical tests were conducted on the extraction results to determine the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, phenols, steroids, and triterpenoids. The antibacterial activity was assessed through a disc diffusion method, using extract concentrations of 12.5%, 25%, 50%, and 100% against the bacteria. The data obtained from the bacterial inhibition zones were analyzed using an ANOVA test.

The results revealed that the ethanol extract of lerak fruit contained secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, phenols, tannins, and triterpenoids. The ethyl acetate extract exhibited the presence of flavonoids, phenols, tannins, and triterpenoids. On the other hand, the n-hexane extract contained phenols, tannins, and triterpenoids. These findings were further supported by FTIR and UV-Vis spectrophotometer data. Notably, the ethyl acetate extract of lerak fruit displayed the highest antibacterial activity, with bacterial inhibition zones of 14.12 mm and 15.53 mm against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, respectively. The ANOVA test confirmed that the variation in solvents had a significant effect on antibacterial activity at a significance level of $\alpha = 0.05$ with the best value in ethyl acetate solvent.

مستخلص البحث

بوروانتو، ويدي أرتا، ٢٠٢٣. اختبار نشاط مضادة البكتيريا لمستخرجة الإيثانول وخلات الإيثيل و ن-الهكسان من فاكهة صابونية رارك (*Sapindus rarak*) على المكورات العنقودية الذهبية وبكتيريا الإشريكية القولونية. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. تري كوستونو عدي، الماجستير. المشرف الثاني: أ. غنايم فاشا، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: صابونية رارك، المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية، مضادة البكتيريا، أسيتات الإيثيل، الإيثانول، ن-الهكسان.

يعرف نبات صابونية رارك (*Sapindus rarak*) بأنه أحد النباتات التي لها فوائد مختلفة. من إحدى فوائد فاكهة صابونية رارك ناتجة عن محتوى المستقبلات الثانوية التي لها تأثيرات دوائية، وهي مضادة البكتيريا. يهدف هذا البحث إلى تحديد نشاط مضادة البكتيريا لمستخرجة فاكهة صابونية رارك على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية وكذلك المركبات التي تعمل كمضادات البكتيريا.

تم إجراء هذا البحث عن طريق طريقة استخراج صوتنة مع المذيبات الإيثانول، خلات الإيثيل، ن-الهكسان. تشمل الاختبارات الكيميائية النباتية على نتائج الاستخراج اختبارات المركبات القلوية والفلافونويد والصابونين والعفص والفينولات والمنشطات والترايتيرينويدات. تم تحديد نشاط مضادة البكتيريا من خلال اختبارها بطريقة انتشار القرص بتركيزات مستخرجة ١٢.٥% و ٢٥% و ٥٠% و ١٠٠% على بكتيريا الاختبار. تم إجراء تحليل البيانات باستخدام اختبار ANOVA. أظهرت النتائج أن مستخرجة إيثانول فاكهة صابونية رارك تحتوي على مركبات مستقلب ثانوية من قلويدات، فلافونويد، صابونين، فينولات، تانينات، وترايتيرينويدس، في مستخرجة أسيتات الإيثيل توجد مجموعات، فلافونويد، فينولات، تانينات، وترايتيرينويدات. بينما في مستخرجة ن-الهكسان هناك فئات من مركبات الفينول والعفص والترايتيرينويدس. يتم تعزيز هذه النتيجة أيضا من خلال نتائج تحديد الهوية باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis و FTIR. أعطى مستخرجة أسيتات الإيثيل من فاكهة صابونية رارك أعلى نشاط في بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية بمقدار ١٤.١٢ ملم و ١٥.٥٣ ملم على التوالي. بناء على اختبار ANOVA، وجد أن تباين المذيب كان له تأثير كبير على نشاط مضادة البكتيريا عند ألف ٠.٠٥ مع أفضل قيمة على مذيب خلات الإيثيل.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah Swt. berfirman dalam surah asy Syu'ara' ayat 7:

﴿أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ﴾

"Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik?"

Berdasarkan ayat tersebut Allah Swt. telah menunjukkan kekuasaannya melalui penciptaan tumbuh-tumbuhan dan tentunya memiliki banyak manfaat yang sangat berlimpah di alam semesta. Hal ini sesuai dengan tafsir Al-Misbah bahwa kata (إلى) *ila/ke* pada firman-Nya di awal ayat ini: (أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ) *awalam yarn ila al-ardh/ apakah mereka tidak melihat ke bumi* merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian, ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhannya dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhannya. Kata (زوج) *zauj* berarti *pasangan* yang dimaksud adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiliki benang sari dan putik sehingga menyatu dalam diri pasangannya dan dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, dan ada juga yang hanya memiliki salah satunya saja

sehingga membutuhkan pasangannya. Kata (كريم) *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. telah melimpahkan anugerah dan kasih sayang kepada sesama makhluk-Nya dengan menumbuhkan dan menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang diilhami ilmu pengetahuan dengan kandungan yang dapat dimanfaatkan potensinya secara tepat oleh makhluk hidup lain untuk suatu hal tertentu. Maka dari itu manusia sebagai makhluk yang dianugerahi akal dan pikiran oleh Allah Swt. hendaknya dapat memanfaatkan potensi tanaman dengan perlakuan dan tujuan yang baik yakni melalui pemikiran mendalam yang didasarkan oleh ilmu pengetahuan. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi untuk dikaji lebih jauh adalah lerak.

Buah lerak (*Sapindus rarak*) merupakan satu dari beberapa jenis tanaman alam lokal yang memiliki potensi dalam suatu bidang terpenting yakni kesehatan (Kelik dan Zuliatus, 2018). Adanya kekhawatiran pada masalah kesehatan muncul akibat maraknya berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri di lingkungan sekitar. Maka dari itu buah ini dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena diketahui memiliki efektivitas antibakteri yang diduga bersumber dari kandungan metabolit sekunder yang dimilikinya. Beberapa penelitian telah melaporkan keberadaan kandungan metabolit sekunder pada buah lerak. Widowati dkk (2022) menyatakan bahwa ekstrak buah lerak dari etanol menunjukkan adanya senyawa antibakteri oleh saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid dan fenol.

Senyawa metabolit sekunder tersebut berpotensi sebagai antibakteri karena dalam mekanismenya mampu merusak dinding sel, menghambat kerja enzim, mengganggu sintesis protein, dan mengubah permeabilitas membran (Pelczar dan Chan, 2008). Senyawa-senyawa fitokimia diketahui dapat menjadi agen antibakteri alami pada bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Septiani dkk, 2017). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang menjadi salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia. Sedangkan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat patogen yang dapat menimbulkan gangguan pencernaan pada manusia dan juga dapat mengganggu kinerja dari organ-organ penting dalam tubuh seperti lambung (Kusuma, 2010).

Aktivitas antibakteri dapat diuji dengan menggunakan metode disk difusi yaitu melalui zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri dalam masing-masing konsentrasi ekstrak tertentu. Mengacu pada penelitian Widowati dkk (2022) tentang ekstrak etanol buah lerak sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat tertinggi sebesar 21,10 mm pada konsentrasi 100%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Puspitaningrum dan Silviana (2015) menunjukkan bahwa potensi ekstrak etil asetat lerak (*Sapindus rarak*) sebagai anti *Escherichia coli* ditunjukkan pada konsentrasi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) adalah 100% (12,9 mm).

Pemanfaatan buah lerak sebagai agen antibakteri dapat dioptimalkan dengan ekstraksi. Pada penelitian ini ekstraksi akan dilakukan menggunakan metode sonikasi di mana dalam metode ini memanfaatkan keberadaan gelombang ultrasonik yang dapat mempercepat waktu dan mempermudah kontak antara sampel dengan pelarut sehingga proses pemindahan senyawa aktif dari dalam sel tanaman

ke pelarut menjadi lebih cepat (Kristina dkk, 2022). Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa zat aktif dalam suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan tepat (Tetti, 2014). Sehingga hasil ekstraksi tentu akan sangat dipengaruhi oleh kepolaran pelarut yang digunakan (Yulianti dkk, 2020). Seperti Puspitaningrum dan Silviana (2015) yang telah melakukan uji aktivitas antibakteri buah lerak menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar dan etil asetat yang bersifat semi polar, di mana didapatkan hasil aktivitas antibakteri yang berbeda. Sedangkan aktivitas antibakteri dari ekstrak non polar buah lerak belum dilakukan penelitian hingga sampai saat ini. Oleh karena itu pada penelitian ini ekstraksi akan dilakukan dengan variasi pelarut berdasarkan perbedaan sifat kepolarannya yaitu etanol, etil asetat dan n-heksana, sehingga kandungan senyawa antibakteri yang bersifat polar, semi polar dan non polar dapat diuji efektivitas antibakterinya. Selain itu, hasil ekstraksi juga dapat dipengaruhi oleh perbandingan jumlah bahan dengan pelarut. Semakin banyak jumlah pelarut maka nilai rata-rata rendemen yang diperoleh juga akan semakin meningkat, karena dengan jumlah pelarut yang tinggi akan memaksimalkan pelarut untuk menyerap lebih banyak senyawa yang terkandung dalam bahan sehingga jumlah rendemen yang diperoleh menjadi maksimal (Handayani dkk, 2016). Seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Handayani dkk (2016) dalam mengekstraksi daun sirsak menggunakan sonikasi dengan rasio bahan dan pelarut yakni 1:5 dan 1:10 didapatkan bahwa rasio 1:10 menghasilkan rendemen yang lebih banyak (11,89%) dibandingkan rasio 1:5 (9,63%).

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan dapat diketahui bahwa tanaman bahan alam buah lerak dengan kandungan senyawa metabolit sekunder

yang dihasilkan memiliki potensi sebagai agen antibakteri pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Oleh karena itu penelitian ini penting dilakukan untuk mendapatkan data teoritis dan bukti ilmiah tentang potensi antibakteri dari ekstrak buah lerak (*Sapindus rarak*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini akan menggunakan variasi pelarut dalam mengekstraksi senyawa antibakteri buah lerak dengan metode sonikasi dan uji aktivitas antibakteri secara disk difusi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia, spektrofotometri UV-Vis, dan spektrofotometri FTIR.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana pada buah lerak (*Sapindus rarak*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
2. Apa saja golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*) yang berperan sebagai antibakteri?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*) yang berperan sebagai antibakteri.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan yakni buah lerak (*Sapindus rarak*) yang berasal dari Kota Malang.
2. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode sonikasi selama 20 menit dengan frekuensi 42 kHz menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana.
3. Identifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam buah lerak (*Sapindus rarak*) menggunakan uji fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan steroid/triterpenoid serta identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.
4. Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan disk difusi.
5. Analisis data menggunakan ANOVA.

1.5 Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini diharapkan:

1. Dapat memberikan informasi ilmiah terkait kandungan golongan senyawa aktif buah lerak yang berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan variasi pelarut

etanol, etil asetat, dan n-heksana sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi.

2. Dapat memberikan informasi tambahan sebagai bentuk upaya untuk *mentadaburi* ayat Alquran yang terkait.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

Buah lerak merupakan tumbuhan alam dengan nama latin yakni *Sapindus rarak* termasuk kedalam tumbuhan berumah satu dari suku *Sapindaceae* yang memiliki ciri morfologi yaitu pohon dengan diameter batang sebesar 1 m dan tingginya 8–40 m, memiliki bentuk daun majemuk menyirip berjumlah ganjil, dengan anak daun berbentuk melebar ke arah pangkal daun sedangkan ujungnya meruncing, serta memiliki bentuk buah bulat dan keras (Tjitrosupomo, 1994). Buah lerak berbentuk bundar tidak sempurna, di mana pada keadaan tua memiliki berwarna cokelat kehitaman dengan permukaan buahnya licin dan agak mengkilap. Tekstur buahnya sedikit berlendir, dan mengeluarkan aroma berbau wangi. Buah Lerak tersusun atas 75% daging buah dengan 25% biji (Wijayanti dkk, 2020). Buah ini dikenal karena kegunaannya sebagai bahan pencuci seperti alternatif pengganti detergen maupun kandungan dalam pasta gigi, bahkan paling banyak digunakan untuk mencuci kain batik agar kualitasnya terjaga (Darwis, 2021).



Gambar 2.1 Buah lerak (*Sapindus rarak*) (Dokumentasi Pribadi)

Klasifikasi dari tanaman lerak (Afriastini, 1990) yaitu:

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledons
Sub Kelas	: Rosidae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Sapindaceae
Marga	: <i>Sapindus</i>
Jenis	: <i>Sapindus rarak</i>

2.2 Kandungan Buah Lerak

Buah lerak mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri seperti diantaranya yakni saponin, alkaloid, flavonoid, tannin, fenol, steroid dan triterpenoid (Widowati dkk, 2022).

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida dengan senyawa aktif permukaan bersifat seperti sabun dan dapat diketahui keberadaannya berdasarkan kemampuan dalam membentuk busa atau buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok, akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin banyak ditemukan dalam tumbuhan dalam bentuk buah, biji maupun kulit (Harborne, 1987). Penelitian yang dilakukan oleh Murni dan Rohman (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak mengandung 5,99% saponin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein melalui zat aktif permukaan saponin yang mirip deterjen dapat digunakan sebagai antibakteri di mana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran dari bakteri akan dirusak (Sani, 2013).

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki satu buah atom nitrogen atau lebih yang memiliki sifat basa makadari itu disebut alkaloid.

Dalam tanaman alkaloid berperan sebagai pelindung dari adanya penyakit, dari serangan hama, sebagai pengatur perkembangan, dan sebagai basa mineral untuk mengatur keseimbangan ion pada bagian-bagian tanaman, senyawa alkaloida yang dihasilkan oleh tanaman termasuk dalam bagian kelompok metabolit sekunder (Siahaan dkk, 2017). Murni dan Rohman (2020) melakukan uji skrining fitokimia golongan alkaloid pada ekstrak etanol buah lerak dan diperoleh alkaloid yang terkandung sebesar 6,12%. Senyawa alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu penyusunan peptidoglikan yang ada dalam sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna (Paju dkk, 2013).

Tanin merupakan metabolit sekunder yang termasuk dalam komponen zat organik yang sangat kompleks, senyawa ini terdiri dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal, mampu mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty dkk, 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks seperti pengendap protein hingga pengkhelet logam. Selain itu berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002). Hasil uji tanin yang dilakukan oleh Isrianto dan Kristanto (2017) menyatakan bahwa kandungan tanin dari ekstrak etanol 70% buah lerak sebesar 5,81%. Pada peranan antibakteri senyawa tanin bekerja dengan mengkoagulasi protoplasma bakteri dan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010).

Flavonoid termasuk dalam suatu senyawa fenol dengan struktur turunan dari anti aromatik flavan atau 2-fenilbenzopira. Golongan flavonoid dapat diinterpretasikan dengan deretan senyawa C₆-C₃-C₆ sehingga kerangka karbonnya

terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Illing dkk, 2017). Hasil uji golongan flavonoid yang dilakukan oleh Isrianto dan Kristanto (2017) didapatkan buah lerak mengandung 1,05% flavonoid. Pada mekanisme antibakteri flavonoid bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Nomer dkk, 2019).

Senyawa fenol termasuk dalam senyawa aglikon yang mengandung 15 atom karbon dan terdiri dari dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier dari 3 atom C6 dan 3 atom karbon sehingga memiliki struktur dasar C6-C3-C6 (Illing dkk, 2017). Dalam mekanisme senyawa fenol atau fenol sebagai antibakteri bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel dan menghambat sintesis yang terjadi pada asam nukleat (Bachtiar dkk, 2012).

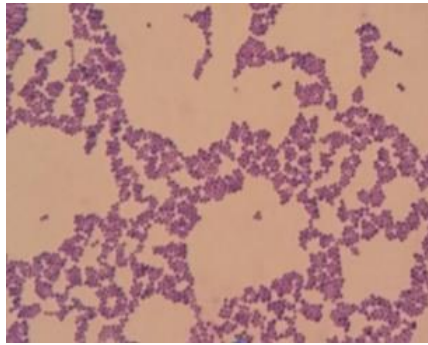
Steroid merupakan senyawa yang tergolong dalam senyawa lemak yang terdiri dari rantai karbon dengan 4 cincin, 3 cincin utama sikloheksana dan 1 cincin siklopentana. Pengelompokan senyawanya berdasarkan pada gugus yang terikat pada kerangka dasar rantai karbon (Kristianti, 2008). Turunan steroid yang banyak keberadaannya adalah sterol. Pada penelitian Turofiq (2019) menyebutkan bahwa buah lerak mengandung steroid sebesar 0,036%. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri (Madduluri dkk, 2013).

Terpen adalah suatu senyawa yang tersusun atas isoprene $\text{CH}_2\text{-C}(\text{CH}_3)\text{-CH-CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 ini. Triterpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa seperti monoterpene dan

seskuiterpen yang mudah menguap, diterpen yang sukar menguap, dan triterpene dan sterol yang tidak menguap. Secara umum senyawa ini larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan (Khotimah, 2016). Pada penelitian Turofiq (2019) menyebutkan bahwa buah lerak mengandung triterepenoid sebesar 0,029%. Mekanisme kerja dari senyawa triterpenoid bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan. Rusaknya protein transmembran yang menjadi akses keluar masuknya senyawa sehingga akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi akibatnya pertumbuhan bakteri terhambat bahkan mati (Cowan, 1999).

2.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri dengan bentuk kokus dan termasuk dalam gram positif yang tertata dalam gerombolan seperti bentuk anggur. *Staphylococcus aureus* bersifat nonmotil, bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif termasuk dalam genus *Staphylococcus* dengan diameter 0,7-1,2 μm . Bakteri genus ini tumbuh dengan cepat pada kondisi aerob dan terdapat CO_2 (Crossley dkk, 2009). *Staphylococcus aureus* termasuk famili *Micrococcaceae* dengan ciri sel tunggalnya memiliki bentuk bola dan tidak berspora. Genus *Staphylococcus* terdiri dari dua spesies, kelompok berupa untaian yang berwarna kuning serta bersifat saproba atau patogen (Bauman, 2012).



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* (Sanu dkk, 2015)

Rosenbach (1884) mengklasifikasi *Staphylococcus aureus* yaitu:

Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Dinding sel pada bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) terdiri atas peptidoglikan yang tebal sehingga menyulitkan untuk ditembus senyawa dari luar yang mana dinding sel tersebut terbentuk dari susunan peptidoglikan, asam teikoat, dan protein A (Winarti dkk, 2009).

2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang termasuk dalam genus *Escherichia* dan terdiri dari 4 spesies, ada yang berwarna dan tidak serta bersifat saproba. *Escherichia coli* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang memiliki bentuk batang dengan panjang 2,5 μm dan diameter 0,8 μm , dengan ujung melengkung berbentuk hemispherical, bergerak menggunakan flagel peritrika dan ada juga yang tidak bergerak. Umumnya bakteri dari famili *Enterobacteriaceae* dapat menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas (Irianto, 2006).



Gambar 2.3 *Escherichia coli* (Khairunnida dkk, 2020)

Escherichia coli dalam Brooks (2001) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Pada bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) lapisan peptidoglikan dinding selnya tipis sehingga memudahkan untuk ditembus senyawa dari luar. Selain itu, lapisan peptidoglikan pada dinding selnya dikelilingi lipoprotein, lipopolisakarida (LPS), fosfolipid, dan juga beberapa protein (Winarti dkk, 2009).

2.5 Ekstraksi Sonikasi

Ekstraksi sonikasi merupakan salah satu metode ekstraksi dibantu oleh keberadaan gelombang ultrasonik. Gelombang ini termasuk dalam gelombang suara yang memiliki frekuensi di atas pendengaran manusia (≥ 20 kHz) (Sholihah, dkk, 2017). Keberadaan gelombang ultrasonik akan membantu proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman yang mana dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason, 1990). Pemilihan pelarut merupakan hal yang sangat penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki tingkat kepolaran

yang sesuai dengan senyawa yang akan diekstrak, sebab senyawa aktif pada tumbuhan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda (Harborne, 1987).

Penelitian yang dilakukan oleh Aryanti dkk (2020) pada buah lerak yang berasal dari Pasar Gede Kota Solo menunjukkan hasil rendemen tertinggi dari ekstraksi menggunakan sonikasi yakni sebesar 46,0198% yang diperoleh pada kondisi rasio sampel dengan pelarut 1:28 g/g dengan konsentrasi etanol 80% dan waktu ekstraksi 20 menit.

2.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode uji fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna yang dihasilkan atau dengan menggunakan suatu pereaksi warna dan kemudian ditandai dengan adanya perubahan warna atau perubahan tertentu. Hal yang berperan dalam uji fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Saragi dan Arsita, 2019).

Penelitian yang dilakukan Isrianto dan Kristanto (2017) menunjukkan bahwa hasil fitokimia yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% buah lerak diperoleh kandungan alkaloid sebesar 6,11%, saponin sebesar 5,99%, tannin sebesar 5,81%, dan flavonoid sebesar 1,05%. Selain itu total fenol juga ditemukan oleh Chaudhary dkk (2019) pada *Sapindus mukorossi* yang juga tergolong dalam genus *sapindus* diketahui mengandung fenolik sebesar 1,43%.

2.6 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan metode analisis secara instrumental dengan dasar interaksi antara energi dan materi. Umumnya prinsip kerjanya berdasarkan hubungan radiasi elektromagnetik dengan materi. Radiasi elektromagnetik merupakan energi yang ditransfer pada kecepatan tinggi, sedangkan materi dapat berupa ion atau molekul dan atom. Jika suatu cahaya berinteraksi dengan bahan atau senyawa maka molekul di dalamnya akan menyerap sebagian cahaya tersebut (Ahriani, 2021).

Spektrofotometeri UV-Vis merupakan teknis analisa spektroskopi menggunakan sumber utama gelombang elektromagnetik dengan ultra violet (UV) dengan panjang gelombang (190-380 nm) dan sinar tampak (Visible) dengan panjang gelombang (380-780 nm) (Lexia dan Ngibad, 2021). Prinsip kerjanya yaitu adanya transisi elektronik dari suatu molekul yang dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai sehingga energi molekul tersebut ditingkatkan ke level yang lebih tinggi, maka terjadi peristiwa penyerapan (absorpsi) energi oleh molekul (Neldawati dkk, 2013).

2.7 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometri infra merah merupakan salah satu alat atau instrument yang dapat digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran dari sampel yang dianalisis tanpa merusak sampel yang didasarkan interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik (Sari dkk, 2018). Spektroskopi inframerah memiliki manfaat untuk identifikasi senyawa organik karena spektrumnya yang sangat kompleks, spektrum yang kompleks dikarenakan

terdiri dari banyak puncak yang menandakan adanya gugus fungsi yang ditandai dengan bilangan gelombang (Sanjiwani dkk, 2020).

Prinsip kerja FTIR adalah interaksi antara energi dan materi. Infrared yang melewati celah ke sampel, di mana celah tersebut berfungsi mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel. Kemudian beberapa infrared diserap oleh sampel dan yang lainnya di transmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar infrared lolos ke detektor dan sinyal yang terukur kemudian dikirim ke komputer dan direkam dalam bentuk puncak-puncak (Thermo, 2001).

2.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri. Antibakteri biasanya terkandung dalam suatu organisme dalam bentuk metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri dilakukan pada dinding sel, yakni umumnya dengan cara mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein yang terjadi, dan menghambat kerja enzim yang sedang berlangsung (Pelczar dan Chan, 2008). Faktor-faktor yang dapat memengaruhi aktivitas zat antibakteri antara lain konsentrasi pH, suhu stabilitas senyawa tersebut, jumlah bakteri yang ada, lamanya inkubasi dan aktivitas metabolisme bakteri (Apriyani dkk, 2015).

Berdasarkan cara kerjanya terdapat 2 jenis yakni: (Dzen dkk, 2003)

1. Bakterisidal bekerja dengan membunuh bakteri tetapi tidak menyebabkan sel lisis atau pecah. Dalam hal ini dapat diperkuat dengan masih adanya jumlah sel total tetap, namun jumlah sel hidup berkurang.

2. Bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dan juga menghambat sintesis protein atau dengan mengikat ribosom. Hal ini dibuktikan dengan adanya jumlah sel yang akan hidup dan mati akan berjumlah tetap.

2.8 Uji Disk Difusi

Prinsip kerja metode disk difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat di mana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh diperkuat dengan ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram atau koloni bakteri dan hal tersebut yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Balouiri dkk, 2016). Diameter area atau zona bening sebanding dengan jumlah mikroba uji yang ditambahkan pada kertas cakram (Bonang, 1992). Kelebihan dari metode cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Listari, 2009).

Kekuatan antibakteri digolongkan menjadi empat kategori yaitu kategori sangat kuat, kuat, sedang dan lemah. Ekstrak dikatakan memiliki daya hambat dengan kategori sangat kuat apabila diameter daya hambat yang 21 mm – 30 mm. Ekstrak dikatakan memiliki daya hambat dengan kategori kuat apabila diameter daya hambat yang dihasilkan berkisar antara 11 mm - 20 mm. Ekstrak dikatakan memiliki diameter daya hambat kategori sedang apabila daya hambatnya berkisar antara 6 mm-10 mm dan diameter daya hambat suatu ekstrak dikatakan lemah yaitu apabila diameter zona hambat yang dihasilkan kurang dari 6 mm (Morales dkk, 2003).

Kontrol positif dalam uji ini menggunakan kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki mekanisme kerja menghambat enzim peptidil

transferase yang berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan peptida dalam proses sintesis protein bakteri (Jamilah, 2015). Antibiotik ini memiliki cakupan yang cukup luas sehingga bisa memudahkan untuk mematikan bakteri jenis gram positif dan juga bakteri jenis gram negatif. Dengan sifatnya yang bakteristatis namun juga memiliki sifat bakterisid menjadikan antibiotik ini cocok digunakan dalam uji antibakteri (Sethi dan Seth, 2009).

Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO (dimetil sulfoksida) yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar dan tidak mempunyai aktivitas biologi (Heni dkk, 2015). Amalia dkk (2014) mengatakan bahwa jika kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO meskipun dengan berbagai macam konsentrasi terbukti tidak menimbulkan adanya aktivitas antibakteri, maka karena hal itu sangat memungkinkan bahwa aktivitas antibakteri yang diperoleh dari pelarut tersebut akan bersifat murni ekstraknya dan tanpa ada pengaruh dari pelarut.

2.9 ANOVA

ANOVA atau *Analysis of variance* adalah salah satu metode analisis *multivariate* yang bertujuan untuk membedakan rata-rata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya. ANOVA dapat dikategorikan dalam statistik parametrik yang bertujuan untuk mengambil kesimpulan dengan menemukan kelompok data yang memiliki perbedaan (Ghozali, 2009). Analisis ini terbagi menjadi dua yaitu analisis varian satu faktor (*one way anova*) dan analisis varian dua faktor (*two ways anova*) (Sirait, 2001).

One way ANOVA digunakan untuk menguji hipotesis komparatif rata-rata k sampel apabila setiap sampel hanya terdiri dari satu kategori. Sedangkan *two ways* ANOVA adalah pengujian anova berdasarkan pengamatan dari dua kriteria (Rahmawati dan Erina, 2020). Analisis anova dua arah bertujuan untuk mengetahui keberadaan pengaruh dari berbagai kriteria yang diuji terhadap hasil yang diinginkan (Hasan, 2003).

Sebagai tujuan perbandingan adapun salah satu metode sederhana yang digunakan yaitu uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji Beda Nyata Terkecil (uji BNT) atau Least Significant Different (LSD) merupakan perbandingan rata-rata antara dua nilai rata-rata atau perbandingan pasangan rata-rata. Metode ini menjadikan nilai BNT atau nilai LSD sebagai acuan dalam menentukan apakah rata-rata dua perlakuan berbeda secara statistik atau tidak. Jika seluruh uji F dari rata-rata semua kelompok signifikan, maka hanya Metode Fisher Least Significant Difference (LSD) yang dapat digunakan (Nainggolan, 2002).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada November 2022 - Maret 2023 yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Biotek Riset Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Pada penelitian ini diperlukan beberapa alat yakni gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, pipet ukur, erlenmeyer, bola hisap, dan labu ukur, oven, mortar dan alu, kapas, gelas ukur, tabung reaksi, labu alas bulat, autoklaf, batang pengaduk, tabung reaksi, spatula, mikropipet, bunsen, jarum ose, blue tip, cawan petri, kertas saring, inkubator, aluminum foil, plastik wrap, timbangan analitik, jangka sorong *rotary evaporator*, kertas saring, kulkas, dan corong Buchner.

3.2.2 Bahan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yakni buah lerak (*Sapindus rarak*). Kemudian bahan yang diperlukan pada proses ekstraksi yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksana. Bahan-bahan lainnya yang dibutuhkan adalah akuades, biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, spiritus, Nutrient Agar, Nutrient Broth, DMSO, dan kloramfenikol. Sedangkan bahan yang digunakan uji identifikasi senyawa menggunakan pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, metanol dan serbuk Mg, HCl pekat, akuades, dan besi (III) klorida.

3.3 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan satu faktor pada masing-masing bakteri uji yaitu menggunakan faktor variasi jenis pelarut yang terdiri dari 3 taraf yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksana. Berdasarkan faktor tersebut diperoleh 3 kombinasi perlakuan, dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 9 satuan percobaan. Kontrol yang digunakan pada percobaan terdiri dari 2 perlakuan kontrol positif dan kontrol negative dan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 6 satuan percobaan. Berikut kombinasi perlakuan variasi jenis pelarut pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara pengaruh konsentrasi dan pelarut

C / P	P ₁ (Etanol)	P ₂ (Etil Asetat)	P ₃ (n-Heksana)
C (100%)	CP ₁	CP ₂	CP ₃

Ket: C= Konsentrasi; P= Pelarut

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi (ANOVA) yaitu *one-ways* ANOVA dan apabila ada pengaruh perlakuan maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 26.0.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi buah lerak
2. Ekstraksi buah lerak dengan metode sonikasi *waterbath* menggunakan frekuensi 42 kHz selama 20 menit pada suhu ruang dengan variasi pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana.
3. Uji fitokimia pada ekstrak buah lerak meliputi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid, dan triterpenoid.

4. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.
5. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) dan media *Nutrient Broth* (NB).
6. Sterilisasi alat dan bahan.
7. Peremajaan bakteri *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
8. Pembuatan inokulum bakteri *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
9. Uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram.
10. Analisis data menggunakan ANOVA.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Preparasi *Sapindus rarak*

Preparasi diawali dengan disiapkan sebanyak 2 Kg buah lerak. Buah lerak tersebut diambil bijinya kemudian dicuci dengan air mengalir dan daging buah dipotong kecil-kecil setelah itu ditimbang. Selanjutnya buah yang sudah dipotong-potong dikeringkan dalam oven pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari atau dirasa benar-benar kering. Daging buah yang telah kering tersebut kemudian ditimbang kembali, lalu dihaluskan dengan blender. Hasil penghalusan diayak hingga diperoleh serbuk buah lerak. Kemudian serbuk ditimbang lalu disimpan dalam wadah plastik tertutup (Hia, 2017).

3.5.2 Ekstraksi Sonikasi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode sonikasi dalam erlenmeyer dengan penambahan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana. Perbandingan sampel dan pelarut yang digunakan pada ekstraksi ini yaitu 1:10 (b/v) (Jamilah, 2021). Kemudian dilanjutkan sonikasi menggunakan sonikator *waterbath* dengan cara

merendam erlenmeyer berisi larutan ekstrak selama 20 menit dengan frekuensi 42 kHz (Handayani dkk, 2016). Setelah ekstraksi selesai larutan disaring dengan corong buchner menggunakan kertas saring jenis Wattman no I dan dihasilkan filtrat ekstrak yang kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat. Pada prosesnya filtrat ditempatkan dalam alas bulat dan dipasang pada alat *rotary evaporator* dan ditambahkan akuades pada wadah air hingga batas normal. Selanjutnya pompa vakum dinyalakan dan diatur pada suhu 45°C. Proses pemekatan dihentikan pada saat mulai terlihat batas garis tebal pada dasar labu dan larutan mulai pekat (Susanty dan Bachmid, 2016). Hasil ekstrak bertekstur pekat yang dihasilkan langsung dikeringkan dengan oven menggunakan suhu 40°C sampai larutan benar-benar mengental dan ditimbang ekstrak buah lerak (Kelik dan Zuliatus, 2018). Lalu ditentukan rendemennya menggunakan persamaan sebagai berikut (Harborne, 1987):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisa}} \times 100\%$$

3.5.3 Uji Fitokimia

3.5.3.1 Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 mg disiapkan dalam 2 tabung reaksi berbeda. Kedua tabung tersebut ditambahkan sebanyak 0,5 mL larutan HCl 2%. Pada tabung yang pertama direaksikan dengan 0,5 mL reagen Dragendroff dan tabung reaksi kedua direaksikan dengan 2-3 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Senyawa alkaloid pada ekstrak akan berinteraksi dengan ion tetraiodomerkurat (II) dan membentuk senyawa kompleks sehingga membentuk

endapan. Hal ini terjadi karena ion merkuri termasuk ion logam berat yang dapat mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa (Svehla, 1990). Sedangkan reaksi dengan Dragendorff dengan senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk adanya endapan berwarna jingga (Septiana dkk, 2005).

3.5.3.2 Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 mg dalam tabung reaksi dilarutkan pada 2 ml etanol panas lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 2 tetes HCl 2N. Hasil positif pengujian flavonoid dengan terjadinya warna merah, kuning atau jingga. Pada reaksinya serbuk logam Mg dan HCl berfungsi menghidrolisis O⁻ glikosil flavonoid menjadi aglikonnya dan menyebabkan gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg. membentuk kompleks yang berwarna merah atau jingga (Khowas, 2021).

3.5.3.3 Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 1 mg dalam tabung reaksi dilarutkan menggunakan 1 ml akuades. Identifikasi dilakukan selama 1 menit jika reaksi mampu menimbulkan terbentuknya busa stabil maka ekstrak tersebut positif mengandung senyawa saponin (Agustanti & Putri, 2018).

3.5.3.4 Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 mg dalam tabung reaksi ditambah 2-3 tetes FeCl₃ 1% pada semua jenis ekstrak hingga mendapatkan hasil positifnya dengan ditandai terbentuknya hijau kehitaman (Manongko dkk, 2020). Perubahan warna terjadi setelah FeCl₃ bereaksi dengan senyawa tanin. Menurut Setyowati, dkk (2014),

penambahan ekstrak tanin dengan FeCl_3 akan menimbulkan warna hijau, merah, ungu dan hitam yang kuat. Di mana terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah penambahan FeCl_3 dikarenakan tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} dan membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikaliumFerri(III).

3.5.3.5 Uji Fenol

Ekstrak sebanyak 1 mg dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes FeCl_3 5% pada semua perlakuan jenis pelarut di mana hasil positif pengujian fenol ditandai dengan terjadinya warna hijau atau biru yang gelap kuat (Manongko dkk, 2020). Reaksi ini terjadi karena senyawa fenol memiliki gugus hidroksil yang dapat bereaksi dengan ion Fe^{3+} pada larutan FeCl_3 5% sehingga terjadinya pembentukan senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Harborne, 1987).

3.5.3.6 Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi. Warna biru sampai hijau menunjukkan hasil positif steroid sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menunjukkan hasil positif triterpenoid (Khowas, 2021).

3.5.4 Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak kasar buah lerak masing-masing dilarutkan dengan pelarutnya sebanyak 5 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur panjang

gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm (Jannah, 2020).

3.5.5 Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR

Ekstrak kasar sebanyak 1 mg digerus dengan 100 mg KBr secara homogen menggunakan mortar agate kemudian dipress menggunakan tekanan 80 torr hingga diperoleh pellet. Kemudian pellet diletakkan pada *sample holder* dan diukur serapannya menggunakan FTIR merk varian tipe FT 1000 pada daerah 4000-400 cm^{-1} (Wati, 2020).

3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.6.1 Pembuatan Media

Media NB atau Nutrient Both dibuat dengan cara penimbangan 0,8 gram NB lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya diencerkan NB menggunakan 100 mL pelarut akuades lalu ditutup dengan aluminium foil hingga rapat. Setelah itu erlenmeyer tersebut dipanaskan sampai mendidih dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya dipindahkan ke tabung reaksi dan ditutup rapat menggunakan kapas pada mulut tabung reaksinya (Muhibah, 2013).

Selanjutnya pembuatan media NA atau Nutrient Agar diawali dengan menimbang 2 gram NA lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya diencerkan NB menggunakan 100 mL pelarut akuades lalu ditutup dengan aluminium foil hingga rapat. Setelah itu erlenmeyer tersebut dipanaskan sampai mendidih dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya dipindahkan ke tabung reaksi dan ditutup rapat menggunakan kapas pada mulut tabung reaksinya (Muhibah, 2013).

3.5.6.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas seperti gelas ukur, labu ukur, dan tip mikropipet dimasukan kedalam plastik tahan panas, alat-alat kaca non presisi seperti tabung reaksi, beaker glass dan erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas, cawan petri dibungkus dengan kertas, media NA dan NB yang sudah larutkan dalam erlenmeyer, kemudian semuanya dimasukkan dalam plastik tahan panas, lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang terbuat dari bahan karet disterilkan dengan direndam dengan alkohol 70% dan jarum ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala bunsen. *Laminar Air Flow* disterilkan dengan lampu UV selama 15 menit dan disemprotkan dengan alkohol 70%. Sterilisasi laminar ini dilakukan sebelum dan sesudah bekerja didalamnya (Rahmadani, 2015).

3.5.6.3 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri menggunakan agar miring NA, peremajaan bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri diambil satu ose menggunakan ose steril kemudian digoreskan pada permukaan agar miring dengan cara slang (zig-zag) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Nurcahyani dan Timous, 2011).

3.5.6.4 Pembuatan Inokulum Bakteri

Hasil peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil sebanyak 1 ose disuspensikan dalam 25 mL media NB secara aseptik dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C. Larutan ini berfungsi sebagai biakan

aktif. Selanjutnya diukur nilai *optical density* (OD) sebesar 0,5 pada panjang gelombang 600 nm (Azizah, 2021).

3.5.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Larutan biakan bakteri hasil inokulum dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri steril steril sejumlah 0,1 mL (Volk & Wheeler, 1993). Secara *pour plate*, media NA dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi larutan bakteri. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat (Rachmawaty, 2016). Selanjutnya kertas cakram (biasanya berukuran 5 mm) yang telah disiapkan direndam dalam larutan ekstrak pada kontrol positif yaitu kloramfenikol, sedangkan kontrol negatifnya yakni pelarut DMSO, dan berbagai konsentrasi ekstrak selama 25 menit dan biarkan meresap (Wigunarti dkk, 2019). Konsentrasi ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana yang dipergunakan yaitu konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% (Rachmawaty, 2016). Setelah itu diambil kertas cakram dan ditempatkan pada media yang memadat secara aseptik dengan cara meletakkan dan sedikit menekan kertas cakram pada permukaan media menggunakan pinset pada ruang yang tidak dekat satu sama lain dan ± 2 cm dari tepi. Setelah itu cawan petri tersebut diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37°C dalam kurun waktu 24 jam (Volk dan Wheeler, 1993). Uji aktivitas antibakteri dilakukan triplo. Diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas antibakteri. Sampel yang mempunyai aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Kemudian luas zona hambat ditentukan dengan persamaan: (Azizah, 2021)

Zona hambat = diameter zona bening – diameter cakram

3.6 Analisis Data

Setelah diperoleh data yakni nilai rata-rata diameter zona hambat dari hasil uji aktivitas antibakteri lalu dilakukan analisis data dengan metode analisis varian yakni *one way ANOVA* untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh perlakuan variasi jenis pelarut ekstrak terhadap rata-rata zona hambat dari masing-masing bakteri uji. Apabila terdapat pengaruh perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui letak perbedaan rata-rata yang signifikan dari kelompok data dengan varian yang sama.

BAB IV

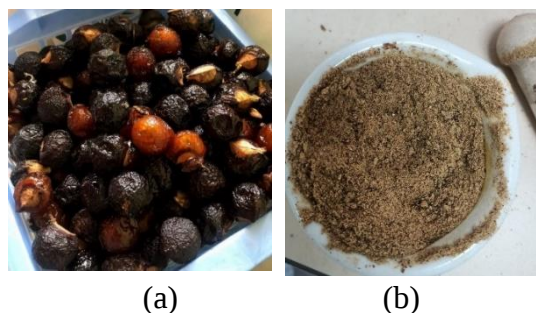
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Sampel basah buah lerak dengan berat 1,52 kg terlebih dahulu dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih melekat pada sampel. Selanjutnya dilakukan pengeringan untuk mengurangi kadar air sampel dan mencegah pertumbuhan jamur pada sampel. Pengeringan sampel dilakukan di Materia Medika dengan oven bersuhu 50°C selama kurang lebih 5 hari. Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena kadar air yang terkandung pada sampel dapat berkurang dalam jumlah besar dengan waktu yang lebih singkat (Muller dkk, 2006). Selain itu, pengeringan menggunakan suhu 50°C masih tergolong aman karena senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel seperti flavonoid tidak akan mengalami kerusakan sampai pada suhu 90°C, saponin tahan pada suhu 70°C, dan tanin akan rusak pada suhu 98,89-101,67 °C (Wahyuni dkk, 2018). Hal ini didukung oleh penelitian Khatulistiwa (2020) yang melaporkan bahwa pengeringan dengan oven suhu 50°C pada daun cemcem (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz) sebagai perlakuan terbaik yang menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi. Melalui proses pengeringan didapatkan berat sampel buah lerak kering sebesar 1,27 kg.

Kemudian sampel dihaluskan untuk menyeragamkan ukuran sampel dan memperbesar luas permukaan agar memudahkan kontak antara serbuk dan pelarut saat proses ekstraksi (Senduk dkk, 2020). Dihasilkan serbuk halus buah lerak

sebesar 1,23 kg dengan karakteristik serbuk berwarna coklat muda. Keseluruhan proses preparasi sampel menghasilkan rendemen sebesar 80,92% dari sampel basah buah lerak.



Gambar 4.1 Sampel buah lerak (a) basah, (b) Serbuk

4.2 Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan untuk memperoleh senyawa-senyawa aktif buah lerak (*Sapindus rarak*). Ekstraksi sampel pada penelitian dilakukan menggunakan metode ekstraksi mekanis (ultrasonik) dan menggunakan pelarut. Dalam ekstraksi mekanis keberadaan gelombang ultrasonik yang merambat melalui medium yang dilewati akan menimbulkan getaran yang akan menghasilkan gelembung kavitasi dengan energi besar yang dapat memecah dinding sel bahan yang diekstrak sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Sholihah dkk, 2017).

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan variasi pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana. Penggunaan varian pelarut ini memungkinkan terjadinya ekstraksi senyawa metabolit sekunder pada tingkat kepolaran yang berbeda yaitu polar, semi polar, dan non polar. Sehingga semua senyawa yang terkandung dalam buah lerak yang bersifat polar, semipolar, maupun non polar dapat terekstrak maksimal. Proses ekstraksi buah lerak dilakukan dengan perbandingan bahan:pelarut yakni

1:10 dan dilakukan selama 20 menit. Filtrat hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarutnya lalu dihitung rendemennya. Hasil pengamatan terhadap, warna ekstrak, berat ekstrak kasar ditunjukkan pada Tabel 4.1 berikut:

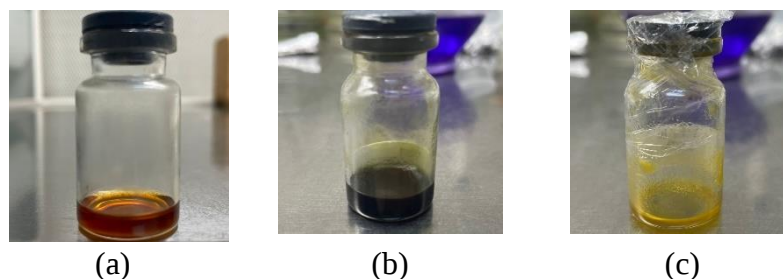
Tabel 4.1 Hasil Ekstrak Pekat Daging Buah Lerak dengan Variasi Pelarut

Variasi Pelarut	Warna Ekstrak Pekat	Berat Ekstrak Kasar (gram)	Rendemen (%)
Etanol	Coklat tua	21,20	70,67
Etil asetat	Hijau tua	0,98	3,26
n-Heksana	Kuning tua	0,06	0,21

Hasil pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki rendemen tertinggi sebesar 70,67% dibandingkan ekstrak etil asetat dan n-heksana. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder pada buah lerak diduga cenderung bersifat polar. Umumnya senyawa metabolit sekunder tanaman di alam berada dalam bentuk glikosidanya yakni masih terikat pada gugus gula sehingga akan lebih terekstrak pada pelarut polar (Amalia dkk, 2018).

Etanol memiliki sifat polar yang berasal dari gugus hidroksi sehingga lebih maksimal untuk menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder pada sampel yang cenderung bersifat polar karena masih berada dalam bentuk glikosidanya. Selain itu, etanol juga mempunyai gugus alkil (non polar) yang dapat menarik senyawa semi polar atau sedikit non polar (Zela dan Diah, 2021). Sementara itu pelarut etil asetat memiliki rendemen yang lebih kecil dari pelarut etanol, hal ini karena etil asetat merupakan pelarut polar-aprotik yang tidak dapat memberikan ion OH^- sedangkan etanol merupakan pelarut polar-protik yaitu yang dapat memberikan ion OH^- sehingga akan lebih mudah untuk berinteraksi dengan gugus fungsional yang polar (Markom, 2007). Sedangkan rendemen pada ekstrak n-heksana menghasilkan nilai terkecil di mana hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terlarut dalam

pelarut non polar relatif sedikit. Hasil ekstraksi buah lerak menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana dalam Gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2 Hasil Ekstraksi (a)Etanol; (b)Etil Asetat; (c)n-Heksana

4.3 Uji Fitokimia

Identifikasi golongan senyawa aktif *Sapindus rarak* dilakukan melalui analisis kualitatif dengan uji fitokimia. Uji ini bertujuan memberikan informasi awal tentang golongan senyawa aktif yang terkandung dalam buah lerak yang berperan sebagai antibakteri. Pengujian ini dilakukan dengan mereaksikan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak dengan suatu pereaksi tertentu sesuai dengan senyawa yang ingin diidentifikasi. Golongan senyawa aktif yang diuji meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, steroid, dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian dan pengamatan diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak buah lerak secara kualitatif ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Lerak

Golongan Senyawa	Jenis pelarut		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Alkaloid			
-Reagen Mayer	+	-	-
-Reagen Dragendorff	+	-	-
Flavonoid	++	+++	-
Saponin	+	-	-
Tanin	+++	++	++
Fenol	+++	+++	++
Steroid	-	-	-
Triterpenoid	+	+	+

Keterangan: (+) Hasil Positif, (-) Hasil Negatif

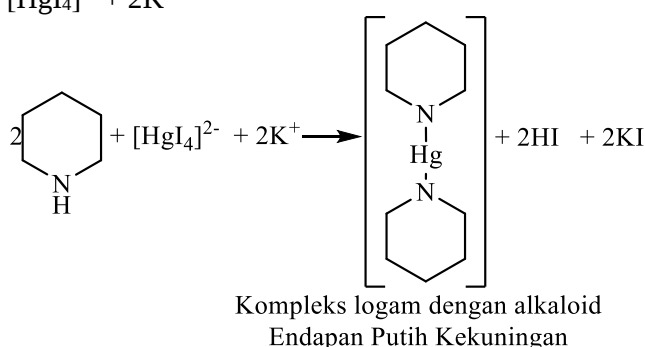
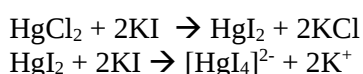
Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak diduga terdapat golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tannin, dan triterpenoid. Adapun ekstrak etil asetat diduga terdapat golongan senyawa flavonoid, tanin, fenol, dan triterpenoid. Sedangkan ekstrak n-heksana diduga terdapat senyawa fenol, tanin, dan triterpenoid. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Widowati dkk (2022) yang telah melakukan uji fitokimia pada ekstrak etanol buah lerak dengan hasil positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan triterpenoid. Selain itu, positif alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenol juga dihasilkan oleh penelitian Puspitaningrum dan Silviani (2015) yang telah melakukan uji fitokimia pada ekstrak etil asetat buah lerak. Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dideskripsikan sebagai berikut:

4.3.1 Uji Alkaloid

Uji kualitatif alkaloid dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak sampel kemudian masing-masing ditambah dengan larutan asam klorida pekat yang berfungsi untuk meningkatkan kelarutan alkaloid pada sampel, di mana senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida untuk membentuk garam yang mudah larut dalam air selain itu alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1987). Lalu masing-masing ditambahkan dengan reagen Mayer dan reagen Dragendorff.

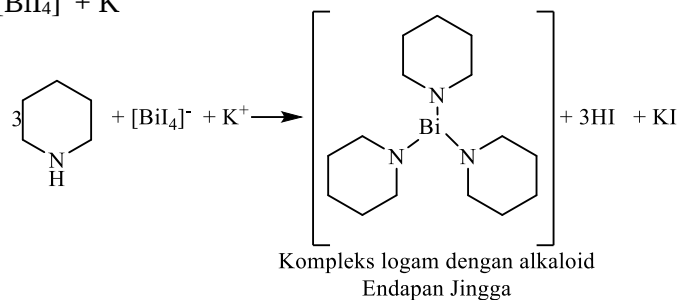
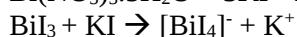
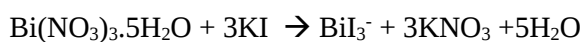
Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Alkaloid merupakan senyawa yang

mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan merkuri menghasilkan endapan putih kekuningan. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.3 berikut:



Gambar 4.3 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer
(Sumaryanto, 2009)

Pada pembuatan pereaksi dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan coklat bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1985). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan bismut menghasilkan endapan berwarna jingga hingga merah. Perkiraan reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.4 berikut:



Gambar 4.4 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff

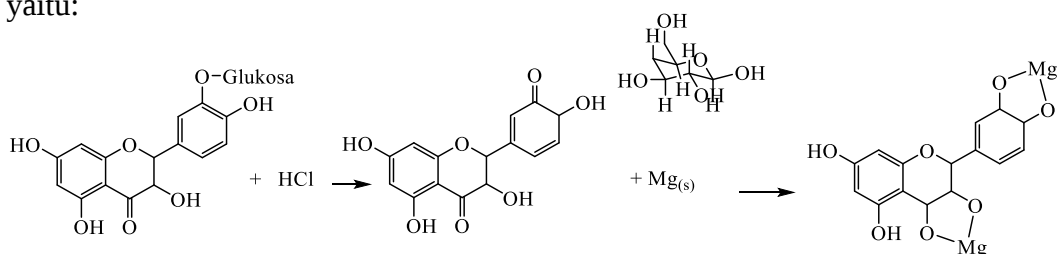
(Sumaryanto, 2009)

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol buah lerak positif mengandung alkaloid dengan ditandai terbentuknya endapan berwarna jingga setelah penambahan reagen Dragendroff dan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan setelah penambahan reagen Mayer. Hasil pada ekstrak etil asetat dan n-heksana buah lerak menunjukkan hasil negatif alkaloid setelah penambahan reagen mayer maupun dragendroff.

4.3.2 Uji Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit ekstrak sampel kemudian ditambahkan etanol panas bertujuan untuk memaksimalkan pelarutan flavonoid. Penambahan serbuk Mg menyebabkan gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg. Adanya HCl pekat akan menghidrolisis O⁻ glikosil flavonoid menjadi aglikonnya di mana H⁺ dari asam yang bersifat elektrofilik akan menggantikan glikosil (Susiloningrum dan Indrawati, 2020). Adanya reduksi oleh HCl pekat dan serbuk Mg akan menghasilkan senyawa kompleks garam flavilium yang berwarna merah, kuning, atau jingga pada senyawa flavonol, flavonon, flavanonol, serta xanton (Marliana dkk, 2005).

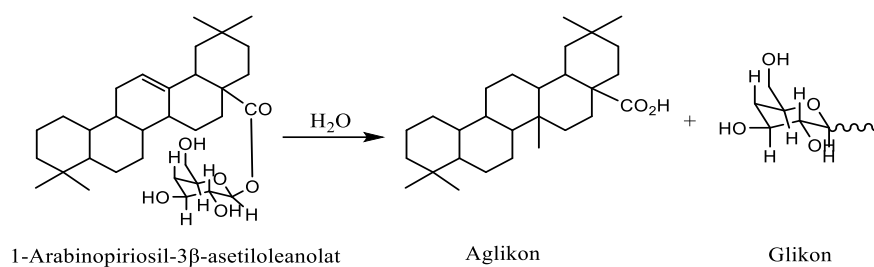
Hasil uji flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat mengandung senyawa flavonoid dengan ditandai terbentuknya warna kejinggaan pada hasil ekstrak setelah direaksikan. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang bersifat polar karena tersebar luas pada tumbuhan yang berbentuk glikosida dan berikatan dengan gula (Susiloningrum dan Indrawati, 2020). Menurut Ekawati dkk (2017) metabolit sekunder ini dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, air, metanol, serta pelarut semi polar seperti etil asetat. Perkiraan reaksi yang terjadi yaitu:



Gambar 4.5 Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonol dengan Pereaksi Logam Mg dan HCl (Nugrahani dkk, 2016)

4.3.3 Uji Saponin

Uji kualitatif saponin dilakukan dengan cara sedikit ekstrak ditambahkan akuades yang mana disebut dengan uji busa. Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan metode forth yaitu dengan menambahkan akuades dan dikocok selama 30 detik dan mengamati perubahan yang terjadi. Uji busa menunjukkan adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih stabil dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikonnya (Rusdi, 1990). Saponin dapat larut dalam air karena adanya gugus hidrofil (OH) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air (Riawan, 1990). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji saponin sebagai berikut:



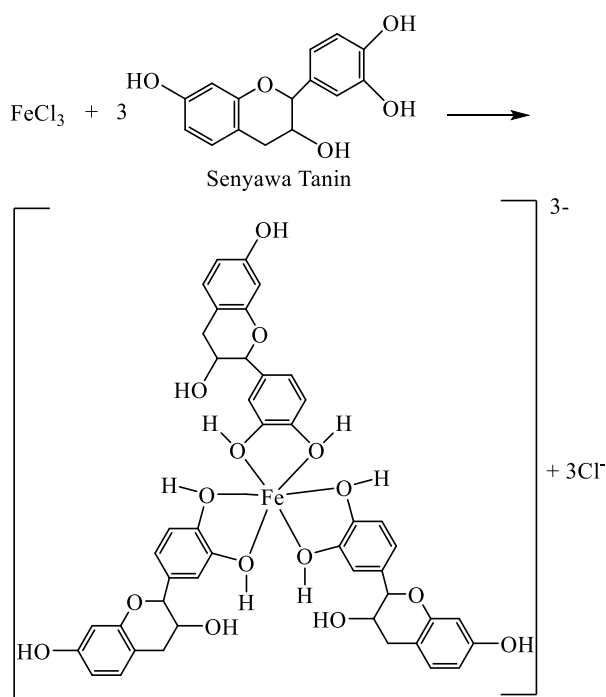
Gambar 4.6 Perkiraan Reaksi Uji Saponin (Marliana dkk, 2005)

Hasil uji saponin pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak positif mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya banyak gelembung stabil setelah pengocokan sampel ekstrak dengan akuades. Sedangkan pada ekstrak etil asetat dan n-heksana menunjukkan hasil negatif karena tidak ada busa yang terbentuk. Hal ini menunjukkan bahwa saponin yang terkandung dalam buah lerak cenderung bersifat polar karna hanya dapat tertarik oleh pelarut etanol yang bersifat polar. Harborne (1987) mengatakan bahwa saponin yang cenderung bersifat polar merupakan saponin yang mengandung glikosida triterpen. Di mana hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Agustanti dan Putri (2018) yang melakukan identifikasi saponin ekstrak lerak positif mengandung saponin triterpen.

4.3.4 Uji Tanin

Uji fitokimia senyawa tanin dilakukan dengan cara menambahkan reagen FeCl_3 1% ke dalam ekstrak. Penambahan reagen FeCl_3 1% dapat menentukan keberadaan gugus fenol dalam ekstrak karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil positif senyawa tanin ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan FeCl_3 . Hal itu dikarenakan terbentuknya kompleks antara tanin dengan ion Fe^{3+} yang disebabkan adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan

tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya (Ergina dkk, 2014). Harborne (1987) menyampaikan bahwa untuk mendeteksi senyawa ini yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan FeCl_3 1% dalam air akan menimbulkan warna hijau, ungu, merah, dan biru atau hitam yang kuat. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji ini sebagai berikut:



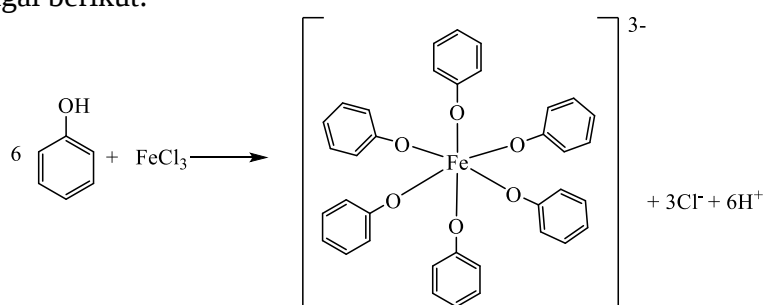
Gambar 4.7 Perkiraan Reaksi Senyawa Tanin dengan FeCl_3 (Perron dan Brugmaghim, 2009)

Hasil uji tanin menunjukkan bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak positif mengandung senyawa tanin di mana hal itu ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan pereaksi FeCl_3 1%.

4.3.5 Uji Fenol

Uji fitokimia senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan reagen FeCl_3 5% ke dalam ekstrak. Senyawa fenol mengandung gugus hidroksil yang akan

bereaksi dengan ion Fe^{3+} pada larutan FeCl_3 5 % sehingga terjadinya pembentukan senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Harborne, 1987). Reaksi FeCl_3 dengan sampel menghasilkan pembentukan warna pada uji ini, di mana yang berperan adalah ion Fe^{3+} karena mengalami hibridisasi. Hasil positif pengujian fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau hingga hijau kehitaman pada sampel setelah penambahan FeCl_3 5 %. Perkiraan reaksi yang terjadi pada pengujian ini yakni sebagai berikut:



Gambar 4.8 Perkiraan Reaksi Uji Fenol (Nugrahani dkk, 2016)

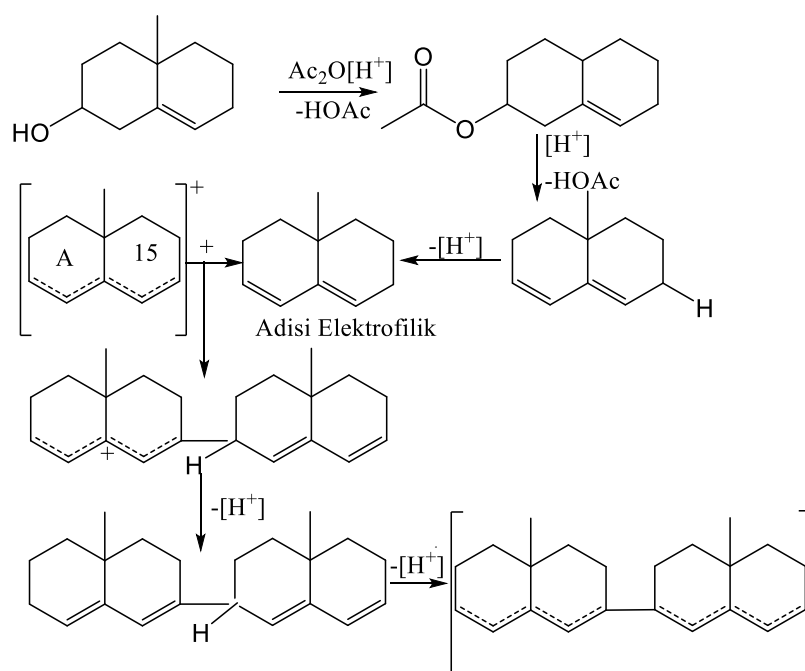
Hasil uji fenol menunjukkan bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak positif mengandung senyawa tanin di mana hal itu ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan pereaksi FeCl_3 5%.

4.3.6 Uji Triterpenoid

Uji golongan triterpenoid dilakukan dengan penambahan reagen Liebermann Burchard (kloroform, asam anhidrat, dan asam sulfat) ke dalam sampel buah lerak. Penambahan kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa triterpenoid yang terkandung dalam sampel. Asam asetat anhidrat berfungsi membentuk turunan asetil dalam proses asetilasi gugus hidroksil (Makhrusah, 2021). Asam asetat anhidrat nantinya akan bereaksi dengan asam sulfat pekat membentuk karbokation, yang mana karbokation ini akan bereaksi dengan atom O

pada gugus OH dalam senyawa triterpenoid. Sehingga reaksi ini akan menyebabkan terjadinya perubahan warna menjadi merah kecokelatan. Adanya asam sulfat pekat akan menyebabkan dehidrasi pada senyawa triterpenoid (Hanifah dkk, 2021).

Pada saat penambahan Liebermann-Burchard reaksi dimulai dengan asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida di mana gugus ini merupakan gugus pergi yang baik dan akan lepas atau tereliminasi sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya gugus hidrogen dengan elektronnya akan lepas menyebabkan perpindahan ikatan rangkap sehingga akan terjadi resonansi pada senyawa yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Adanya serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik dengan diikuti lepasnya hidrogen. Gugus hidrogen dan elektronnya mengalami eliminasi dan senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang menghasilkan terbentuknya cincin berwarna kecokelatan (Nugrahani dkk, 2016). Perkiraan reaksi yang terjadi pada pengujian ini yakni sebagai berikut:



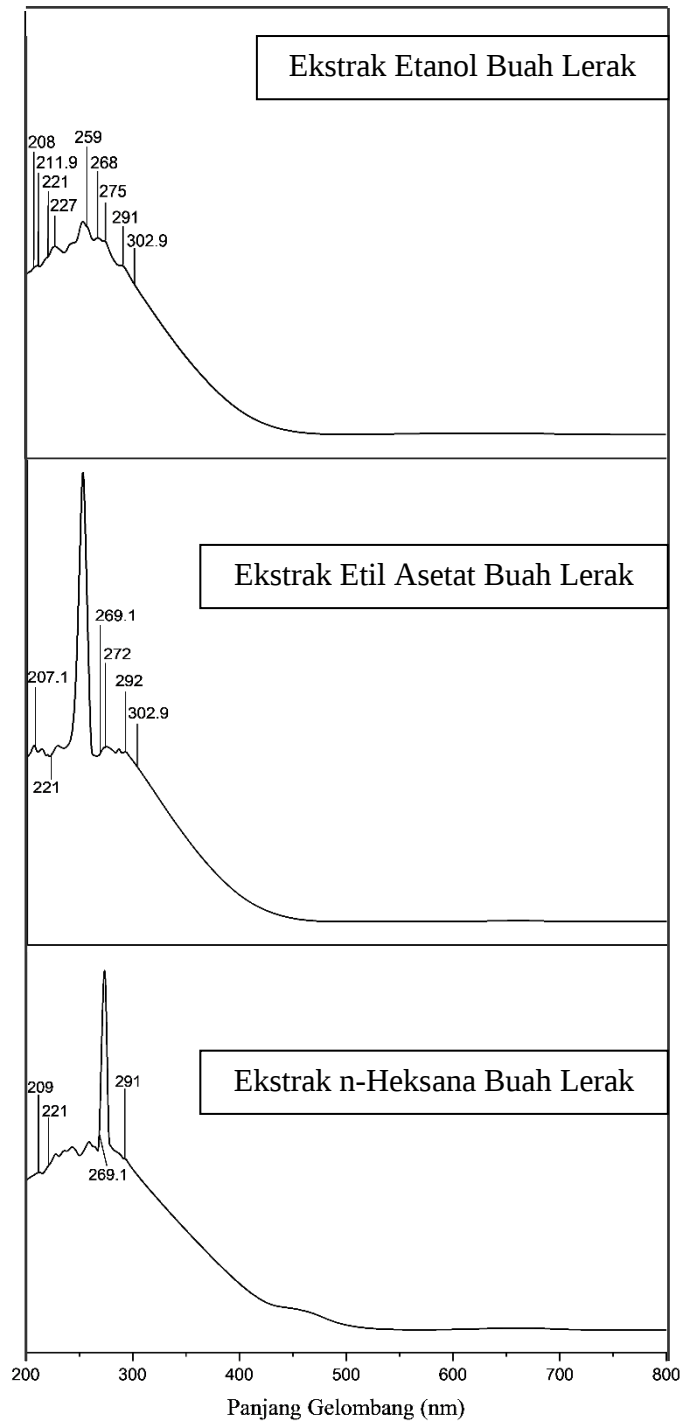
Gambar 4.9 Perkiraan Reaksi Uji Triterpenoid (Nugrahani dkk, 2016).

Hasil uji didapatkan bahwa ketiga jenis ekstrak menunjukkan hasil positif triterpenoid. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana menunjukkan positif triterpenoid dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada ekstrak etanol sedangkan pada ekstrak etil asetat dan n-heksana terbentuk warna merah kecoklatan. Senyawa triterpenoid positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, ungu, hingga kecoklatan (Burkey, 1974). Menurut Robinson (1995) bahwa senyawa triterpenoid akan terdeteksi oleh pereaksi Liebermann Burchard dengan menunjukkan terbentuknya warna cincin kecoklatan. Triterpenoid tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C_{30} yang menyebabkan sifatnya nonpolar dan memiliki gugus hidroksi sehingga memiliki sifat polar (Putri dkk, 2013). Ekstrak etanol buah lerak diketahui positif mengandung golongan triterpenoid hal ini diduga dalam ekstrak etanol golongan ini masih terikat pada ikatan glikosidanya sehingga dapat ikut terekstrak dalam etanol yang bersifat polar. Adapun ekstrak etil asetat buah lerak juga positif mengandung triterpenoid karena pelarut ini bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas lebar dari polar hingga nonpolar (Putri dkk, 2013). Sedangkan ekstrak n-heksana positif mengandung triterpenoid karena memiliki sifat non polar di mana sifat kepolaran pelarut ini sama dengan kepolaran golongan triterpenoid yaitu bersifat non polar.

4.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel hasil ekstraksi diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memperkuat dugaan keberadaan golongan senyawa aktif hasil dari uji fitokimia. Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada ekstrak etanol, etil

asetat, dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*) dapat dilihat pada Gambar 4.10 berikut:



Gambar 4.10 Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Buah Lerak

Tabel 4.3 Panjang Gelombang Maksimum Hasil Spektra UV-Vis Ekstrak Etanol (EE), Ekstrak Etil Asetat (EEA), dan Ekstrak n-Heksana (ENH) Buah Lerak

Panjang Gelombang (nm)			Transisi Elektronik	Gugus Fungsi	Dugaan Senyawa*
EE	EEA	ENH			
227	-	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C terkonjugasi	Alkaloid
259	-	-	$\eta \rightarrow \pi^*$	C=N	Alkaloid
302.9	302.9	-	$\eta \rightarrow \pi^*$	C=O	Flavonoid
275	272	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C terkonjugasi	Flavonoid
211.9	-	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C tak terkonjugasi	Saponin
221	221	221	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Fenol
268	269.1	269.1	$\eta \rightarrow \pi^*$	O-H	Fenol
291	291	291	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Tanin
208	207.1	209	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C tak terkonjugasi	Triterpenoid

Keterangan: *Dugaan Senyawa berdasarkan hasil uji fitokimia

Spektra pada Gambar 4.10 dan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa terdapat dua puncak serapan yang diduga alkaloid dari ekstrak etanol sebesar 227 nm dan 259 nm. Pada serapan maksimum 227 nm terjadi akibat transisi elektron dari orbital ikatan ke orbital anti ikatan ($\pi \rightarrow \pi^*$) oleh sistem terkonjugasi struktur aromatis (C=C). Sedangkan pada λ maks 259 nm diakibatkan oleh adanya eksitasi elektron bebas (*nonbonding electrons*) pada orbital tak berikatan ke orbital anti ikatan ($\eta \rightarrow \pi^*$) oleh gugus C=N. Menurut Silalahi dkk (2018) molekul yang memiliki ketiga jenis orbital itu, yaitu orbital ikatan pi aromatis, orbital tak ikatan dan orbital anti ikatan pi aromatis adalah senyawa golongan alkaloid yang memiliki struktur dasar isokuinolin. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Silalahi dkk (2018) menghasilkan serapan maksimum dari isolasi alkaloid pada rimpang galang merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) dengan dua panjang gelombang sebesar 227 nm dan 261 nm. Fadhly dkk (2015) juga melakukan isolasi alkaloid

terhadap daun *Rivina humilis* L. dengan menghasilkan puncak serapan 210, 219, dan 252 nm.

Pada ekstrak etanol dan etil asetat diduga terdapat senyawa flavonoid ditunjukkan dengan adanya dua pita serapan yakni pita I memiliki serapan pada panjang gelombang masing-masing 302.9 nm dan 302.9 nm dengan transisi elektron $\eta \rightarrow \pi^*$, serta pada pita II masing-masing memiliki panjang gelombang 275 nm dan 272 nm dengan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Markham (1988) mengungkapkan bahwa pita I memiliki rentang serapan pada panjang gelombang 300 – 550 nm. Pita I menunjukkan transisi $\eta \rightarrow \pi^*$ akibat adanya transisi elektron *nonbonding* ke orbital *anti bonding* oleh suatu gugus C=O terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 2001). Pada pita II dengan rentang serapan 240 – 285 nm terdapat serapan benzil yang disebabkan adanya kromofor C=O dan C=C dari gugus aromatik yang terkonjugasi. Sehingga kromofor tersebut mengakibatkan terjadinya transisi $\eta \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$ (Harborne, 1987). Isolat flavonoid dari daun pranajiwa (*Euchresta horsfieldii* Lesch Benn.) menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 269 nm (pita II) dan 362 nm (pita I) (Dewi dkk, 2017). Mabruroh dkk (2019) mengisolasi flavonoid daun murbei (*Morus alba* Linn.) menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada puncak II sebesar 291 nm dan puncak I sebesar 324 nm.

Ekstrak etanol menunjukan serapan maksimum pada panjang gelombang 211.9 nm yang diduga saponin. Serapan maksimum 211.9 nm menunjukkan adanya transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dari ikatan rangkap C=C tidak terkonjugasi. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Rachman dkk (2018) yang menghasilkan isolat senyawa saponin daun binahong dengan serapan pada panjang gelombang 211 nm. Isolasi saponin pada daun dan tangkai daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch

menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 209 nm (Minarno dkk, 2017).

Hasil serapan maksimum diduga senyawa fenolik pada ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana yang menghasilkan dua pita serapan pada pita I dan pita II berturut-turut sebesar 268 nm dan 221 nm, 269.1 nm dan 221 nm, serta 269.1 nm dan 221 nm. Dugaan ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan Utami dkk (2016) dengan menghasilkan spektrum UV-Vis isolat fenolik bunga nusa indah (*Mussaenda erythrophylla*) menunjukkan adanya panjang gelombang maksimum yaitu 221 nm dan 267,5 nm, 221 nm menunjukkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ dari ikatan rangkap C=C. Pada 267,5 nm menunjukkan transisi elektronik $\eta \rightarrow \sigma^*$ dari ikatan O-H. Pada penelitian Utami (2018) yang juga mengisolasi fenol dari daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*. L) menghasilkan serapan maksimum pada pita I 275 nm dan pita II 220 nm.

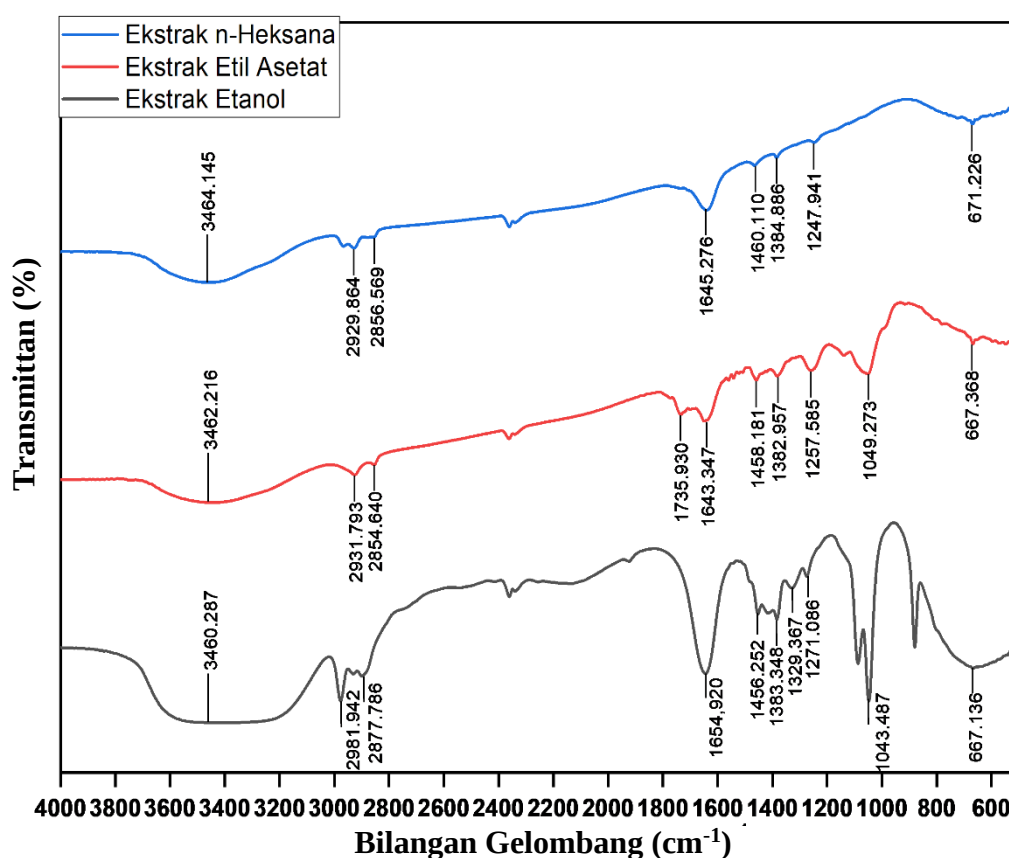
Pada ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana masing-masing memiliki serapan maksimum sebesar 291, 292, dan 291 yang diduga merupakan senyawa tanin. Senyawa tanin diduga mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya ikatan C=C terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 1991). Dugaan ini didukung oleh penelitian Jaya dkk (2012) yang menghasilkan senyawa tanin pada ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) O.K.) dengan serapan maksimum sebesar 290 nm. Keberadaan senyawa tannin dalam ekstrak sabut kelapa muda ditunjukkan dengan munculnya puncak serapan maksimum pada 283 nm dan 326 nm (Sari dan Yulis, 2023).

Serapan maksimum pada ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana masing-masing sebesar 208 nm, 207.1 nm, dan 209 nm. Serapan tersebut diduga merupakan

serapan dari senyawa triterpenoid yang menunjukkan adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Serapan dengan transisi tersebut disebabkan adanya ikatan rangkap dari cincin senyawa C=C tidak terkonjugasi (Mawaddah, 2019). Pada penelitian Latief dkk (2022) dihasilkan bahwa daun jeruju memiliki serapan maksimum 208 nm yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dengan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menandakan adanya ikatan C=C.

4.5 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi senyawa dengan spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang terkandung dalam senyawa metabolit sekunder buah lerak (*Sapindus rarak*). Adapun spektra yang dihasilkan dari ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana ditunjukkan pada Gambar 4.11:



Gambar 4.11 Hasil spektra FTIR Ekstrak Buah Lerak

Tabel 4.4 Interpretasi Spektra FTIR Ekstrak Buah Lerak

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Range	Jenis Vibrasi	Dugaan Senyawa*
Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak n-Heksana	Pustaka (Socrates, 1994)		
3460,287	3462,216	3464,145	3550-3230	O-H (<i>stretch</i>)	Fenol, Tanin, Flavonoid, Saponin, Triterpenoid
2981,942	2931,793	2929,864	3000-2800	-CH ₃ <i>stretch asym</i>	Triterpenoid, Saponin
2877,786	2854,640	2856,569	2880-2835	-CH ₂ <i>stretch sym</i>	Triterpenoid, Flavonoid, Fenol, Tanin, Saponin
-	1735,930	-	1850 -1550	-C=O <i>stretch</i>	Flavonoid
1654,920	1643,347	1645,276	1660-1580	C=C <i>stretch aromatic</i>	Flavonoid, Fenol, Tanin, Saponin, Triterpenoid
1456,252	1458,181	1460,110	1465-1440	C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>)	Triterpenoid, Flavonoid, Fenol, Tanin, Saponin
1383,348	1382,957	1384,886	1390-1370	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>)	Triterpenoid, Saponin
1329,367	-	-	1360-1250	=C-N (<i>aromatic amine</i>)	Alkaloid
1271,086	1257,585	1247,941	1300-1180	C-O-C	Flavonoid, Tanin, Saponin
1043,487	1049,273	-	1085-1030	C-O <i>stretch</i>	Alkaloid, Triterpenoid, Saponin
667,136	667,368	671,226	900-650	=C-H <i>bending</i>	Tanin, Fenol, Flavonoid, Saponin, Triterpenoid

Berdasarkan Gambar 4.11 dan Tabel 4.4 hasil analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak buah lerak yang

memiliki serapan melebar pada 3460,287; 3462,216; dan 3464,145 cm^{-1} sebagai vibrasi ulur dari gugus OH. Serapan pada bilangan gelombang 2981,942; 2931,793; dan 2929,864 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan *stretching* -CH₃ atau C-H alifatik pada sp^3 dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1383,348; 1382,957; dan 1384,886 cm^{-1} merupakan serapan C-H (*bending*) *wagging/twisting* pada CH₃. Bilangan gelombang 2877,768; 2854,640; dan 2856,569 cm^{-1} diduga adanya serapan -CH₂ *stretching* yang diperkuat dengan adanya serapan 1456,252; 1458,181; dan 1460,110 cm^{-1} yang menunjukkan C-H (*bending*) *scissoring* pada CH₂. Serapan 1735,930 cm^{-1} merupakan serapan gugus C=O. Serapan pada 1654,920; 1643,347; dan 1645,276 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran C=C aromatis, di mana hal ini diperkuat dengan adanya serapan 667,136; 667,368; dan 671,226 cm^{-1} merupakan gugus =C-H (*bending*) *rocking*. Adapun serapan =C-N *aromatic* amina pada bilangan gelombang 1329,367 cm^{-1} . Bilangan gelombang 1271,086; 1257,585; dan 1247,941 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O-C. Serapan gugus C-O ulur ditunjukkan pada bilangan gelombang 1043,487 cm^{-1} dan 1049,273 cm^{-1} .

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Silalahi dkk (2018) yang mengisolasi alkaloid dari rimpang galang merah didapatkan pada 3428,06 cm^{-1} merupakan spektra vibrasi ulur simetris ikatan O-H. Sedangkan 2926,67 cm^{-1} dan 2857,42 cm^{-1} berturut-turut merupakan spektra vibrasi ulur C-H asimetri dan simetri. Vibrasi tekuk ikatan C-H muncul pada 1456,43 cm^{-1} dan 1381,38 cm^{-1} . Muncul pula 1514,32 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur ikatan C=N, 1609,58 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur ikatan C=C aromatis. Demikian pula 971,19; 844,36 dan 721,54 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H aromatis keluar bidang.

Adapun Fadhly dkk (2015) yang mengisolasi alkaloid dari daun *Rivina humilis* L. diperoleh serapan gugus C-N amina pada $1295,57\text{ cm}^{-1}$, gugus C=O pada $1695,32\text{ cm}^{-1}$, vibrasi ulur C-O pada $1087,85\text{ cm}^{-1}$, dan gugus C=C aromatik $1435,64\text{ cm}^{-1}$.

Penelitian yang dilakukan Mabruroh dkk (2019) yang telah mengisolasi flavonoid dari daun murbei didapatkan adanya gugus fungsi -OH terikat pada $3567,89\text{ cm}^{-1}$, CH alifatik pada $2922,04\text{ cm}^{-1}$, C=O karbonil pada $1716,5\text{ cm}^{-1}$, C=C aromatik pada $1459,03\text{ cm}^{-1}$, CO alkohol pada 1043 cm^{-1} , dan CH aromatik $721,29\text{ cm}^{-1}$. Adapun Samosir (2022) yang telah mengisolasi senyawa flavonoid dari daun tumbuhan mundu didapatkan hasil spektrum FT-IR yang mana terdapat gugus O-H pada 3379 cm^{-1} , gugus C=C aromatik pada 1512 cm^{-1} , gugus C-H alifatik pada 2924 cm^{-1} , gugus C-O alkohol pada 1165 cm^{-1} , gugus C=O pada 1635 cm^{-1} , dan gugus C-O-C eter pada 1060 cm^{-1} .

Berdasarkan penelitian Rachman dkk (2015) yang telah mengisolasi saponin daun binahong didapatkan spektra FTIR yakni pada bilangan gelombang $3443,40\text{ cm}^{-1}$ merupakan ikatan O-H, pada $2922,59\text{ cm}^{-1}$ merupakan ikatan CH, pada $1090,87\text{ cm}^{-1}$ merupakan ikatan C-O. Adapun penelitian yang dilakukan Utami (2018) yang telah mengisolasi senyawa fenol daun patikan kebo dengan hasil interpretasi FTIR terdapat gugus fungsi OH ($3464,15\text{ cm}^{-1}$), gugus C-H aromatik ($869,90\text{ cm}^{-1}$), gugus C=C aromatik ($1616,35\text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik ($1440,83\text{ cm}^{-1}$) dan C-O ($1251,80\text{ cm}^{-1}$).

Penelitian yang dilakukan Latief dkk (2022) yang mengisolasi triterpenoid daun jeruju menghasilkan serapan bilangan gelombang pada $3321,96\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya -OH, gugus -CH siklik pada $2954,95\text{ cm}^{-1}$, $1447,93\text{ cm}^{-1}$ dan

1378,11 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi tekuk untuk -C-H siklik, 881,11 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur ikatan -C=C siklik., 1448,4 cm^{-1} dan 1377,1 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus geminal dimetil, 1050,54 cm^{-1} mengkonfirmasi vibrasi ulur -C-O. Adapun Efdi dkk (2016) yang mengisolasi triterpenoid dari kulit batang shorea singkawang menghasilkan serapan 3436 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan OH. Regangan C-O eter ditunjukkan pada 1054 cm^{-1} . Adanya -CH₂ dan -CH₃ ditunjukkan pada bilangan gelombang 2942 cm^{-1} , yang didukung dengan adanya tekukan -CH₃ pada bilangan gelombang 1458 cm^{-1} . Geminal dimetil (dua gugus metil pada karbon yang sama) yang merupakan serapan khas senyawa golongan terpenoid ditunjukkan pada daerah bilangan gelombang 1375 cm^{-1} .

4.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram menggunakan prinsip terdifusinya senyawa antibakteri dalam kertas cakram pada permukaan media padat yang telah diinokulasikan bakteri. Penghambatan senyawa antibakteri terhadap tumbuhnya mikroba dapat diamati melalui zona bening di area tumbuhnya mikroba di mana jika semakin efektif suatu zat sebagai antibakteri maka zona bening yang terbentuk akan semakin besar (Husain dan Wardhani, 2021).

Penelitian pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan ekstrak buah lerak (*Sapindus rarak*) dalam pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sebagai pembanding digunakan kontrol positif (kloramfenikol) dan negatif (DMSO). Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, etil asetat, dan

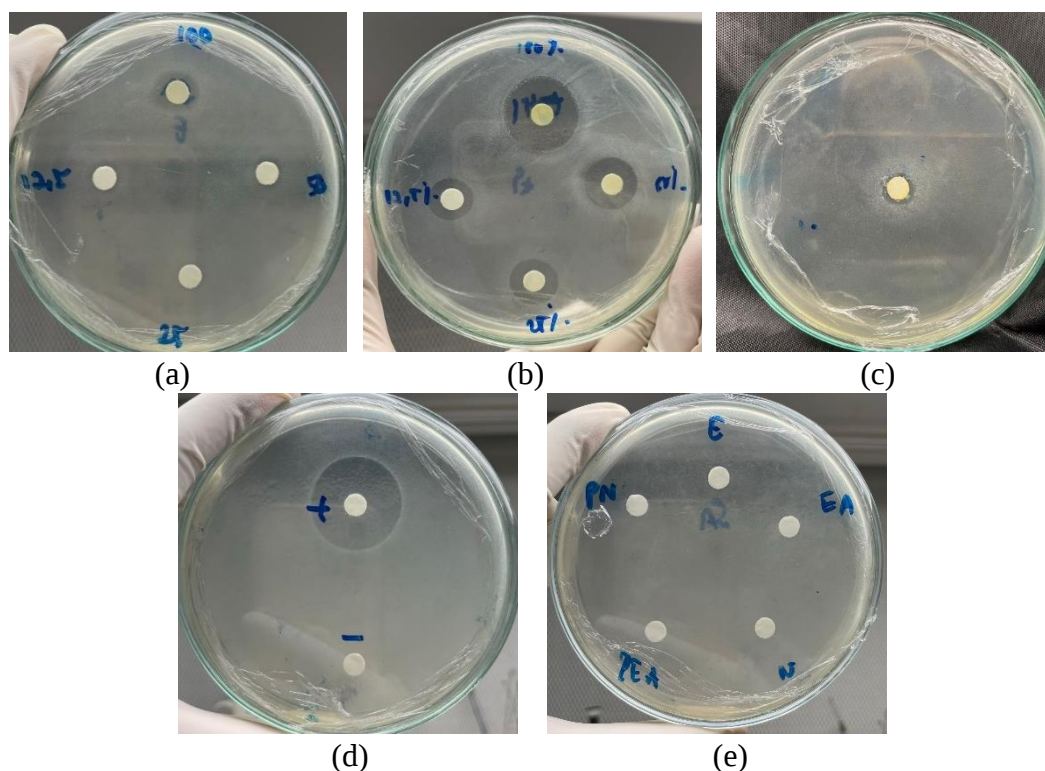
n-heksana buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.5 sebagai berikut:

Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Ekstrak Buah Lerak	Rata-rata Zona Hambat (mm)		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
12,5%	1,18	4,75	-
25%	2,53	6,30	-
50%	4,78	9,55	-
100%	6,78	14,12	3,38
Kontrol positif (kloramfenikol 12,5%)		19,67	
Kontrol negatif (DMSO 100%)	0	0	0
Kontrol Pelarut	0	0	0

Data Tabel 4.5 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah lerak semakin meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak. Untuk ekstrak etanol konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat sebesar 6,78 mm, konsentrasi 50% sebesar 4,78 mm, dan konsentrasi 25% sebesar 2,53 mm, serta pada konsentrasi 12,5% ppm sebesar 1,18 mm. Menurut Morales dkk (2003) kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat <6 mm dikategorikan lemah, zona hambat 6 - 10 mm kategori sedang, zona hambat 11 - 20 mm kategori kuat dan zona hambat 21 - 30 mm dikategorikan sangat kuat. Sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas pada konsentrasi tertinggi ekstrak etanol buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam golongan sedang (6-10 mm). Hasil aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri yang menurun seiring menurunnya konsentrasi ekstrak. Ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 100% memberikan rata-rata zona hambat sebesar 14,12 mm, konsentrasi 50% sebesar 9,55 mm, dan konsentrasi 25% sebesar 6,30 mm, serta pada konsentrasi 12,5% ppm sebesar 4,75 mm. Berdasarkan Morales dkk (2003) didapatkan aktivitas pada konsentrasi tertinggi ekstrak etil asetat buah lerak

termasuk antibakteri dengan kategori kuat (11-20 mm). Adapun aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana menunjukkan aktivitas zona hambat sebesar 3,38 mm pada konsentrasi ekstrak sebesar 100%. Karena rendemen yang terlalu sedikit, variasi konsentrasi ekstrak n-heksana tidak dapat dilakukan. Berdasarkan Morales dkk (2003) didapatkan aktivitas ekstrak n-heksana buah lerak termasuk antibakteri dengan kekuatan lemah (<6 mm). Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana buah lerak, kontrol positif dan negatif, serta kontrol pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.12 berikut:



Gambar 4.12 Zona Hambat (a) Ekstrak Etanol (b) Ekstrak Etil Asetat (c) Ekstrak n-Heksana Buah Lerak (d) Kontrol Positif dan Negatif (e) Kontrol Pelarut terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* diketahui pada konsentrasi ekstrak 100% diperoleh bahwa kekuatan senyawa antibakteri dari ekstrak buah lerak secara berurutan yaitu etil asetat (kuat)>etanol(sedang)>n-Heksana(lemah). Berdasarkan Tabel 4.2 hasil uji

fitokimia ekstrak etanol menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan hasil uji fitokimia pada ekstrak etil asetat buah lerak menunjukkan terdapat senyawa flavonoid, tanin, fenol, dan triterpenoid. Sedangkan ekstrak n-heksana mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, tanin, dan triterpenoid. Uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terbesar di mana hal ini menunjukkan jika senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung bersifat semipolar. Senyawa-senyawa aktif di dalam ekstrak etil asetat lebih efektif sebagai antibakteri dan bersifat sinergis (saling menguatkan) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga memiliki zona hambat terbesar. Begitu pula sebaliknya, senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak n-heksana dan etanol kemungkinan bersifat antagonis (saling melemahkan) sehingga menghasilkan aktivitas antibakteri yang lemah. Beberapa senyawa dapat bersifat sinergis (saling menguatkan atau meningkatkan efektivitas) ada pula bersifat antagonis (saling melemahkan) saat digunakan secara bersamaan pada konsentrasi tertentu dalam penghambatan pertumbuhan bakteri (Sari dkk, 2015).

Hasil zona hambat yang besar pada ekstrak etil asetat diduga juga dipengaruhi oleh struktur dinding sel pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Estikomah dkk (2021) *Staphylococcus aureus* termasuk kedalam bakteri yang memiliki dinding luar sel yang lebih sederhana daripada bakteri gram negatif dengan komponen sedikit lipid, serta peptidoglikan dan polisakarida (asam teikoat) yang bersifat polar sehingga mudah dirusak ekstrak yang bersifat polar, namun ekstrak etanol buah lerak masih menghasilkan zona hambat yang lebih kecil

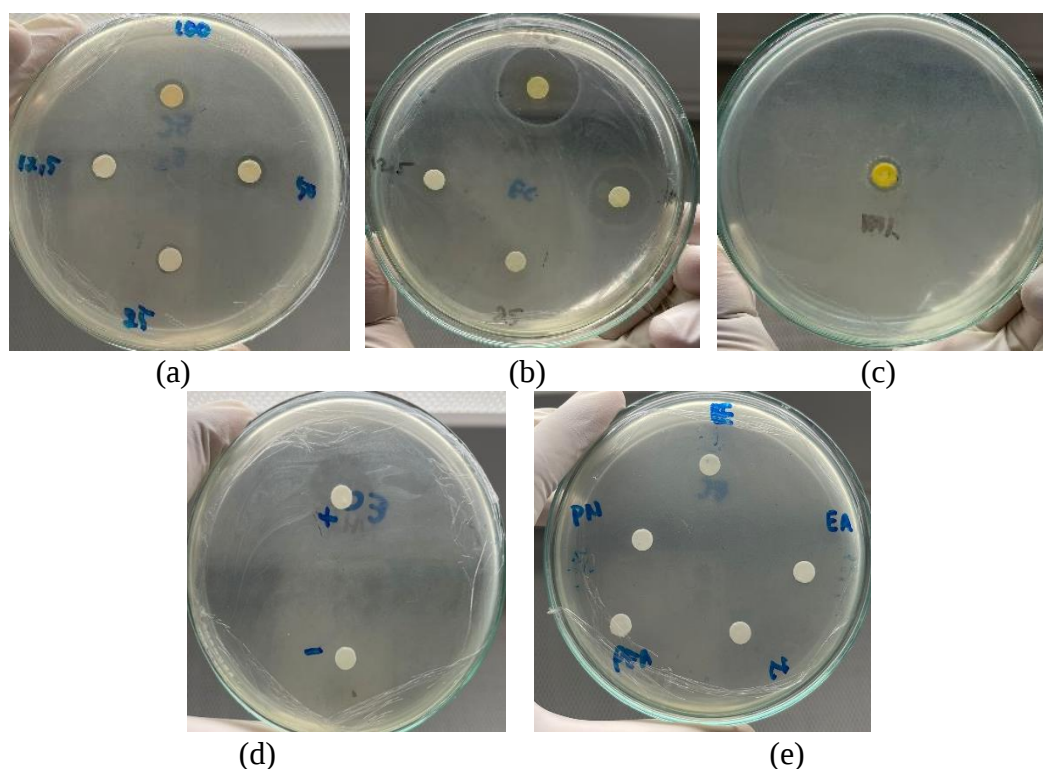
dengan kategori sedang daripada ekstrak etil asetat yang menghasilkan zona hambat dengan kategori kuat. Hal tersebut dapat dimungkinkan karena senyawa-senyawa polar dalam ekstrak etanol masih kurang saling menguatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Begitu pula pada aktivitas antibakteri pada ekstrak n-heksana terhadap *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan zona hambat dengan kategori lemah, hal tersebut juga dapat disebabkan karena senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak ini cenderung bersifat non polar sehingga kurang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan dinding luar sel bersifat polar. Hasil uji aktivitas antibakteri berbagai konsentrasi ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi Ekstrak Buah Lerak	Rata-rata Zona Hambat (mm)		
	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
12,5%	1,1	2,63	-
25%	1,57	4,98	-
50%	2,57	10,42	-
100%	3,75	15,53	4,23
Kontrol positif (kloramfenikol 12,5%)		14,22	
Kontrol negatif (DMSO 100%)	0	0	0
Kontrol Pelarut	0	0	0

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat diketahui bahwa hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan etil buah lerak memiliki zona hambat yang mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi yaitu dari 12,5% hingga 100% sehingga aktivitas antibakterinya semakin besar pula. Hal ini sesuai dengan Tuntun (2016) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 100% ekstrak etanol buah lerak dengan

zona sebesar 3,75 mm termasuk dalam golongan lemah (<6 mm) dan pada konsentrasi 100% ekstrak etil asetat buah lerak dengan zona hambat sebesar 15,53 mm termasuk dalam golongan kuat (11-20 mm). Kemudian dapat diketahui pula bahwa pada konsentrasi 100% ekstrak n-heksana buah lerak menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 4,23 mm di mana menurut Morales dkk (2003) masuk kedalam kategori lemah. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana buah lerak, kontrol positif dan negatif, serta kontrol pelarut terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4.13 berikut:



Gambar 4.13 Zona Hambat (a) Ekstrak Etanol (b) Ekstrak Etil Asetat (c) Ekstrak n-Heksana Buah Lerak (d) Kontrol Positif dan Negatif (e) Kontrol Pelarut terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi ekstrak 100% menunjukkan bahwa kekuatan senyawa antibakteri dari ekstrak buah lerak secara berurutan adalah etil asetat(kuat)>n-heksana(lemah) >etanol(lemah). Hal serupa juga ditemukan pada hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak sampel

terhadap *Escherichia coli*. Di sini ekstrak etil asetat memberikan aktivitas antibakteri paling tinggi dibanding kedua ekstrak lainnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa memang senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi pada pelarut yang bersifat semipolar dan juga saling menguatkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil zona hambat yang besar pada ekstrak etil asetat kemungkinan juga dipengaruhi oleh struktur dinding sel pada bakteri *Escherichia coli* yang memiliki dinding luar sel yang cenderung bersifat nonpolar seperti yang disampaikan Zeniusa dkk (2019) bahwa dinding luar bakteri *Escherichia coli* banyak mengandung lapisan lipid yang bersifat nonpolar, sehingga adanya ekstrak bersifat semi polar seperti etil asetat mengakibatkan banyak senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar hingga non polar terekstrak di dalamnya. Namun hal tersebut berbeda pada ekstrak n-heksana yang juga bersifat non polar di mana kecilnya zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak ini dapat dimungkinkan karena senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar dalam ekstrak ini tidak lebih efektif untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* dibandingkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar dalam ekstrak etil asetat. Sedangkan pada ekstrak etanol yang bersifat polar yang tentunya akan banyak mengandung senyawa metabolit sekunder bersifat polar sehingga adanya perbedaan sifat inilah yang menyebabkan molekul komponen ekstrak juga menjadi lebih sulit masuk ke dalam bakteri akibatnya zona hambat yang dihasilkan kecil (Zeniusa dkk, 2019).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memberikan hasil aktivitas antibakteri tertinggi baik terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* sehingga diduga senyawa aktif yang terkandung dalam etil asetat

seperti flavonoid, fenol, tannin, dan triterpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Di mana masing-masing senyawa aktif tersebut memiliki jalur khusus dalam penghambatan bakteri uji, seperti yang disampaikan Cushnie dan Lamb (2005) bahwa mekanisme antibakteri dari senyawa flavonoid yakni menghambat sintesis asam nukleat dengan mengikat enzim-enzim yang terlibat dalam replikasi dan transkripsi DNA, seperti DNA gyrase dan topoisomerase IV. Flavonoid juga dapat menghambat aktivitas RNA polimerase, enzim yang terlibat dalam sintesis RNA sehingga menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya pada penghambatan fungsi membran sel flavonoid dengan cara menembus membran sel bakteri dan mengganggu stabilitas membran sel, sehingga menyebabkan kebocoran sitoplasma dan kerusakan struktur sel. Hal ini dapat mengganggu fungsi sel bakteri dan menghambat pertumbuhannya. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat aktivitas enzim-enzim metabolisme pada bakteri, seperti enzim-enzim yang terlibat dalam sintesis asam folat, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.

Pada pengujian ini kontrol positif yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah kloramfenikol. Kontrol positif sebagai pembanding aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak sampel dengan antibiotik yang digunakan (Permatasari, 2020). Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dalam dosis rendah serta bersifat bakteriosida (membunuh bakteri) pada dosis tinggi (Dwicahyani dkk, 2018). Selain itu antibiotik ini efektif baik pada bakteri gram positif ataupun bakteri gram negatif (Oktaviani dkk, 2022). Hasil uji menunjukkan rata-rata zona hambat yang dihasilkan antibiotik

ini terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebesar 14,25 mm dan 19,67 mm (termasuk dalam kategori kuat). Mekanisme penghambatan bakteri oleh kloramfenikol yakni melalui penghambatan enzim peptidil transferase yang berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan peptida dalam proses sintesis protein bakteri (Samputri dkk, 2020).

Sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 100% yakni digunakan untuk melarutkan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana buah lerak. Kontrol negatif merupakan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak sampel yang akan diuji dalam konsentrasi tertentu (Utomo dkk, 2018). Selain itu DMSO melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar dan juga pelarut ini tidak akan menghasilkan zona hambat, sehingga zona hambat yang terbentuk murni dari senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing ekstrak uji (Huda dkk, 2019). Hasil uji menunjukkan bahwa kontrol DMSO 100% tidak menghasilkan zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, ada pula kontrol masing-masing pelarut yang juga tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang diketahui dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk. Sehingga dapat diketahui bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh masing masing ekstrak buah lerak yang terbentuk ialah murni dari aktivitas masing-masing senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak buah lerak.

Hasil pengujian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Riza dan Oktavia (2018) yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah lerak hasil maserasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 100% sebesar 1,03 mm. Begitupula penelitian yang dilakukan oleh Silviani dan Puspitaningrum (2015) yang menguji antibakteri ekstrak buah lerak

hasil maserasi terhadap bakteri *Escherichia coli* di mana diperoleh zona hambat dari ekstrak etanol dan etil asetat buah lerak masing-masing sebesar 8,2 mm dan 18,9 mm.

4.7 Analisis Data

Analisis data hasil pengujian dilakukan menggunakan analisis *One Way Anova* atau analisis ragam satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Pada analisis ini mencakup satu variabel bebas yakni jenis pelarut dan satu variabel terikat yakni zona hambat masing-masing bakteri uji. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut ekstrak buah lerak atau menganalisa perbedaan rata-rata perlakuan yang dilakukan terhadap rata-rata zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli*. Hasil analisis *One Way Anova* pengaruh jenis pelarut ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.7 sebagai berikut:

Tabel 4.7 Hasil *One Way Anova* pada *Staphylococcus aureus*

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	180.542	2	90.271	194.480	.000
<i>Within Groups</i>	2.785	6	.464		
Total	183.327	8			

Berdasarkan Tabel 4.7 menunjukkan hasil uji F variasi jenis pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh nilai F hitung > F tabel ($194,480 > 5,143$) dengan uji probabilitas menghasilkan nilai signifikan (0,000) kurang dari nilai alpha (0,05). Sedangkan hasil analisis *One Way Anova* pengaruh jenis pelarut ekstrak terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 4.8 sebagai berikut:

Tabel 4.8 Hasil *One Way Anova* pada *Escherichia coli*

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	266.362	2	133.181	64.004	.000
<i>Within Groups</i>	12.485	6	2.081		
<i>Total</i>	278.847	8			

Berdasarkan Tabel 4.8 menunjukkan hasil uji F variasi jenis pelarut terhadap bakteri *Escherichia coli* diperoleh nilai F hitung > F tabel ($64,044 > 5,143$) dengan uji probabilitas menghasilkan nilai signifikan (0,000) kurang dari nilai alpha (0,05).

Berdasarkan hasil dari kedua analisa masing-masing bakteri, maka pengambilan keputusan dari uji statistic untuk perlakuan variasi jenis pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diperoleh F hitung > F tabel dengan angka signifikan < *P-Value* atau nilai alpha (0,05). Maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang mengindikasikan bahwa variasi jenis pelarut ekstraksi buah lerak terdapat perbedaan secara signifikan pada rata-rata zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya untuk mengetahui secara pasti letak perbedaan dari rata-rata zona hambat yang dihasilkan maka perlu dilakukan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil uji BNT variasi jenis pelarut terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 4.9 berikut:

Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Jenis Pelarut terhadap Zona Hambat

Variasi Jenis Pelarut	Notasi	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Etil Asetat	A	a
Etanol	B	b
n-Heksana	C	b

Berdasarkan Tabel 4.9 hasil uji BNT variasi jenis pelarut terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinterpretasikan menggunakan notasi huruf. Notasi huruf yang sama mengindikasikan bahwa tidak ada beda nyata pada rata-rata zona hambat bakteri terhadap perlakuan variasi jenis pelarut, sedangkan notasi huruf berbeda mengindikasikan bahwa terdapat beda nyata pada rata-rata zona hambat terhadap perlakuan variasi jenis pelarut. Sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap variasi jenis pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana berbeda nyata secara signifikan dalam menghambat tumbuhnya bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan rata-rata zona hambat bakteri *Escherichia coli* terhadap variasi jenis pelarut etanol dan n-heksana tidak berbeda nyata dalam menghambat tumbuhnya bakteri *Escherichia coli*, namun kedua jenis pelarut tersebut berbeda nyata secara signifikan dengan pelarut etil asetat.

4.8 Perspektif Pemanfaatan Buah Lerak dalam Islam

Alam semesta dan seisinya merupakan salah satu bukti dari kekuasaan Allah Swt. yang jelas memiliki maksud dan tujuan, semua yang diciptakan-Nya tidak ada yang sia-sia. Allah menciptakan segalanya dengan peranannya masing-masing secara bersungguh-sungguh sebagaimana dalam firman Allah Swt. dalam surat al Anbiya ayat 16:

﴿۱۶﴾ وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَعِينًا

Artinya: “Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi serta segala apa yang ada di antara keduanya dengan main-main.”

Berdasarkan ayat diatas, tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa tidak wajar bagi Kami melakukan selain apa yang telah Kami lakukan itu, yakni menepati janji Kami dan menyiksa para pembangkang karena tidaklah Kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan tata aturan yang demikian rapi, indah dan harmonis dengan bermain-main, yakni tanpa arah dan tujuan yang benar, tetapi itu semua Kami ciptakan untuk membuktikan keesaan dan kekuasaan Kami serta untuk kepentingan makhluk-makhluk Kami (Shihab, 2002).

Allah sang maha pengatur dan pemberi rezeki telah menyiapkan sebaik mungkin dalam menciptakan suatu hal dengan jelas memiliki manfaat dan hikmah yang berguna bagi kepentingan makhluk-makhluknya. Salah satu ciptaan Allah yang sangat mudah dijumpai yakni buah-buahan. Buah-buahan merupakan bukti sederhana dari penciptaan Allah yang tidak sia-sia karena memiliki banyak sekali manfaat. Allah Swt. berfirman dalam surah ar Ra'd ayat 3-4:

وَهُوَ الَّذِي مَدَّ الْأَرْضَ وَجَعَلَ فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْهَارًا وَمِنْ كُلِّ الشَّجَرِ جَعَلَ فِيهَا زَوْجَيْنِ اثْنَيْنِ يُغْشَى اللَّيْلَ النَّهَارُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٣﴾ وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَبَجَّرَاتٌ وَجَذُتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ وَصُنُوفٌ غَيْرُ صُنُوفٍ يُسْقَىٰ بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لِّبَعْضِهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya: “Dialah yang menghamparkan bumi dan menjadikan gunung-gunung dan sungai-sungai padanya. Dia menjadikan padanya (semua) buah-buahan berpasang-pasangan (dan) menutupkan malam pada siang. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir (3) Di bumi terdapat bagian-bagian yang berdampingan, kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman, dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang. (Semua) disirami dengan air yang sama, tetapi Kami melebihkan tanaman yang satu atas yang lainnya dalam hal rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar (terdapat) tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang mengerti (4).”

Firman Allah ini dijelaskan dalam tafsir Ibnu Katsir bahwa setelah Allah menyebutkan bagian alam atas, kemudian menyebutkan kekuasaan, hikmah dan penciptaan-Nya terhadap alam bawah (bumi). ﴿هُوَ الَّذِي مَدَّ الْأَرْضَ﴾ “*dan Allahlah yang telah membentangkan bumi.*” yaitu, menjadikannya membentang luas, panjang dan lebar, didirikan padanya gunung-gunung yang tinggi menjulang, dan dialirkan bumi ini sungai-sungai, parit-parit dan berbagai mata air untuk menyirami apa yang ada padanya seperti buah-buahan yang beraneka macam warna, bentuk, rasa, dan baunya. ﴿وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ جَعَلَ فِيهَا زَوْجَيْنِ اثْنَيْنِ﴾ “*Dan menjadikan padanya semua buah-buahan berpasang pasangan.*” maksudnya, terdapat dua macam pada setiap bentuk. ﴿يُعْشِي الْأَيُّمَ النَّهَارَ﴾ “*Allah menutupkan malam pada siang*” maksudnya masing-masing membutuhkan yang lain, yang mengikutinya dengan cepat. Bila yang satu telah pergi, maka ditutup oleh yang lain, jika yang satu sudah habis waktunya datanglah yang lain, maka Allah berkuasa mengatur dalam segi waktu (zaman), sebagaimana berkuasa mengatur dalam segi tempat dan penghuninya. ﴿إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ﴾ “*Sesungguhnya dalam hal yang demikian itu terdapat tanda-tanda [kebesaran Allah] bagi kaum yang memikirkan*” maksudnya, dalam anugerah, kebijaksanaan, dan, petunjuk Allah itu terdapat tanda-tanda kebesaran (Katsiir, 2004).

Firman Allah ﴿فِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَوِّرَاتٌ﴾ “*Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan.*” maksudnya, tanah-tanah yang berdekatan antara satu dengan yang lain, pada bagian ini tanahnya baik, menumbuhkan tanaman yang berguna bagi manusia, sedang di bagian yang lain tanahnya berpasir asin tidak menumbuhkan sesuatu dari tanaman. Termasuk dalam ayat ini, yaitu perbedaan warna tanah yang ada di bumi ini, ada yang berwarna merah, putih, kuning, hitam,

berbatu, gembur, berpasir, keras, lembut, dan lain-lainnya, tetapi semuanya berdekatan, dan masing-masing tetap pada sifat-sifatnya tersendiri. Hal itu semua menunjukkan kepada adanya pelaku yang bebas menentukan pilihan. Firman Allah ﴿وَجَنَّتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ﴾ "Dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman, dan pohon kurma." Kedua kata "zar'un" dan "nakhilun" dapat di'athafkan kepada kata *jannaatun*, jadi dibaca *marfu'*, dan dapat di'athafkan kepada kata *anaabin*, jadi dibaca majrur. Kemudian pada firman Allah ﴿صِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ﴾ "Yang bercabang dan yang tidak bercabang." *shinwaan* adalah pokok yang berkumpul pada satu tempat tumbuh, seperti pohon delima dan tin dan sebagian pohon kurma dan lain-lain, sedangkan *ghairu shinwaan* adalah yang tumbuh pada satu pokok seperti kebanyakan pohon. Firman Allah, ﴿يُسْقَىٰ بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لُبَّهَا عَلَىٰ بَعْضِ فِي الْأَكْلِ﴾ "Disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanaman-tanaman itu atas sebagian yang lain tentang rasanya." maksudnya, perbedaan dalam jenis buah-buahan dan tanaman itu dari segi bentuk, warna, rasa, bau, daun dan bunganya, ada yang sangat manis ada yang sangat asam, sangat pahit, sepet, segar, dan ada yang bermacam-macam/bercampur rasanya, kemudian ada yang berubah rasa dengan izin Allah. Ada yang berwarna kuning, merah, putih, hitam, biru, dan lain-lain. Demikian juga dengan beraneka macamnya warna bunga, padahal semuanya berasal dari satu zat alam yang sama yaitu air, tetapi menghasilkan tumbuh-tumbuhan dan buah yang beraneka macam warna dan rasa yang tidak terhitung. Sesungguhnya dalam hal-hal seperti itu terdapat tanda-tanda kebesaran Allah bagi orang yang menyadarinya. Hal-hal tersebut merupakan tanda-tanda yang Allah tunjukkan bahwa adanya Pelaku yang bebas berbuat di mana dengan kekuasaan-Nya dapat membuat beraneka ragam dan menjadikannya sesuai dengan

keinginan-Nya. Oleh sebab itu pada firman Allah ﴿إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ﴾
“Sesungguhnya pada hal yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.” (Katsiir, 2004).

Allah Swt. memberikan kasih sayang kepada manusia berupa akal untuk berpikir. Di mana kemampuan berpikir inilah yang menjadikan pembeda sehingga manusia dapat dikatakan sebagai makhluk sempurna. Allah memberikan kesempatan yang seluas-luasnya bagi manusia untuk berfikir secara mendalam terkait manfaat dari apa yang telah Dia ciptakan. Khususnya manfaat dari penciptaan buah-buahan yang beraneka macam warna, bentuk, rasa, dan baunya. Buah lerak merupakan salah satu contoh penciptaan Allah dengan buah yang memiliki warna cokelat dengan bentuk bulat berbau manis dengan rasa pahit yang memiliki manfaat dan peranan dalam kehidupan manusia. Wijayanti dkk (2020) mengatakan bahwa buah lerak berwarna cokelat kehitaman dengan permukaan buah yang licin dan mengkilap, berbentuk bundar, berasa pahit dan mengeluarkan aroma wangi yang umumnya digunakan sebagai pencuci logam, pencuci batik, dan alternatif pengganti sabun. Allah Swt. menciptakan buah lerak dengan sebagaimana mestinya tentu memiliki tujuan dan manfaat tersendiri di mana bentuk, warna, rasa yang berbeda dengan buah lainnya tentu akan memberikan manfaat khusus yang jelas berbeda dengan buah lainnya. Di mana jika dilihat dari kacamata sains bahwa karakteristik khas buah lerak tersebut diperkirakan berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder yang dimilikinya. Namun, diduga dibalik kegunaannya selain dari segi fungsional nyatanya buah ini memiliki manfaat yang cukup penting yaitu sebagai sumber obat.

Obat merupakan salah satu alternatif untuk mengobati suatu penyakit. Dimana dalam kehidupan sehari-hari penyakit paling mudah terjangkit disebabkan oleh bakteri. Maka salah satu penciptaan Allah yang rapi, teratur, bersungguh-sungguh dan tidak sia sia dengan tujuan dan manfaat yang jelas yakni buah lerak dapat menjadi sumber obat antibakteri. Antibakteri merupakan zat aktif yang dapat menghambat atau bahkan membunuh bakteri penyebab penyakit. Pemanfaatan buah lerak sebagai antibakteri merupakan salah satu bentuk usaha dalam memahami dan mendalami ajaran sunnah nabi yang telah dijelaskan melalui firman Allah dalam surah asy Syu'ara' ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: *“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku.”*

Tafsir Ibnu Katsir menyebutkan bahwa sakit dinisbatkan (disandarkan) kepada diri Ibrahim, sekalipun hal itu merupakan qadar, qadha, dan ciptaan Allah. Akan tetapi, ia sandarkan hal itu kepada dirinya sebagai sikap beradab. Makna hal itu berarti, jika aku menderita sakit, maka tidak ada seorangpun yang memiliki kuasa menyembuhkanku selain Allah Swt. sesuai dengan takdir-Nya. Hal tersebut diketahui bahwa sakit merupakan suatu kenyataan yang berasal dari takdir Allah Swt. yang harus disandarkan sebagai etika sopan santun kepada Allah Swt. karena hanya Allah yang berkuasa untuk menyembuhkan. Namun bukan berarti saat manusia sakit yang dilakukan hanya berpasrah diri saja melainkan tetap berikhtiar untuk mencari hal yang dapat menyembuhkan yakni penawar atau obat.

Tidak jauh berbeda dengan perumpamaan setiap masalah pasti ada jalan keluarnya, begitu pula pada setiap penyakit pun adapula obatnya. Maka sama halnya buah lerak pada penelitian ini yang dapat bermanfaat sebagai obat bagi

penyakit yang disebabkan oleh bakteri disekitar manusia. Beberapa penelitian telah menyebutkan kegunaan lerak sebagai antibakteri seperti penelitian yang dilakukan Widowati dkk (2022) pada ekstrak etanol buah lerak yang menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif atau zat antibakteri yang didukung oleh uji fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tannin, dan triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri penyebab infeksi kulit yakni *Staphylococcus aureus*. Sehingga hal ini dapat membuktikan bahwa buah-buahan yang Allah Swt. ciptakan memiliki kandungan yang bermanfaat dan berpotensi sebagai sumber obat.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etil asetat buah lerak memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* dibandingkan dengan ekstrak etanol dan n-heksana dengan menghasilkan zona hambat masing-masing pada bakteri uji sebesar 14,12 mm dan 15,53 mm. Hasil zona hambat tertinggi ekstrak etanol buah lerak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 6,78 mm dan 3,75 mm. Sedangkan hasil zona hambat tertinggi ekstrak n-heksana buah lerak terhadap *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* adalah 3,38 mm dan 4,23 mm.
2. Hasil identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa golongan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada ekstrak etanol buah lerak diduga adalah alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, dan triterpenoid. Sedangkan pada ekstrak etil asetat adalah golongan senyawa flavonoid, tanin, fenol, dan triterpenoid. Pada ekstrak n-heksana diduga terdapat golongan senyawa fenol, tanin, dan triterpenoid. Hasil ini juga diperkuat oleh identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

5.2 Saran

1. Identifikasi golongan senyawa aktif hendaknya juga dilakukan secara kuantitatif untuk mengetahui jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing ekstrak.
2. Perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif yang paling berperan sebagai antibakteri dengan metode yang lebih baik seperti Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) atau LC (Liquid Chromatography) dan identifikasi lebih lanjut menggunakan MS dan NMR.
3. Perlu dilakukan penggunaan metode uji aktivitas antibakteri lain selain difusi cakram sebagai pembanding hasil uji aktivitas anti bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriastini. 1990. *Daftar Jenis Nama Tanaman*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Agustanti, K. N. E., & Putri, O. K. 2018. Perbandingan Kadar Saponin Ekstrak Lerak (*Sapindus rarak*) Dengan Variasi Jumlah Pelarut Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Doctoral dissertation*. Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang).
- Ahriani. 2021. Analisis Nilai Absorbansi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha Gossypifolia* L.). Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
- Aisyah, L. S., Jasmansyah, S. P., & Resnawati, T. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Fenol Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Roscoe Var. Sunti) Isolation And Antibacterial Activity Of Phenol Compounds Of Ethyl Acetic Extract Of Red Zinger (*Zingiber Officinale* Roscoe Var. Sunti). *Jurnal Kartika Kimia*, 2(1), 44-50.
- Amalia, S., S. Wahdaningsih, and E.K. Untari. 2014. Antibacterial activity testing of n-Hexane fraction of red dragon (*Hylocereus polyrhizus* Britton dan Rose) fruit peel on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Traditional Medicine Journal*. 19(2):89-94
- Amalia, S., Fasya, A. G., Hasanah, F., & Yuliani, D. 2018. Pemisahan Senyawa Aktif Fraksi Petroleum Eter dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* dari Ranu Grati Pasuruan. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 6(2), 50-56.
- Apriani, Tika. 2016. Isolasi Steroid/Triterpenoid Dari Sponge *Callyspongia Fibrosa* (Ridley & Dendy, 1886) Dan Identifikasi Secara Spektrofotometri Ultraviolet Dan Inframerah (*Doctoral Dissertation*, Universitas Sumatera Utara).
- Apriyani, Yosi Mega. 2015. Aktivitas Antibakteri Minyak Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmani* Nees Ex BI) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba*. Bandung.
- Aryanti, N., Heny, D. R., & Nafiunisa, A. 2020. Optimization of ultrasound-assisted extraction of rarak saponin from *Sapindus rarak* DC. using response surface methodology (RSM). *Proceedings Of 2nd International Conference On Chemical Process And Product Engineering (Iccppe) 2019*.
- Azizah, F. 2021. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol alga hijau (*Ulva lactuca*) dengan variasi waktu sonikasi. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Bachtiar, S.Y, Tjahjaningsih, W, Sianita, N. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (Sargassum sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(1). p 53 – 60
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S.K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: a Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71-79
- Bauman, R, W, 2012. *Microbiology:With Diseases by Body Sistem*. San Fransisco: Pearson Education, Inc.
- Bonang, G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen A.M. 2001. Jawetz, Melnick and Adelbergs, *Mikrobiologi Kedokteran*, Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. Jakarta : Penerbit Salemba Medika
- Burkey, R. W., Diamondstone, R.A., Velapoidi, & Menis, O. 1974. Mechanisms Of The Liebermann-Burchard And Zak Color Reactions For Cholesterol. *Clinical Chemistry*, 20(7): 794-801
- Cockerill, F.R., Wikler, M.A., Alder, J., Dudley, M.N. 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition*. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Chaudhary, S. K., Mandal, A. B., Bhar, R., Gopi, M., Kannan, A., Jadhav, S. E., & Rokade, J. J. 2019. Effect of graded levels of soapnut (*Sapindus mukorossi*) shell powder on reproductive performance in broiler breeders. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 32(1), 118–125. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0353>
- Crossley, K. B., Jefferson, K. K., Archer, G. L., dan Fowler Jr, V. G. 2009. *Staphylococci in Human Disease*. West Sussex: Blackwell Publishing.
- Cowan, M.M., 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews* Vol. 12, No. 4 : 564–82.
- Cushnie TPT & Lamb, AJ. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343 – 356.
- Darwis, K. 2021. Penyuluhan Penggunaan Biji Lerak (*Sapindus rarak*) sebagai Alternatif Pengganti Sabun yang Ramah Lingkungan. *MEGA PENA: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1(1), 7-11.

- Desiyanti, D N. M., Dira Swantara, I. M., & Sudiarta, I. P. 2016. Uji Efektivitas Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Pestisida Nabati Terhadap Mortalitas Kutu Daun Persik (*Myzus Persicae* Sulz) Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annum* L.). *Jurnal Kimia*, 1– 6
- Desmiaty, Y.; Ratih H.; Dewi M.A.; Agustin R. 2008. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor* Hassk.) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia. *Ortocarpus*. 2008. 8, 106-109.
- Dewi, N. W. R. K., Gunawan, I. W., & Puspawati, N. M. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pranajiwa (*Euchresta Horsfieldii* Lesch Benn.). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*, 5(1), 26.
- DwicaHyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria Atrata* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15-24.
- Dzen, Sjoekoer M., dkk. 2003. *Bakteriologi Medik edisi 1*. Malang: Bayumedia Publishing
- Efdi, M., Syafrizayanti, S., & Sari, D. K. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Terpenoid Serta Uji Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Batang *Shorea Singkawang*. *Chempublish Journal*, 1(2), 61-72.
- Ekawati, M. A., & Suirta, I. W. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Sembukan (*Paederia Foetida* L) Serta Uji Aktivitannya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*, 11(1).44.
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) Yang Di Ekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 165-172
- Estikomah, S. A., Amal, A. S. S., & Sifaatsih, S. F. 2021. Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Propionibacterium Acnes* Gel Semprot Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.). *Pharmasipha*, Vol. 5, No. 1.
- Fadhly, E., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2015. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Daun Rivina Humilis L. Serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 18(2), 67-72.
- Fasya, A. G., Purwantoro, B., dan Ahmad, M. 2020. Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 8(1), 23-34.

- Ghozali, Imam. 2009. *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Vol.100-125
- Hagerman, A. E. 2002. *Tanin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University.
- Halimu, R. B., Sulistijowati, R., & Mile, L. 2020. Identifikasi Kandungan Tanin Pada *Sonneratia Alba* Identification of Tanin Content In *Sonneratia Alba*. *The NIKe Journal*, 5(4).
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., & Yunianta, Y. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut Dan Lama Ekstraksi)[In Press Januari 2016]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1).
- Hanifa, N. I., Wirasisya, D. G., Muliani, A. E., Utami, S. B., & Sunarwidhi, A. L. 2021. Phytochemical Screening Of Decoction And Ethanolic Extract Of *Amomum Dealbatum* Roxb. Leaves. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510-518.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hasan, M. Iqbal. 2003. *Pokok-Pokok Materi Statistik 1(Statistik Deskriptif)*. Edisi Kedua, Penerbit PT. Bumi Aksara, Jakarta
- Heni., Savante, A., dan Titin, A. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran*
- Hia, Paul Sahakhotodo. 2017. Efek Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak* Dc) 7,5% Sebagai Alternatif Pasta Gigi Terhadap Jumlah Bakteri Biofilm Permukaan Gigi Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara Medan
- Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. 2019. Uji aktivitas antibakteri fraksi dari maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*, 3(1), 7-14.
- Husain, Dirayah Rauf dan Wardhani, Riuh., 2021. *Bakteri Endosimbion Cacing Tanah: Kajian Potensi Antibakteri Secara In Vitro Dan In Silico*. Yogyakarta: Deepublish
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana, E. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Dinamika*, 8(1), 66-84.
- Irianto, K. 2006. *Menguak Dunia Mikroorganisme*, Jilid 2, hal 17-20, CV. Yrama Widya Margahayu Permai, Bandung.

- Isrianto dan Kristanto. 2017. Bioaktivitas Larvasida Ekstrak Buah Lerak Terhadap Larva *Aedes Aegypti* Instar Iii Bioactivity of Larvasida Extract Lerak Fruit on Larva *Aedes Aegypti* Instar Iii. *Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi* Vol 2 (2): 1-10
- Jamilah, J. 2015. Evaluasi Keberadaan Gen catP terhadap Resistensi Kloramfenikol Pada Penderita Demam Tifoid. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1).
- Jamilah, U. 2021. Aktivitas antioksidan ekstrak air dan etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.) menggunakan metode ekstraksi sonikasi. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Jannah, Miftahul. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Jaya, I. G. N. I. P., Leliqia, N. P. E., Widjaja, I. N. K. 2008. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Dpph Ekstrak Produk Teh Hitam (*Camellia Sinensis* (L.) Ok) Dan Gambir (*Uncaria Gambir* (Hunter) Roxb) Serta Profil Klt-Densitometernya. *Jurnal Farmasi Udayana*, 1(1), 279725.
- Katsiir, Ibni. 2004. Tafsir Ibnu Katsir (Terjemahan: M. Abdul Ghofar E.M, Abdurrahim Muthi, Abu Ihsan Atsari) Cetakan ke-4. Pustaka Imam- asy-Syafi'i: Bogor.
- Kelik, M., & Zuliatus, E. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Buah Lerak (*Sapindus rarak*, DC) sebagai Repelan Anti Nyamuk *Aedes aegypti*. *Proceeding of Biology Education*, 2(1), 42-49.
- Khairunnida, G. R., Rusmini, H., Maharyuni, E., & Warganegara, E. 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Waterborne Disease pada Air Minum Kemasan dan Isi Ulang. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol. 8 No. 1 April 2021 73 P-ISSN: 2406-9388 E-ISSN: 2580-8303 Karpain pada Ekstrak Metanol Daun (*Carica pubescens* Lenne) & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry). *Skripsi*; Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim, Malang.
- Khowas, Ahmad Darul Fikri. 2021. Uji aktivitas antioksidan dan fitokimia daun beluntas (*Pluchea indica* L.) hasil ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut. *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas
- Kristina, C. V. M., Yusasrini, N. L. A., & Yusa, N. M. 2022. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal ITEPA*, Vol 11 No 1.
- Kusuma, S.A.F. 2010. *Escherichia coli*. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran. Jatinagor.
- Latief, M., Meriyanti, N. F., Tarigan, I. L., Ayu, A. N., Maharani, R., Aulia, E., & Siregar, D. 2022. Isolasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Achantus Ilicifolius*) Dan Aktivitas Antibakterinya Terhadap *S. Aureus* Dan *E. Coli*. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, 16(1).
- Lexia, N., dan Ngibad, K. 2021. Aplikasi Spektrofotometri Terhadap Penentuan Kadar Besi Secara Kuantitatif dalam Sampel Air. *Jurnal Pijar Mipa*, 16(2), 242-246.
- Listari, Y. 2009. Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari Rizosferfamilia poaceae terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal online*, 1-6.
- Mabrurroh, E. Q., Mursiti, S., & Kusumo, E. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Murbei (*Morus Alba Linn*). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 8(1), 16-22.
- Madduluri, S., Rao, K.B. and Sitaram, B., 2013, In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts against Five Bacteria Pathogens of Humans, *Internasional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*
- Makhrusah, S. 2021. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air, Etil Asetat, N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica L.*). *Skripsi*. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. 2020. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*). *Jurnal Mipa*, 9(2), 64-69.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan. Bandung: Penerbit Itb.
- Markom, M., Hasan, M., Daud, W.R.W., Singh, H., And Jaim, J.M., 2007, Extraction Of Hydrolysable Tannins From *Phyllanthus Niruri Linn*:Effects

Of Solvents And Extraction Methods, *Separation And Purification Technology*, 52, Pp. 487-496.

- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono, S. 2005. The Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Chemical Compounds In Ethanol Extract Of Labu Siam Fruit (*Sechium Edule Jacq. Swartz.*). *Asian Journal Of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26-31.
- Mason, T.J. 1990. *Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry*. Volume ke-1. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry.
- Mawaddah. 2019. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Hydrilla Verticillata. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Masrihanah, A. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus Androgynus L. Merr*). *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mcmurry, J. And R.C. Fay. 2004. *Mcmurry Fay Chemistry. 4th Edition*. Belmont, Ca.: Pearson Education International.
- Minarno, E. B., Laily, A. N., & Alfiah, I. 2017. Analisis Kandungan Saponin Pada Daun Dan Tangkai Daun *Carica Pubescens Lenne & K. Koch*. In *Proceedings Of The International Conference On Green Technology* (Vol. 8, No. 1, Pp. 311-318).
- Morales G, Sierra P, Mancilla, Parades A, Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile, Antimicrobial Activity, and Biototoxicity against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem*. 49 (1).
- Muhaimin, M., Ningsih, K. N., & Latief, M. 2021. Senyawa Turunan Terpenoid Dari Ekstrak Aseton Daun Perepat (*Sonneratia Alba*) Dan Aktivitasnya Terhadap *Escherichia Coli*. *Journal Of The Indonesian Society Of Integrated Chemistry (On Progress)*, 13(2).
- Muhibah, S. R. N. 2013. Uji Golongan Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma Cottonii* dari Petani Lobuk Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Muller, J. and A. Heindl. 2006. Drying of medicinal plants In R.J. Bogers, L.E. Craker, and D. Lange (eds.), *Medicinal and Aromatic Plants, Springer, The Netherlands*, 237-252.

- Murni, A., & Rohman, A. 2020. Studi ekstrak buah lerak: pengaruh jenis solvent, hasil ekstraksi, dan aktivitas antimikroba. *Doctoral dissertation*, Faculty of Engineering.
- Nainggolan, Bonifasius MH. 2009. Perbandingan Uji Tukey (Uji Beda Nyata Jujur (Bnj)) Dengan Uji Fisher (Uji Beda Nyata Terkecil (Bnt)) Dalam Uji Lanjut Data Rancangan Percobaan. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*, edisi VII
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. 2019. kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2), 216-225.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. 2016. Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa*, 2(1).
- Nurchayanti, A. D., & Timotius, K. H. 2011. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Polar Dan Non Polar Biji Selasih (*Ocimum Sanctum* Linn)[Antioxidant And Antibacterial Activities From Polar And Non Polar Basil (*Ocimum Sanctum* Linn) Seed Extracts]. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 22(1), 1-1.
- Oktaviani, M., Alifiar, I., dan Yuliana, A. 2022. Beyond Use Date (Bud) Sediaan Tetes Mata Kloramfenikol. In *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Hasil Penelitian Program Studi S1 Farmasi* (Vol. 2, No. 1).
- Paju, N., P. V. J. Yamlean, dan N. Kojong. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 2 No. 01.
- Pramita, D., & Harlia, E. S. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum Minus* Huds). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(3).
- Pelczar MJ dan Chan ESC. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Penerjemah: Ratna SH dkk, Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Perron, R. N. dan Brumaghim, L. J. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*, (53): 75 - 100.
- Pertiwi, Nursitasari. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Hambat Ekstrak Air Campuran Daun *Piper betle* L Terhadap Bakteri Uji. Jurusan Farmasi. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta

- Permatasari, Dyah Ayu. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* Linn.) Terhadap *Propionibacterium acnes* Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Poeloengan, M dan PraptiwiF. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 20(2).
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. hlm 188-191.
- Puspitaningrum, A dan Silviani, Y. 2015. Uji Efektivitas ekstrak etil asetat dan etanol buah lerak (*Sapindus rarak*) terhadap pertumbuhan *enteropathogenic Escherichia coli* dan *enterotoxigenic Escherichia coli*. *Biomedika*, 8(1), 1-6.
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum Rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2(3), 120-125.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 56-60.
- Rachman, A., Sri W., Ike Y.W. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi*, 1(1)
- Rachmawaty, D. U. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana rambut jagung manis (*Zea mays ssaccharata sturt*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rahmawati, A. S., dan Erina, R. 2020. Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dengan Uji Anova Dua Jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1), 54–62
- Rahmadani, F. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Bachelor's thesis*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, 2015).
- Riawan, 1990. *Kimia Organik*. Bina Rupa: Aksara Jakarta
- Riza, N. A., & Oktavia, A. I. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* (*Doctoral Dissertation*, Akfar Pim).

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Itb Press
- Romadanu, R., Hanggita, S., & Lestari, S. D. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo Nucifera*). *Jurnal Fishtech*, 3(1), 1-7
- Rosenbach, A. J. F. 1884. *Mikro-organismen bel den Wund-infections-krankhelten des Menschen*. JF Bergmann
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat Padano*. Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Sa'adah, L., 2010, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Samputri, R. D., Toemon, A. N., & Widayati, R. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kamandrah (*Croton Tilgium* L.) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Herb-Medicine Journal: Terbitan Berkala Ilmiah Herbal, Kedokteran Dan Kesehatan*, 3(3), 19-33.
- Samosir, S. R. 2022. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoida dari Daun Tumbuhan Mundu (*Garcinia dulcis* (Roxb) kurz). *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 5(2), 65-72.
- Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., dan Madigan, J. M. 2013. Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 121-126
- Sanjiwani, N. M. S., Paramitha, D. A. I., Wibawa, A. A. C., Ariawan, I. M. D., Megawati, F., Dewi, N. W. T., ... & Sudiarsa, I. W. 2020. Pembuatan Hair Tonic Berbahan Dasar Lidah Buaya dan Analisis dengan Fourier Transform Infrared. *Widyadari: Jurnal Pendidikan*, 21(1).
- Sanu, E. M., Sanam, M. U. E., & Tangkonda, E. 2015. Uji Sensitivitas Antibiotika Terhadap *Staphylococcus Aureus* Yang Diisolasi Dari Luka Kulit Anjing Di Desa Merbaun, Kecamatan Amarasi Barat Kabupaten Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(2), 175-189.
- Saragih, D. E., & Arsita, E. V. 2019. Kandungan fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. *In Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* (Vol. 5, No. 1, pp. 71-76).
- Sari, I. P., Wibowo, M. A., & Arreneuz, S. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria Leucospilota*) Dari Pulau Lemukutan

Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(4).

Sari, N. W., Fajri, M. Y., & Wilapangga, A. 2018. Analisis fitokimia dan gugus fungsi dari ekstrak etanol pisang goroho merah (*MUSA ACUMINATE* (L)). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1).

Sari, Y dan Yulis, P.A.R. 2023. Tannin Determination In Young Coconut Coir (*Cocos Nucifera* L.) By Ftir And Uv-Vis Spectroscopy. *Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Lldikti Wilayah 1 (Jumpa)*, 3(1), 08-13.

Sastrohamidjojo, H. 2001. *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Septiana, A.T., Dwiyaniti, H., Muchtadi, D., dan Zakaria, F.R. 2005. Kajian Antioksidan Zingiberaceae sebagai Penghambat Oksidasi Lipoprotein Densitas Rendah (LDL) dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag. *Laporan Penelitian Hibah Pekerti Tahun 2*. Fakultas Pertanian. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.

Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Antibacterial Activities of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 1-6.

Sethi, Deepa dan Seth, Manisha. 2009. Interpersonal Communication: Lifeblood and Organization. *The IUP Journal of Soft Skills*. Vol. III, Nos. 3 & 4, hlm 32-40.

Setyowati, W. A. E., Ariani, S. D., Ashadi, M. B., & Rahmawati, C. P. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. In *Seminar nasional kimia dan pendidikan kimia VI* (Vol. 21, pp. 271-280).

Senduk, T. W., Montolalu, L. A., & Dotulong, V. 2022. The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove *Sonneratia Alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9-15.

Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati

Sholihah, M., Usman, A. & I Wayan, B. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik Untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi Dan Kulit Manggis. *Jurnal Keteknikan Pertanian*. 5(2), 161- 168.

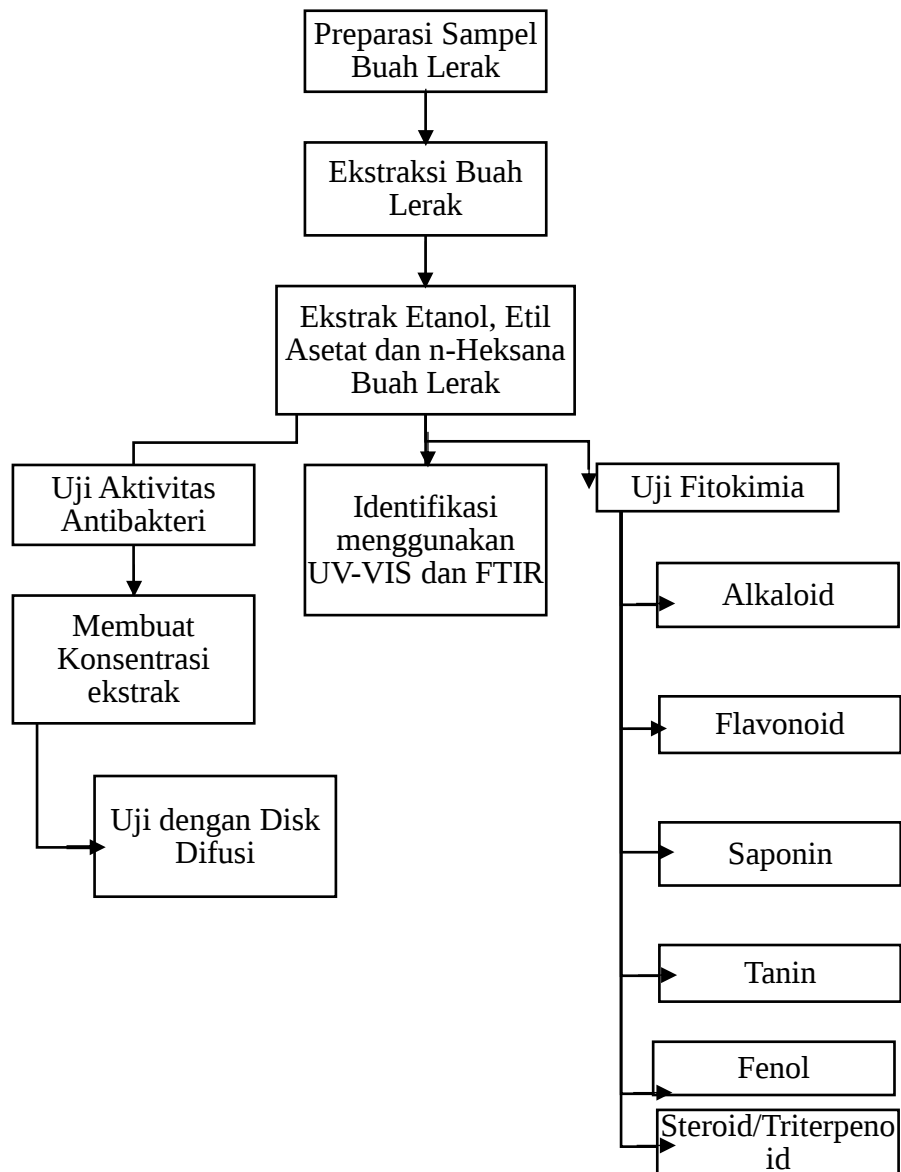
- Siahaan, M. A., & Sianipar, R. H. 2017. Pemeriksaan Senyawa Alkaloid Pada Beberapa Tanaman Familia *Solanaceae* Serta Identifikasinya Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Farmanesia*, 4(1), 1-11.
- Silalahi, V. A., Fachriyah, E., & Wibawa, P. J. 2018. Isolasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Etanol Rimpang Galang Merah (*Alpinia Purpurata* (Vielli) K. Schum) dan Produksi Nanopartikel dari Ekstrak Alkaloid. Studi Perbandingan Sifat Antibakteri Pada *Staphylococcus Aureus* Dan *Eschericia coli*. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(1), 1-7.
- Silviani, Y. 2017. Inhibitory effect of *Sapindus rarak* ethyl acetate extract on *Staphylococcus aureus*. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 14(1), 16-18.
- Sirait, A. M. 2001. Analisa Varians (ANOVA) dalam Penelitian Kesehatan, *Jurnal Media Litbang Kesehatan*, Vol XI No 2 P:39-4.
- Sumaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya Dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Malang: Universitas Brawijaya
- Susanty, S., & Bachmid, F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87-92.
- Susiloningrum, D, dan Indrawati, D. 2020. Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Valetton & Zijp.) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 9(2), 126-136.
- Sutrisno. 2007. *Struktur Organik Dari Spektramassa, Uv-Vis, Dan Ir*. Pt. Book Mart Indonesia. Trott.
- Svehla, G. 1990. *Vogel (Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimiko)*. Penerjemah: L.Setiono, A. Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka
- Taofik, Dkk. 2010. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (*Thitonia Diversifolia*) Sebagai Bahan Insektisida Botani Untuk Pengendalian Hama Tungau *Eriophyidae*. *Alchemy* Vol. 2(1): 104- 157
- Tetti, M. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Thermo Nicolet. 2001. *Introduction to FTIR Spectrometry*. Thermo Nicolet Inc: Madison, USA.

- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Morfologi Tumbuhan. Gajah Mada*. University Press. Yogyakarta.
- Tuntun, M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497-502.
- Turofiq, I'Anna 2019 Studi Variasi Kadar Air Terhadap Sifat Fisik Dan Sifat Mekanik Lerak (*Sapindus rarak*). *Skripsi*, Universitas Brawijaya.
- Utami, S., Widiyantoro, A., & Jayuska, A. 2016. Karakterisasi Senyawa Fenolik Dari Fraksi Metanol Bunga Nusa Indah (*Mussaenda Erythrophylla*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(4).
- Utami, Wisda Noviyanti. 2018. Isolasi Senyawa Fenolik Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dan Toksisitas Dari Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta*. L). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara Medan
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons, and D. Bates. 2008. Applications and Opportunities for Ultrasound Assisted Extraction in the Food Industry — a Review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9 (2): 161–169.
- Volk & Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Wati, Vivi Septya. 2020. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kltp Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter *Hydrilla Verticillate*. *Skripsi*. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Widowati, R., Ramdani, M. F., & Handayani, S. 2022. Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) terhadap Tiga Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial. *Jurnal Penelitian Kesehatan "SUARA FORIKES"(Journal of Health Research" Forikes Voice")*, 13(3), 649-654.
- Wigunarti, A. H., Pujiyanto, S., & Supriyadi, A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, 2(2).

- Wijayanti, F., Sari, M., Suprayitno, R., & Aminin, D. 2020. The Gel Soap with Raw Materials of Lerak Fruit (*Sapindus rarak* DC). *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 2(1), 1-6.
- Winarti, W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2009. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Akar Sidaguri (*Sida rhombifolia* Linn). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12(2), 52-56.
- Yulianti, W., Ayuningtyas, G., Martini, R., & Resmeiliana, I. 2020. Pengaruh Metode Ekstraksi dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L). *Jurnal Sains Terapan: Wahana Informasi dan Alih Teknologi Pertanian*, 10(2), 41-49.
- Zeniusa, Popi., Ramadhian, M. Ricky, Nasution, Syahrul Hamidi., dan Karima, Nisa. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Majority Volume 8 No 2*.
- Zela, Z., & Diah, A. W. M. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan 1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Media Eksakta*, 17(2), 85-90.

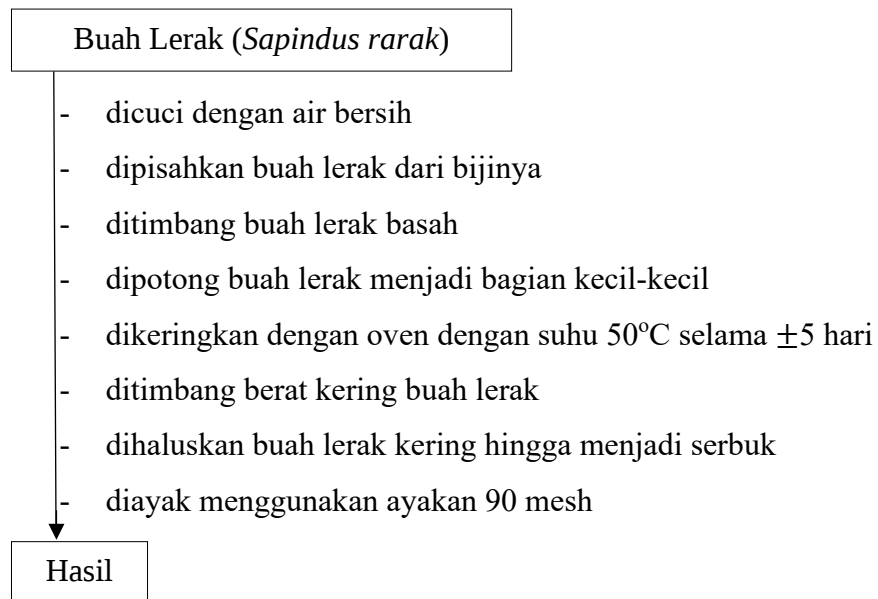
LAMPIRAN

Lampiran 1: Rancangan Penelitian

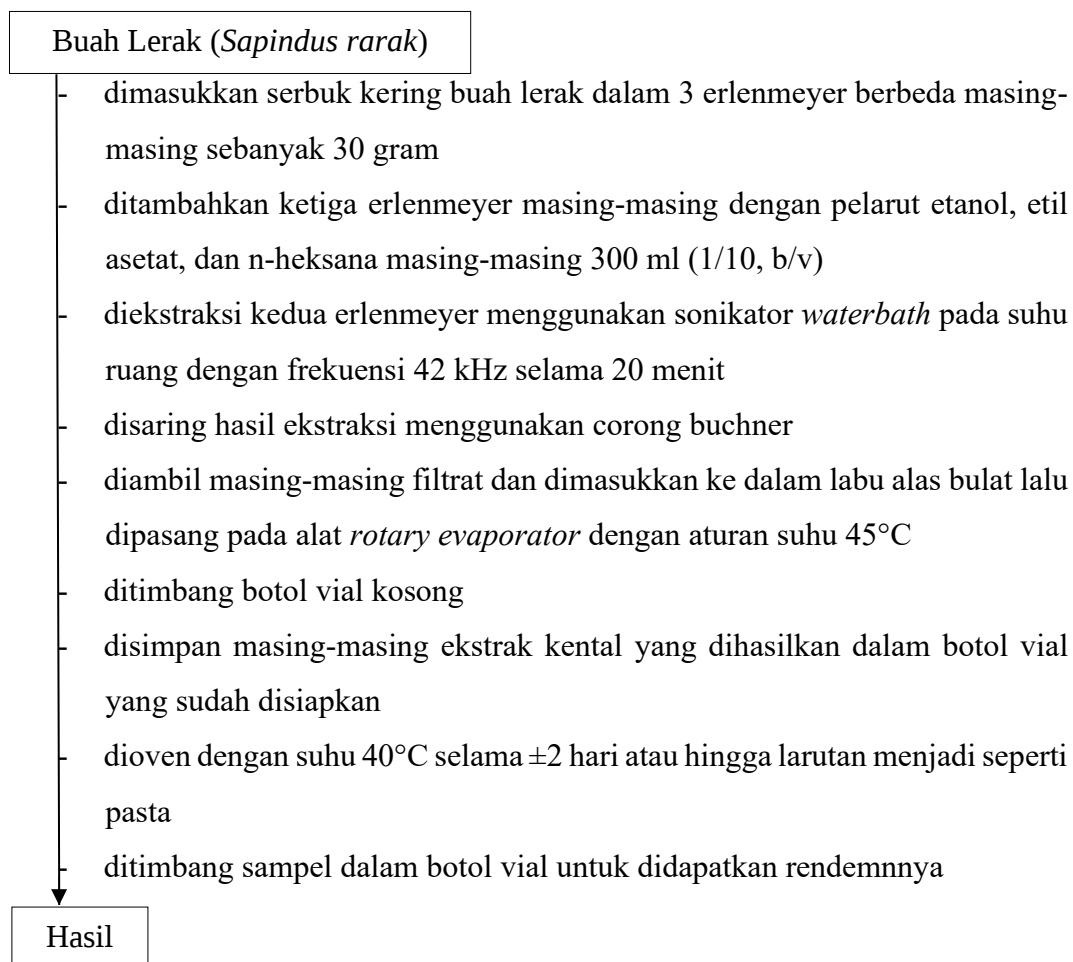


Lampiran 2: Diagram Alir Penelitian

L 2.1 Preparasi Sampel

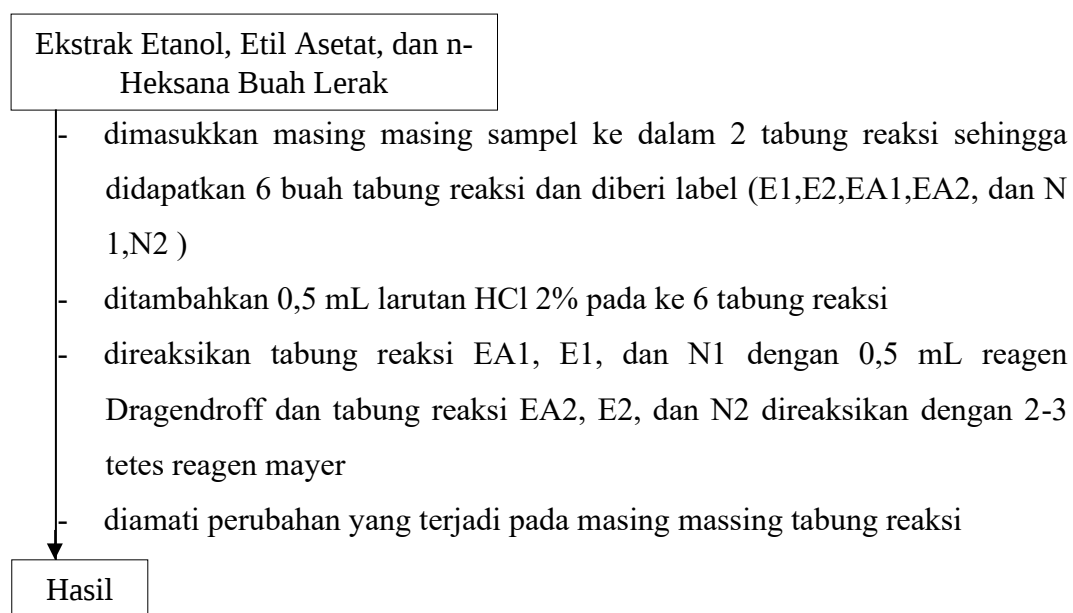


L 2.2 Ekstraksi menggunakan Sonikasi

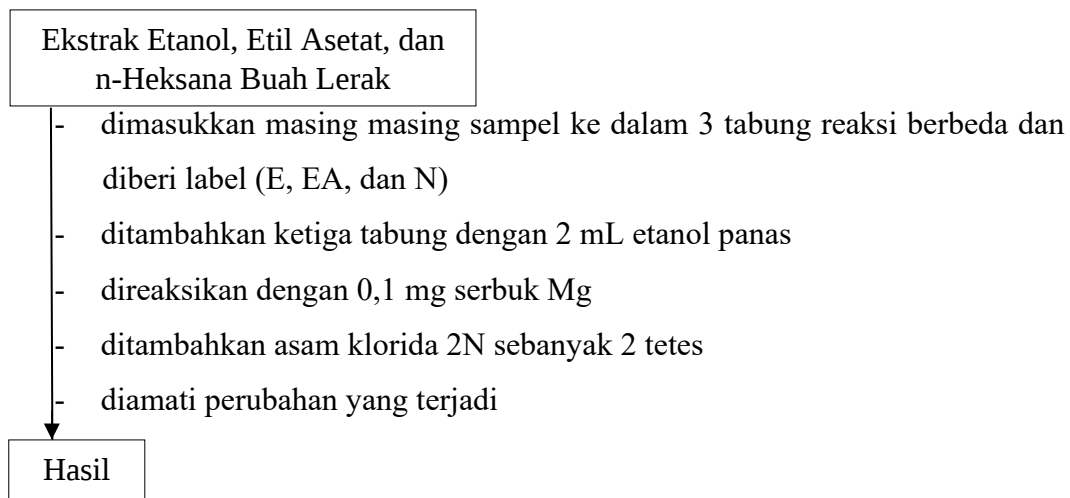


L 2.3 Uji Fitokimia

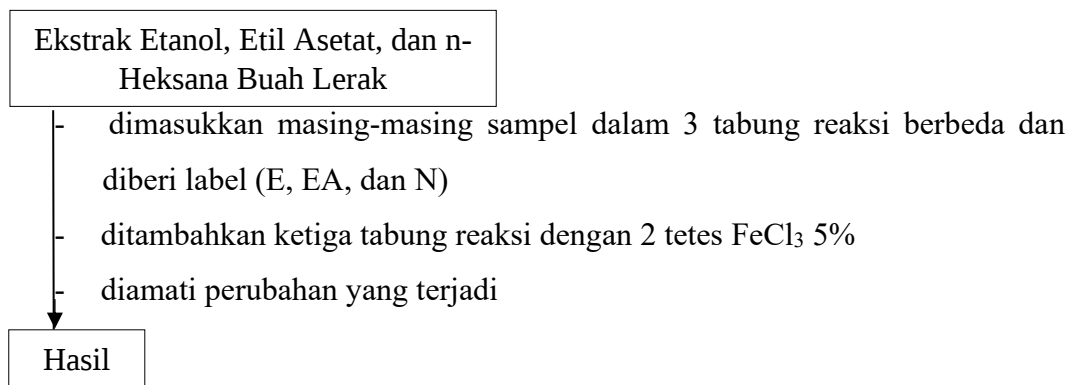
L 2.3.1 Uji Alkaloid



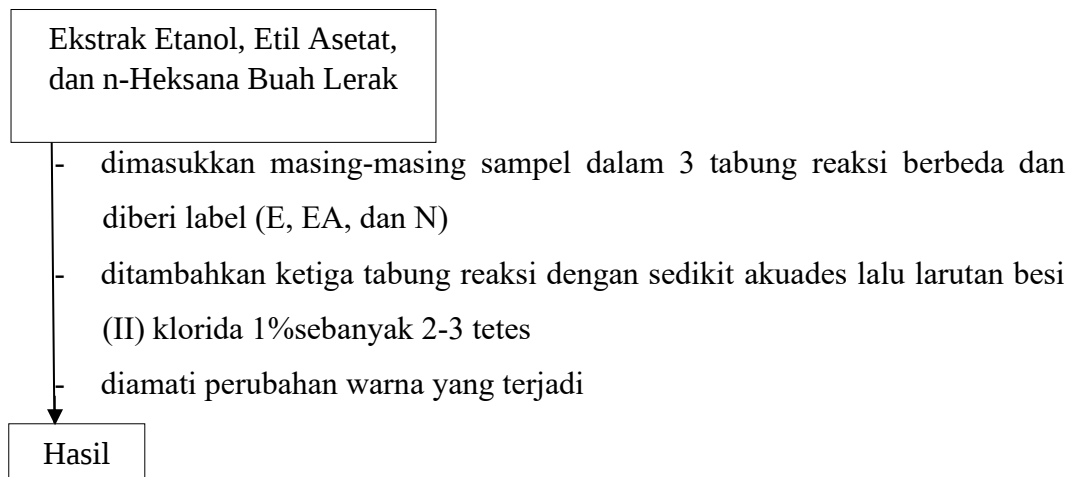
L 2.3.2 Uji Flavonoid



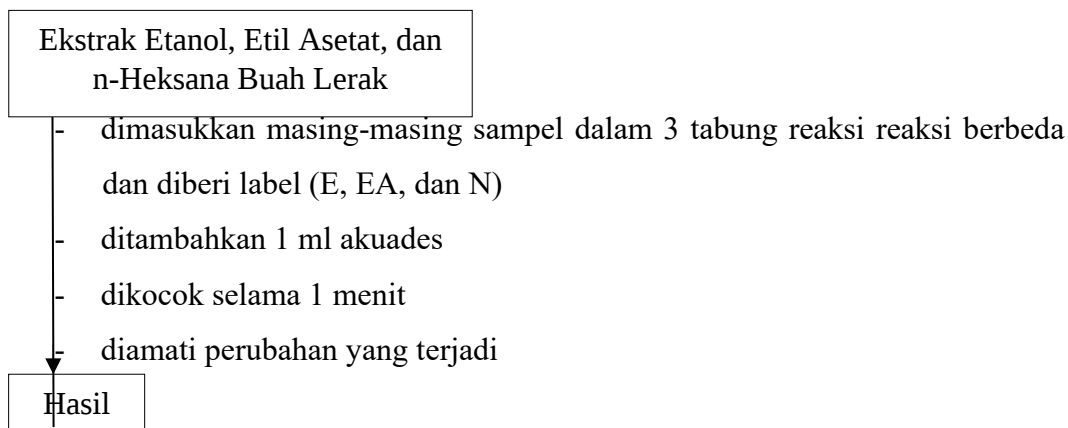
L 2.3.3 Uji Fenol



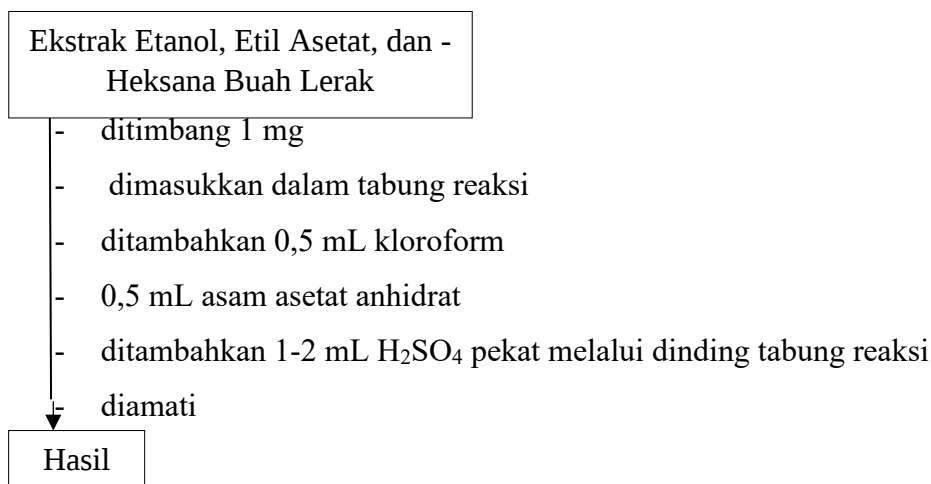
L 2.3.4 Uji Tanin



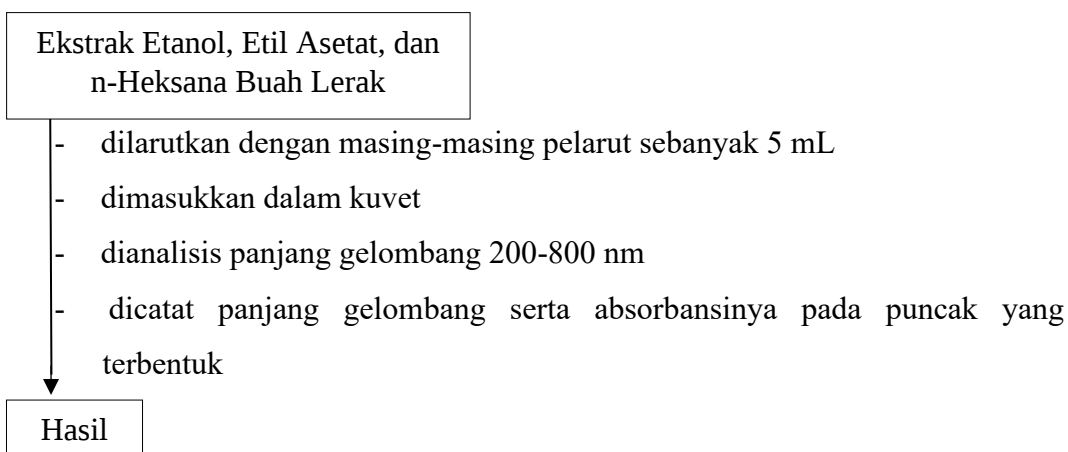
L 2.3.5 Uji Saponin



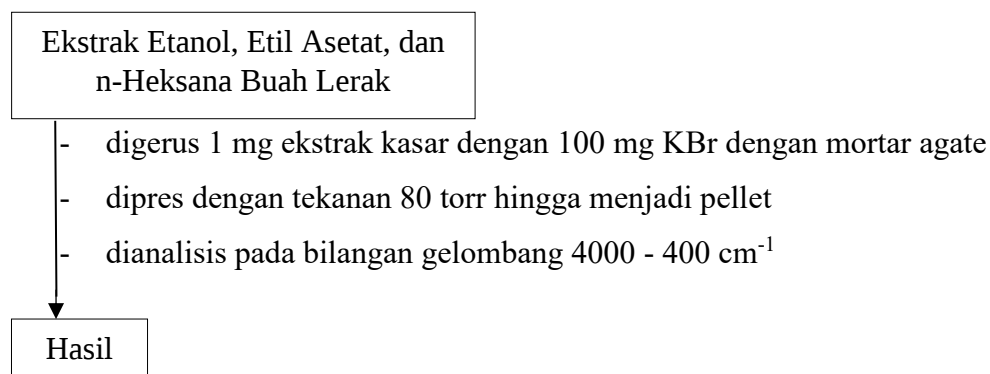
L 2.3.6 Uji Steroid/Triterpenoid



L 2.4 Identifikasi menggunakan UV vis

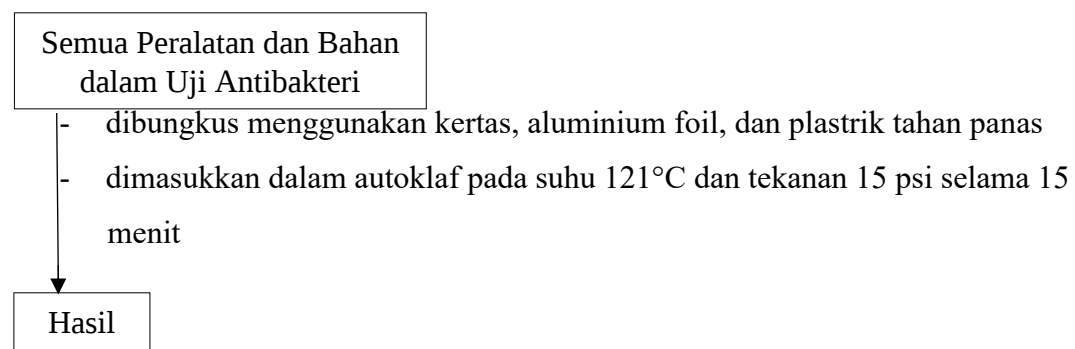


L 2.5 Identifikasi menggunakan FTIR

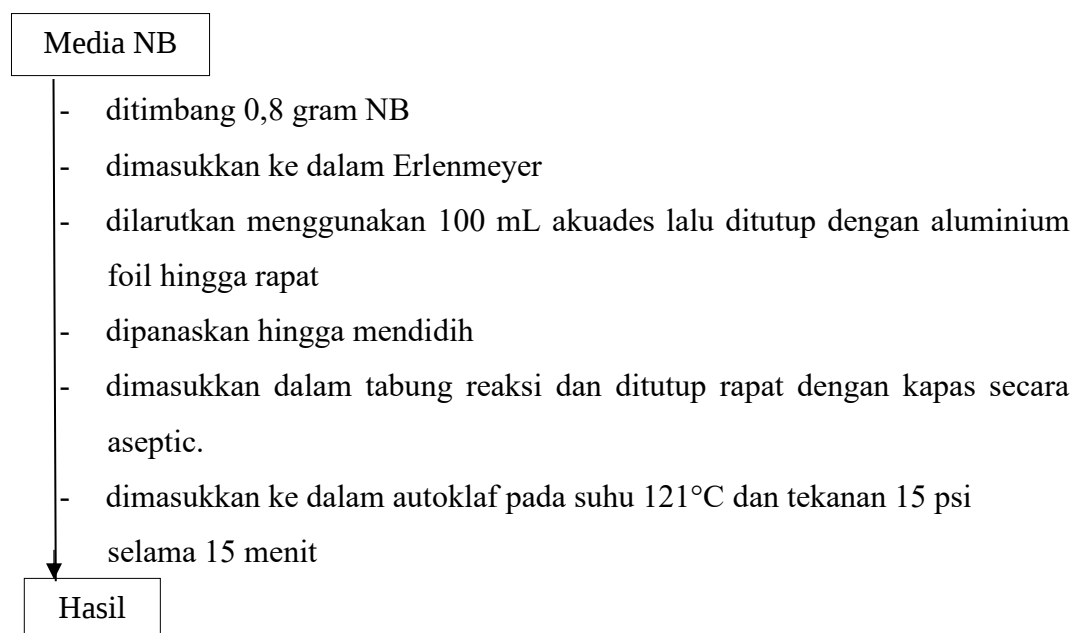


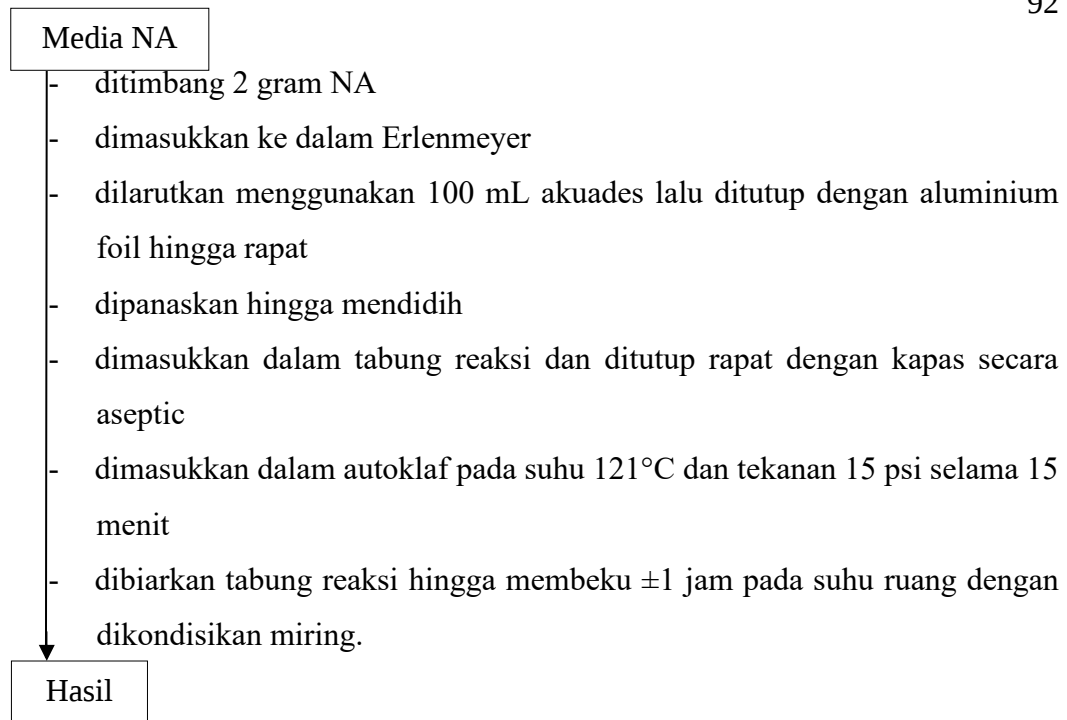
L 2.6 Aktivitas Antibakteri

L 2.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

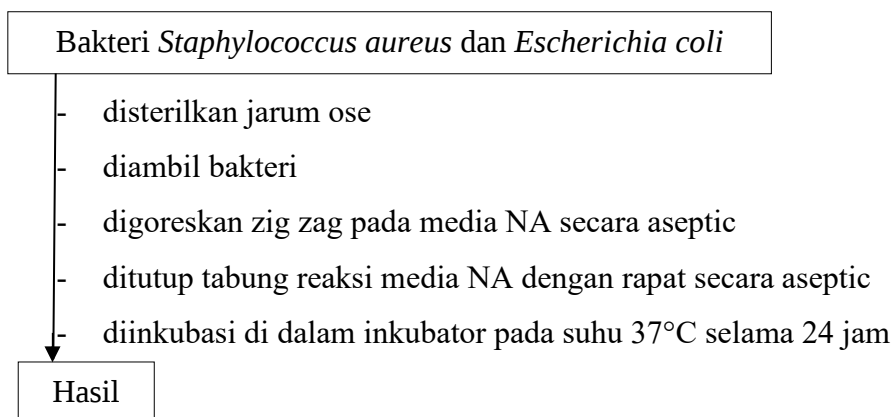


L 2.6.2 Pembuatan Media

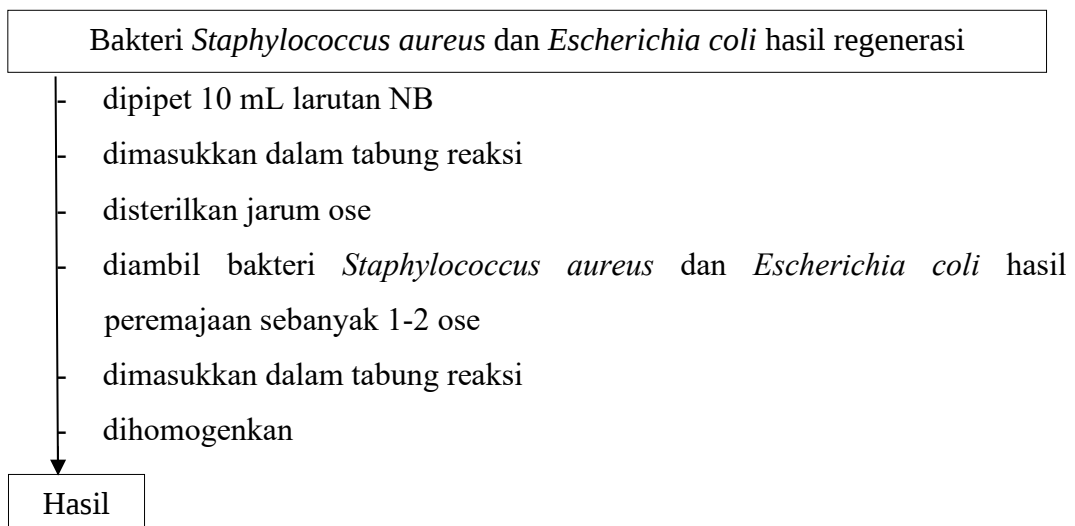




L 2.6.3 Peremajaan Bakteri

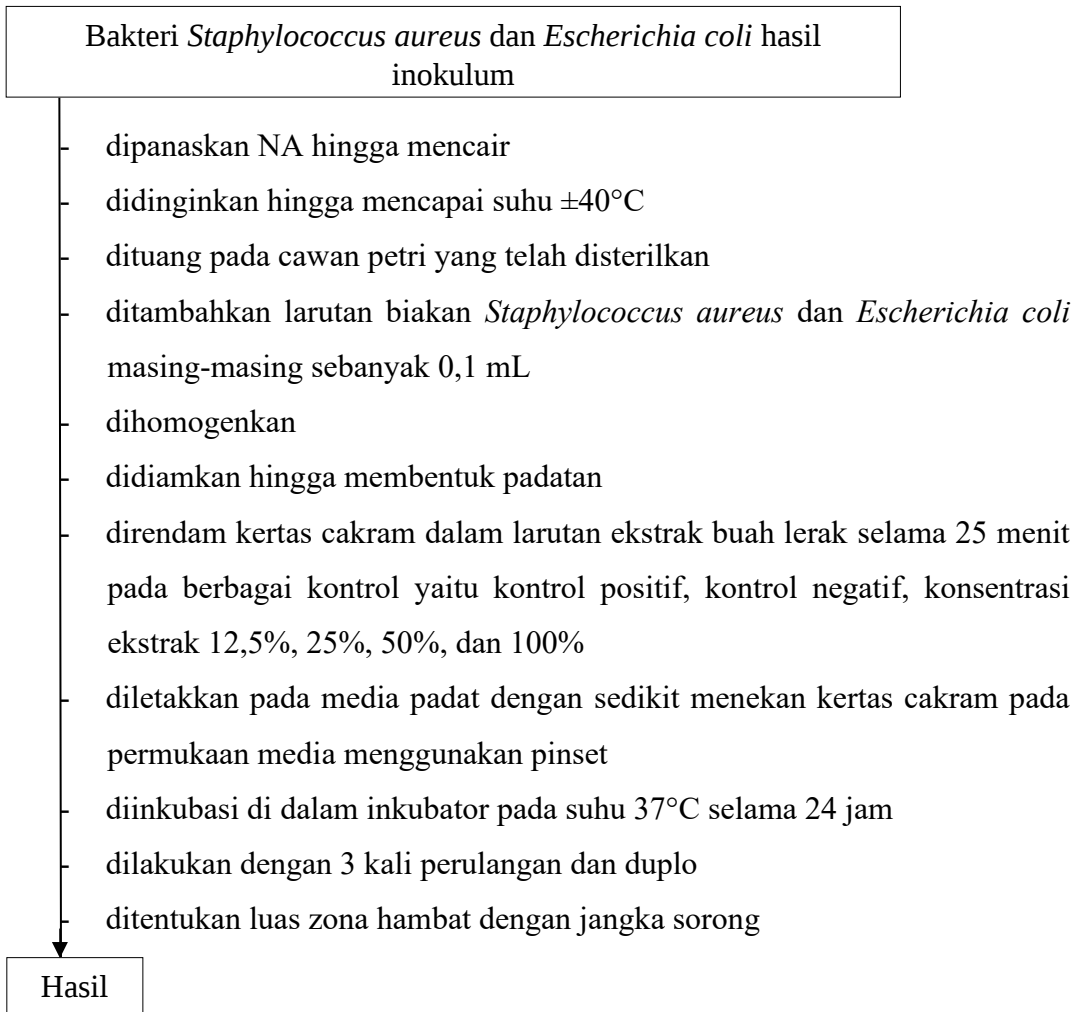


L 2.6.4 Pembuatan Suspensi Bakteri



L 2.6.5 Uji Aktivitas Bakteri

L 2.6s.5.1 Uji *Disk Diffusi*



Lampiran 3: Perhitungan**L 3.1 Pembuatan Larutan HCl 2 N**

Massa jenis HCl	$= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$
BM HCl	$= 36,458 \text{ g/mol}$
n	$= 1 \text{ (jumlah mol H}^*)$
Konsentrasi	$= \frac{37 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \times 100\%$ $= 37\%$
Mol HCl dalam larutan 37%	$= \frac{37 \text{ g}}{36,458 \text{ g/mol}}$ $= 1,014866 \text{ mol}$
Volume larutan HCl dalam larutan 37%	$= \frac{m}{\rho}$ $= \frac{100 \text{ g}}{1,19 \text{ g/mL}}$ $= 84,033613 \text{ mL}$ $= 0,084 \text{ L}$
Molaritas HCl 37%	$= \frac{\text{mol}}{V}$ $= \frac{1,014866 \text{ mol}}{0,084 \text{ L}}$ $= 12,0817 \text{ mol/L}$
Normalitas HCl	$= n \times \text{Molaritas HCl}$ $= 1 \times 12,0817 \text{ mol/L}$ $= 12,0817 \text{ N}$
Penentuan volume yang diambil menggunakan rumus pengenceran	
$N_1 \times V_1$	$= N_2 \times V_2$
$12,0817 \text{ N} \times V_1$	$= 2 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$
V_1	$= \frac{2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}}{12,0769 \text{ N}}$ $= 1,655 \text{ mL}$

L 3.2 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ ml} \\
 V_1 &= 0,54 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2% diambil sebanyak 0,54 ml larutan HCl pekat 37% dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 ml

L 3.3 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\% \text{Konsentrasi} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa zat terlarut} + \text{massa pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{Massa zat terlarut} + \text{massa pelarut} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\% \text{Konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ gram} + \text{massa pelarut} = \frac{1 \text{ gram}}{1\%} \times 100\%$$

$$\text{Massa pelarut} = 100 \text{ gram} - 1 \text{ gram} = 99 \text{ gram}$$

$$\text{Volume pelarut} = \frac{\text{massa pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ gram}}{1 \text{ gram/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan dengan ditimbang serbuk FeCl₃.H₂O sebanyak 1 gram dilarutkan dengan aquades ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan serta dihomogenkan.

L 3.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

- Pembuatan larutan Induk 100%

$$100\% = \frac{100 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml}}$$

Dilarutkan 1 gram ekstrak ke dalam 1 mL DMSO

- Pembuatan variasi konsententrasi ekstrak 50%, 25%, 12,5%

- a. Konsentrasi 50%

$$50\% = \frac{50\%}{100\%} \times 1 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

diambil 0,5 mL dari konsentrasi 100%

- b. Konsentrasi 25%

$$25\% = \frac{25\%}{50\%} \times 1 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

diambil 0,5 mL dari konsentrasi 50%

- a. Konsentrasi 12,5%

$$12,5\% = \frac{12,5\%}{25\%} \times 1 \text{ mL} = 0,5 \text{ mL}$$

diambil 0,5 mL dari konsentrasi 25%

Lampiran 4: Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan ke-1				Bulan ke-2				Bulan ke-3				Bulan ke-4				Bulan ke-5			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan proposal dan seminar																				
2	Persiapan penelitian																				
3	Penelitian																				
4	Persiapan seminar hasil penelitian dan seminar																				
5	Revisi dan skripsi																				

Lampiran 5: Data Hasil Penelitian

L.5.1 Hasil Ekstraksi

L. 5.1.1 Ekstrak Etanol

Ulangan	Botol Vial 100 mL Kosong (g)	Botol Vial 100 mL + sampel (g)	Berat Ekstrak Pekat Buah Lerak (g)
1	98,9532	120,1510	21,1978
2	89,8344	110,8255	20,9911
3	101,1385	122,5605	21,4220

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen 1} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{21,1978 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 70,6593\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen 2} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{20,9911 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 69,9703\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen 3} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{21,4220 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 71,4067\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata rendemen ekstrak etanol buah lerak} &= \frac{70,6593\% + 69,9703\% + 71,4067\%}{3} \\
 &= 70,6788\%
 \end{aligned}$$

L. 5.1.2 Ekstrak Etil Asetat

Ulangan	Botol Vial 100 mL Kosong (g)	Botol Vial 100 mL + sampel (g)	Berat Ekstrak Pekat Buah Lerak (g)
1	100,8323	101,6498	0,8175
2	98,9532	99,8665	0,9133
3	88,9557	90,157	1,2013
Rendemen 1	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{0,8175 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 2,725\%$		
Rendemen 2	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{0,9133 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 3,0443\%$		
Rendemen 3	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{1,2013 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 4,0043\%$		
Rata-rata rendemen ekstrak etil asetat buah lerak = $\frac{2,725\% + 3,0443\% + 4,0043\%}{3}$ $= 3,2579\%$			

L. 5.1.3 Ekstrak n-Heksana

Ulangan	Botol Vial 100 mL Kosong (g)	Botol Vial 100 mL + sampel (g)	Berat Ekstrak Pekat Buah Lerak (g)
1	91,6083	91,6696	0,0613
2	93,2803	93,3452	0,0649
3	92,2381	92,3023	0,0642
Rendemen 1	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{0,0613 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 0,2043 \%$		
Rendemen 2	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{0,0649 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 0,2163 \%$		
Rendemen 3	$= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$ $= \frac{0,0642 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 0,2140 \%$		
$\text{Rata-rata rendemen ekstrak n-heksana buah lerak} = \frac{0,2043\% + 0,2163\% + 0,2140\%}{3}$ $= 0,2116\%$			

L.5.2 Rata-Rata Zona Hambat

L.5.2.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lerak terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	3,7	3,65	3,9	3,75
50%	2,3	2,8	2,6	2,57
25%	1,6	1,3	1,8	1,57
12,5%	1,25	1,05	1	1,1

L. 5.2.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Buah lerak terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	17,8	15,3	13,5	15,53
50%	12,9	7,7	10,65	10,42
25%	6,3	3,75	4,9	4,98
12,5%	2,3	2,8	2,8	2,63

L.5.2.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Buah lerak terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	4,8	5,1	2,8	4,23

L.5.2.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kontrol terhadap bakteri *Escherichia coli*

Kontrol	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
Positif (12,5%)	14,15	13,8	14,7	14,22
Negatif	0	0	0	0
Pelarut Etanol	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	0	0	0	0
Pelarut n-Heksana	0	0	0	0

L.5.2.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lerak terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	5,85	6,9	7,6	6,78
50%	3,65	4,2	6,5	4,78
25%	2,7	2,1	2,8	2,53
12,5%	1,15	1,2	1,2	1,18

L.5.2.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	14,55	14,4	13,4	14,12
50%	9,95	9,3	9,4	9,55
25%	7,55	5,8	5,55	6,30
12,5%	5,6	3,95	4,7	4,75

L.5.2.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana Buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
100%	3,85	3,4	2,9	3,38

L.5.2.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kontrol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Kontrol	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	U1	U2	U3	
Positif (12,5%)	20,15	19,95	18,9	19,67
Negatif	0	0	0	0
Pelarut Etanol	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	0	0	0	0
Pelarut n-Heksana	0	0	0	0

L.5.3 Hasil Uji Statistik ANOVA

L.5.3.1 Uji ANOVA terhadap *Staphylococcus aureus*

L.5.3.1.1 Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Zona Hambat	Jenis Pelarut	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Etanol	.219	3	.	.987	3	.780
	Etil Asetat	.341	3	.	.846	3	.230
	n-Heksana	.181	3	.	.999	3	.942

a. Lilliefors Significance Correction

L.5.3.1.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona Hambat	Based on Mean	.646	2	6	.557
	Based on Median	.266	2	6	.775
	Based on Median and with adjusted df	.266	2	4.950	.777
	Based on trimmed mean	.614	2	6	.572

L.5.3.1.3 Uji One Way ANOVA

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	180.542	2	90.271	194.480	.000
Within Groups	2.785	6	.464		
Total	183.327	8			

L.5.3.1.4 Uji Lanjut

Zona Hambat

Tukey

		Subset for alpha = 0.05		
Jenis Pelarut	N	1	2	3
n-Heksana	3	3.3833		
Etanol	3		6.7833	
Etil Asetat	3			14.1167
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

L.5.3.2 Uji ANOVA terhadap *Escherichia coli*

L.5.3.2.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Jenis Pelarut		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona Hambat	Etanol	.219	3	.	.987	3	.780
	Etil Asetat	.210	3	.	.991	3	.821
	n-Heksana	.341	3	.	.846	3	.230

a. Lilliefors Significance Correction

L.5.3.2.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona Hambat	Based on Mean	3.220	2	6	.112
	Based on Median	1.448	2	6	.307
	Based on Median and with adjusted df	1.448	2	3.895	.339
	Based on trimmed mean	3.087	2	6	.120

L.5.3.2.3 Uji One Way ANOVA

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	266.362	2	133.181	64.004	.000
Within Groups	12.485	6	2.081		
Total	278.847	8			

L.5.3.2.4 Uji Lanjut

Zona Hambat

Tukey

Jenis Pelarut	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Etanol	3	3.7667	
n-Heksana	3	4.2333	
Etil Asetat	3		15.5333
Sig.		.918	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 6: Dokumentasi Penelitian

L.6.1 Dokumentasi Kegiatan

L.6.1.1 Preparasi Sampel



Pemisahan biji dari buah lerak



Buah Lerak Kering



Serbuk Buah Lerak

L.6.1.2 Ekstraksi dengan Pelarut Etanol



Penimbangan sampel



Penambahan pelarut



Proses ekstraksi sonikasi



Penyaringan dengan Buchner



Proses *rotary evaporator*



Hasil ekstrak setelah *rotary evaporator*

L.6.1.3 Ekstraksi dengan Pelarut Etil Asetat



Penimbangan sampel



Penambahan pelarut



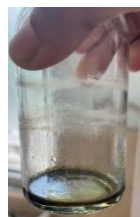
Proses ekstraksi sonikasi



Penyaringan dengan corong Buchner



Proses *rotary evaporator*



Hasil *rotary evaporator*

L.6.1.4 Ekstraksi dengan Pelarut n-Heksana



Penimbangan sampel



Penambahan pelarut



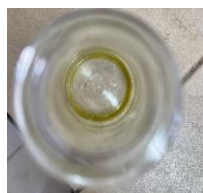
Proses ekstraksi sonikasi



Penyaringan dengan corong Buchner



Proses *rotary evaporator*

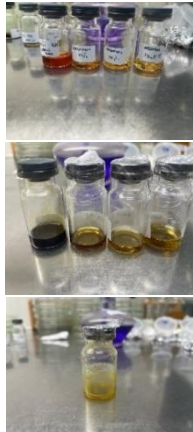


Hasil *rotary evaporator*

L.6.1.5 Uji Antibakteri



Sterilisasi alat
dan bahan



Pembuatan
konsentrasi



Peremajaan
bakteri



Hasil Peremajaan
Bakteri



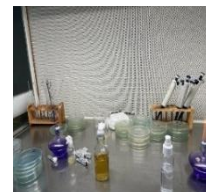
Pembuatan
Inokulum Bakteri
dan Inkubasi



Inokulum
Kerja



Penentuan OD
Inokulum Bakteri



Proses Uji
Antibakteri



Inkubasi
Antibakteri

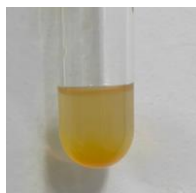


Pengukuran
Zona Hambat

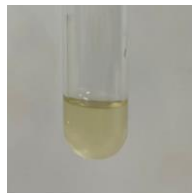
L.6.2 Dokumentasi Hasil Kegiatan

L.6.2.1 Hasil Uji Fitokimia

L.6.2.1.1 Ekstrak Etanol Buah Lerak



Alkaloid
(Dragendroff) (+)



Alkaloid (Mayer) (+)



Flavonoid(+)



Saponin(+)



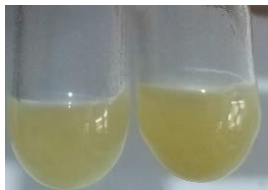
Tanin(+)



Fenol(+)

Steroid(-)
/Triterpenoid(+)

L.6.2.1.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Buah Lerak

Alkaloid
(Dragendroff) (-)

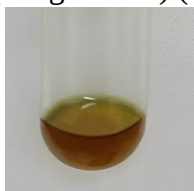
Alkaloid (Mayer) (-)



Flavonoid(+)



Saponin(-)



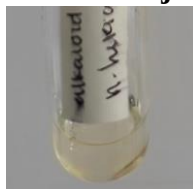
Tanin(+)



Fenol(+)

Steroid(-)
/Triterpenoid(+)

L.6.2.1.3 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak n-Heksana Buah Lerak

Alkaloid (Dragendroff)
(-)Alkaloid
(Mayer)(-)

Flavonoid(-)



Saponin(-)



Tanin(+)

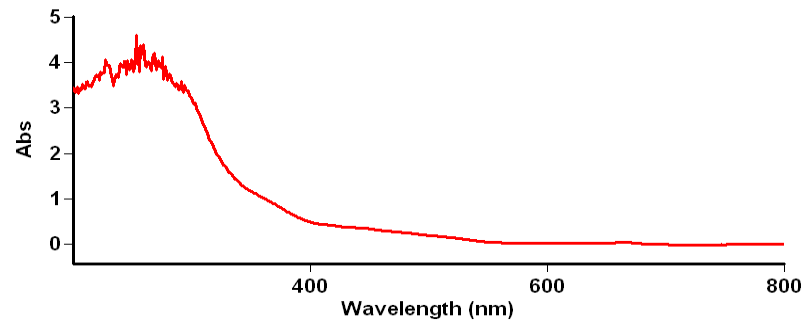


Fenol(+)

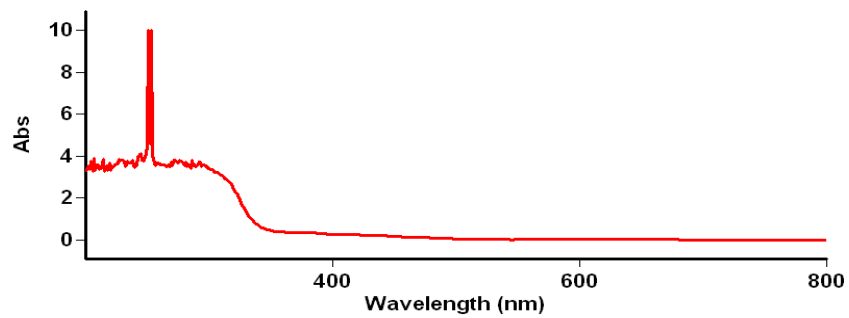
Steroid(-)
/Triterpenoid(+)

L.6.2.2 Hasil Spektrofotometer UV-Vis

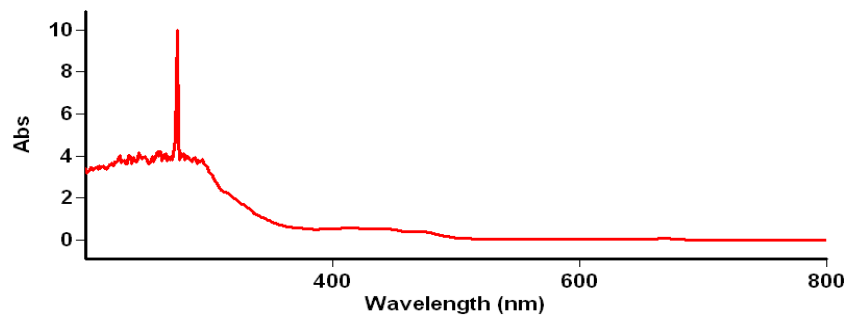
L.6.2.2.1 Ekstrak Etanol Buah Lerak



L.6.2.2.1 Ekstrak Etil Asetat Buah Lerak

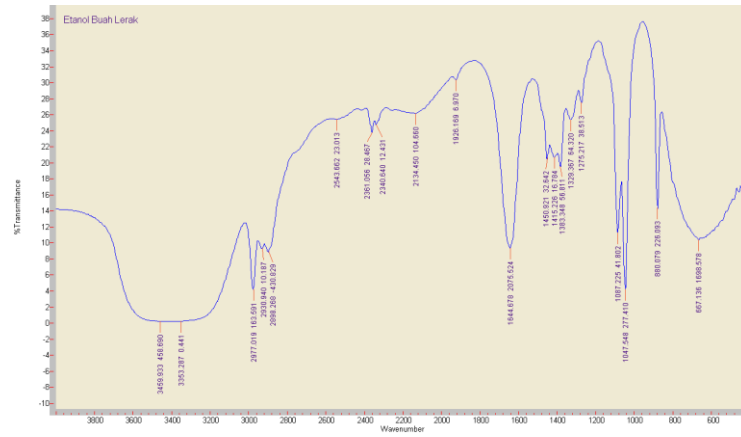


L.6.2.2.1 Ekstrak n-Heksana Buah Lerak

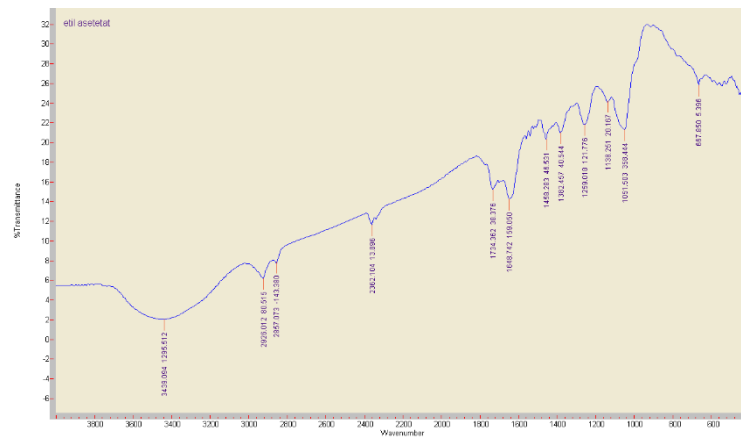


L.6.2.3. Hasil Spektrofotometer FTIR

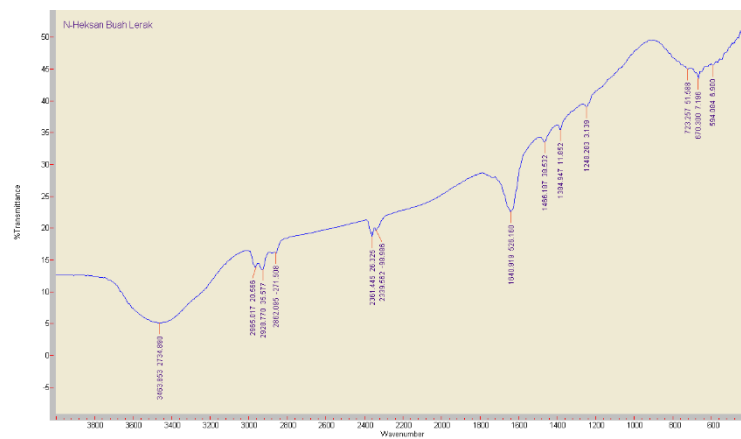
L.6.2.3.1 Ekstrak Etanol Buah Lerak



L.6.2.3.3 Ekstrak Etil Asetat Buah Lerak

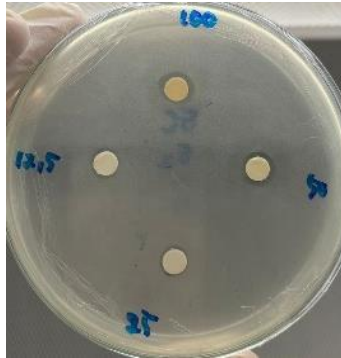


L.6.2.3.3 Ekstrak n-Heksana Buah Lerak

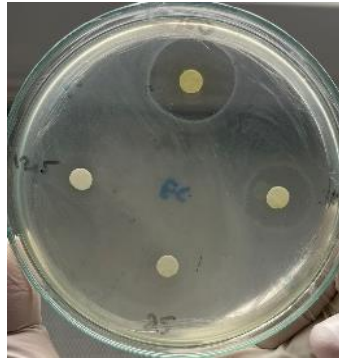


L.6.2.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

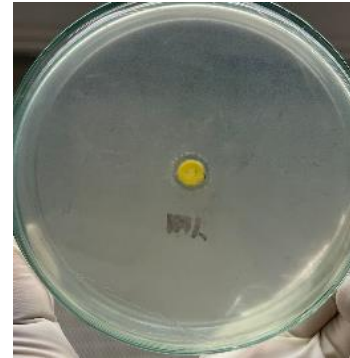
L.6.2.4.1 Bakteri *Escherichia coli*



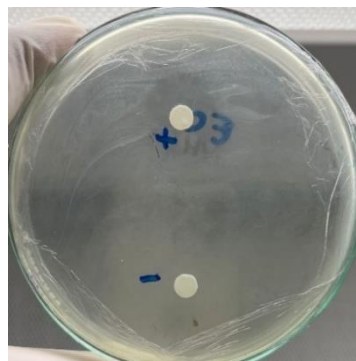
Ekstrak Etanol



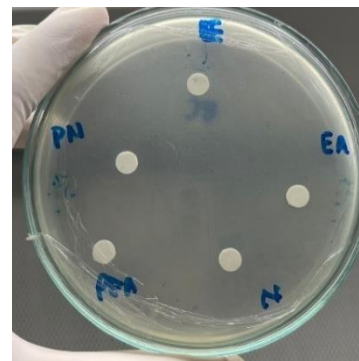
Ekstrak Etil Asetat



Ekstrak n-Heksana

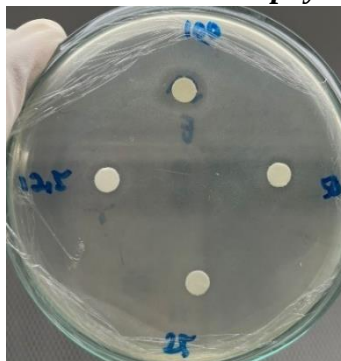


Kontrol Positif dan Negatif

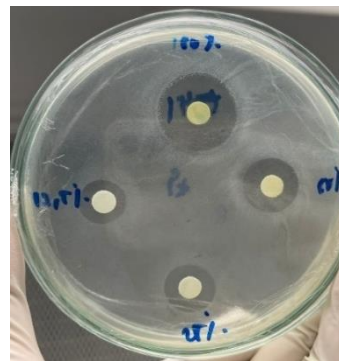


Kontrol Pelarut

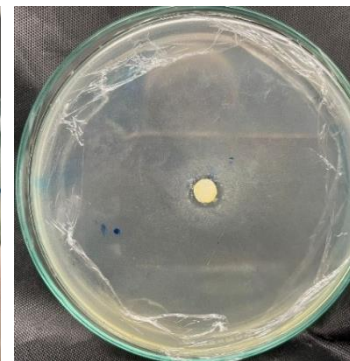
L.6.2.4.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*



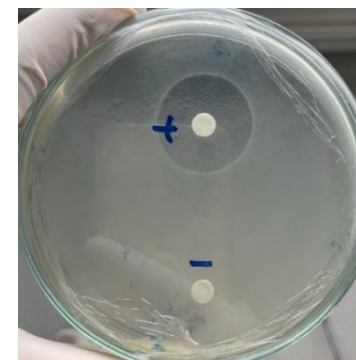
Ekstrak Etanol



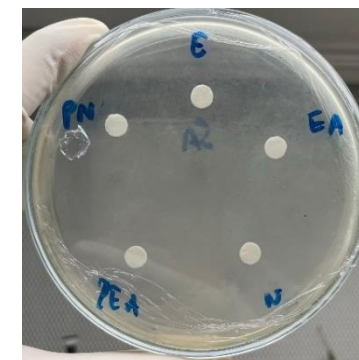
Ekstrak Etil Asetat



Ekstrak n-Heksana



Kontrol Positif dan Negatif



Kontrol Pelarut