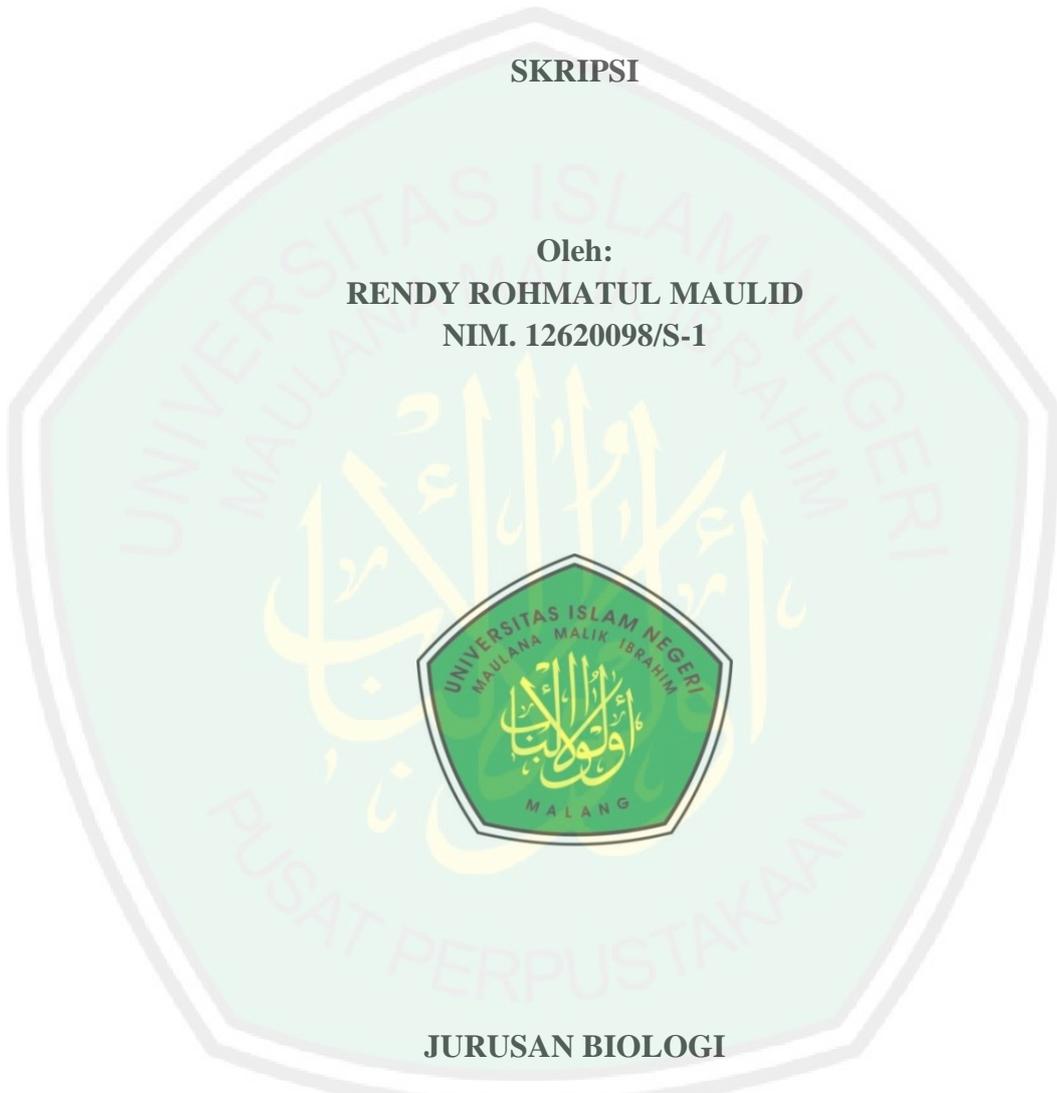


**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PATIKAN KEBO
(*Euphorbia hirta*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan
Staphylococcus aureus DENGAN PELARUT YANG BERBEDA
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
RENDY ROHMATUL MAULID
NIM. 12620098/S-1



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK

IBRAHIM MALANG

2016

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PATIKAN KEBO
(*Euphorbia hirta*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan
Staphylococcus aureus DENGAN PELARUT YANG BERBEDA
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

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)

Oleh:

RENDY ROHMATUL MAULID

NIM. 12620098/S-1

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK

IBRAHIM MALANG

2016

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PATIKAN KEBO
(*Euphorbia hirta*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan
Staphylococcus aureus DENGAN PELARUT YANG BERBEDA
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
RENDY ROHMATUL MAULID
NIM. 12620098/S-1

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I



drg. Risma Aprinda K, M. Si
NIP. 197109192000032001

Pembimbing II



Mujahidin Ahmad M.Sc
NIPT. 2013 0902 1313

Tanggal, Desember 2016

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi




Dr. Evika Sandi Savitri, MP
NIP. 197410182003122002

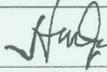
**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PATIKAN KEBO
(*Euphorbia hirta*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan
Staphylococcus aureus DENGAN PELARUT YANG BERBEDA
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:
RENDY ROHMATUL MAULID
NIM. 12620098/S-1

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

Tanggal:

Penguji Utama :	Ir. Liliek Haranie, M. P NIP. 19620901 199803 2 01	
Ketua Penguji :	Anik Maunatin, M.P. NIPT. 2014 1201 2412	
Sekretaris Penguji :	drg. Risma Aprinda K, M. Sf NIP. 19710919 200003 2001	
Anggota Penguji :	Mujahidin Ahmad, M.Sc NIPT. 2013 0902 1313	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, MP
NIP. 197410182003122002


PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rendy Rohmatul Maulid
NIM : 12620098
Fakultas/Jurusan : Biologi/Sains dan Teknologi
Judul penelitian : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Pelarut yang berbeda Secara In Vitro

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

Malang, Desember 2016

Yang membuat pernyataan,



Rendy Rohmatul Maulid

NIM. 12620098

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah ﷻ yang telah memberikan taufik dan hidayahnya, sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Shalawat dan salam semoga selalu terlimpah curahkan kepada baginda alam yakni Nabi Muhammad ﷺ

Terima kasih saya sampaikan kepada ibu saya Wahyu Dian Retno Kristanti dan bapak saya Endi Siswiyanto yang telah mendidik dan membimbing saya, selalu sabar dalam mendidik dan mengurus saya dari mulai baru lahir sampai dewasa seperti sekarang ini. Ucapan terima kasih ini tak ada bandingnya sedikitpun dengan jasa yang telah ibu dan bapak berikan kepada saya tapi saya yakin Allah ﷻ akan menempatkan ibu dan bapak di tempat yang sangat mulia, dan mudah-mudahan kita bisa bersama-sama masuk dalam Surga Allah ﷻ

Dan tak lupa saya ucapkan terima kasih kepada nenek saya Eny Krismarijah dan kakek saya Alm. Sutrisno yang selalu memberikan kasih sayang kepada saya dan selalu membantu ketika berada dalam kesulitan, semoga taufik dan hidayah selalu menyertinya. Amiin.

Kedua adik perempuan saya Adinda Rizqy Kusuma Dewi dan Tarisa Endah Yolanda, semoga selalu berbakti kepada kakak dan kedua orang tuanya, dan juga menjadi sukses dan berhasil kedepannya.

Tak lupa juga saya sampaikan terima kasih banyak kepada guru-guru saya dari mulai TK, SD sampai jenjang sarjana semoga Allah ﷻ membalas semua jasa ibu bapak guru semuanya Amiin. Dan mudah-mudahan semua guru-guru saya yang sudah wafat diampuni segala dosanya dan ditempatkan di tempat yang paling mulia serta mendapatkan ridho dan syurga Allah ﷻ, Amiin.

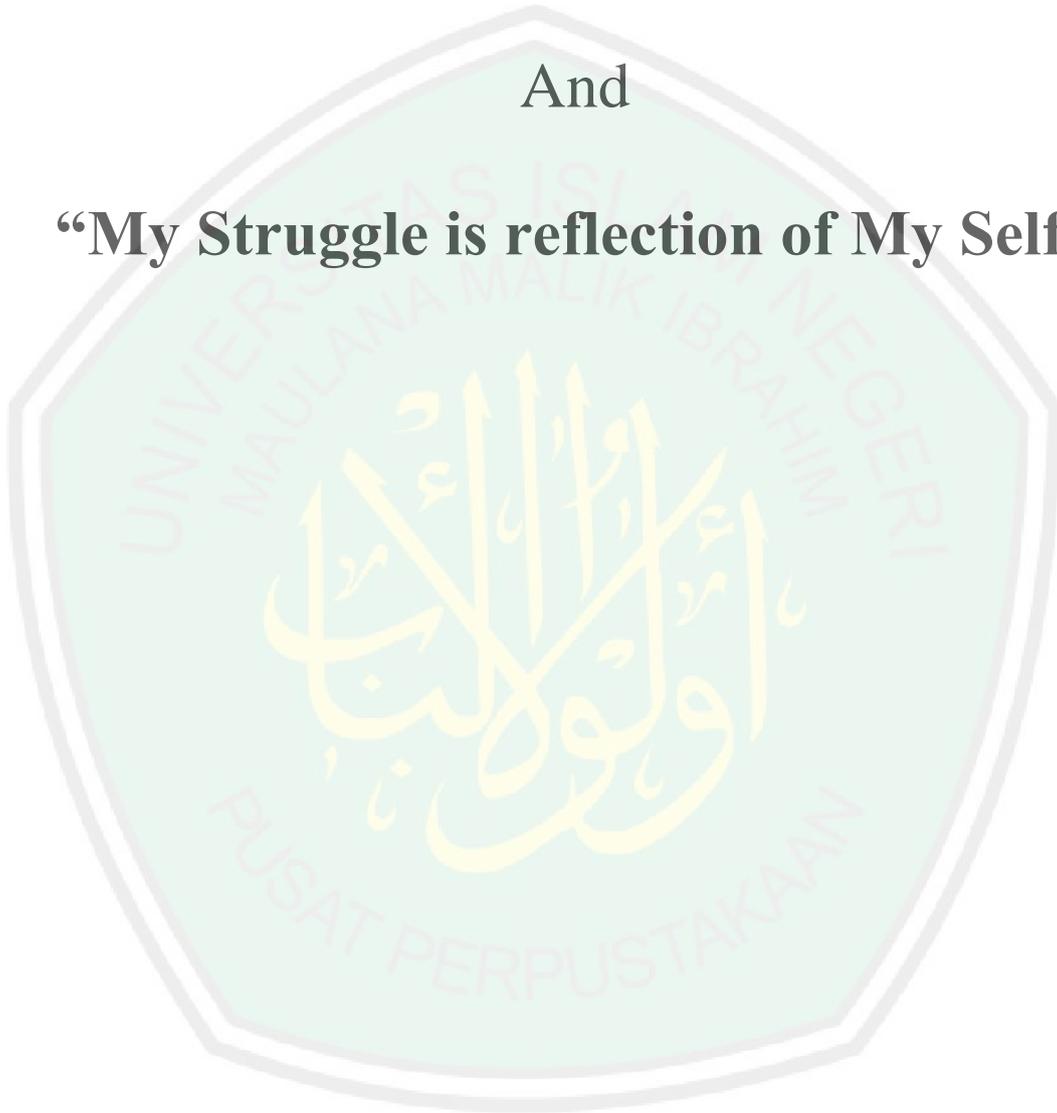
Teman-teman semua KBMB 2012, Biologi 2012 yang selalu bersama dalam suka dan duka, teman-teman Biologi 2014 yang selalu menyemangati saya dan temen seperjuangan Agus Suroto, H. Minhaju Dikri Anik dan temen-temen yang lain yang tak bisa saya sebutkan semuanya, semoga kita menjadi orang sukses dunia akhirat dan dapat bermanfaat bagi agama, nusa dan bangsa Amiin yaa Robbal 'Alamiin.

MOTTO

“My life is My Struggle”

And

“My Struggle is reflection of My Self”



KATA PENGANTAR



Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah ﷻ yang telah memberikan nikmat yang sangat melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu sayarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). *Shalawat* serta salam selalu terlimpah curahkan kepada pemimpinj umat islam sedunia yakni Nabi besar Muhammad ﷺ yang telah membimbing umatnya dari zaman kegelapan jahiliyah sampai menjadi terang benderang melalui penyebaran cahaya iman, islam dan ilmu pengetahuan yang hakiki.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dan semangat dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan dan ketulusan hati, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, MP selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. drg. Risma Aprinda Kristanti, M. Si selaku Dosen Pembimbing skripsi dan Anik Maunatin, M.P selaku konsultan yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah memberikan pengarahan dan pelajaran bersubstansi nilai-nilai moral kepada penulis.
6. Azizatur Rohmah, M. Sc selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis baik akademik maupun non akademik dn selalu memberikan motivasi agar penulis tetap semangat dalam menempuh studi di Universitas islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

7. Ayah, ibu, adik, kakek, nenek dan semua keluargaku tercinta yang telah mendidik dan membimbing serta mendampingi dengan penuh kasih sayang dan kesabaran, serta selalu memberikan do'a kepada penulis dalam menuntut ilmu. Semoga rahmat dan karunia Allah ﷻ selalu melindungi mereka dan mendapat keridhoan-nya.
8. Bapak Anis Baswedan sebagai Menteri Pendidikan Republik Indonesia (RI) pada era kepemimpinan Presiden Joko Widodo yang telah memberikan kesempatan penulis mengenyam bangku kuliah melalui Program Beasiswa Bidikmisi.

Akhirnya, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Karena kesempurnaan hanya milik Allah ﷻ. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Amiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.*

Malang, Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
HALAMAN MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan	10
1.4 Hipotesis Penelitian	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah	10
 BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i>)	12
2.1.1 Sistematika dan Klasifikasi Tanaman Patikan Kebo	12
2.1.2 Deskripsi Tanaman Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i>)	13
2.2 Kandungan Senyawa Aktif Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i>)	15
2.3 Bakteri	20
2.3.1 Tinjauan Umum Bakteri	20
2.3.2 Klasifikasi Bakteri	21
2.3.2.1 Berdasarkan Bentuk	21
2.3.2.2 Berdasarkan Pewarnaan Gram	22
2.4 Bakteri Uji	23
2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.4.2 <i>Escherichia coli</i>	24
2.5 Pengobatan Antibiotik	27
2.6 Mekanisme Kerja Antibakteri	28
2.7 Metode Pengujian Antibakteri	34
2.7.1 Metode Dilusi	34
2.7.2 Metode Difusi	34

2.8 Metode Ektaksi senyawa Aktif Daun Patikan Kebo	36
2.8.1 Jenis-jenis Ekstraksi	37
2.8.2 Cara-cara ekstraksi	37
2.8.3 Metode maserasi.....	40
2.9 Uraian Pelarut yang digunakan	45
2.9.1 Pelarut etanol.....	45
2.9.2 Pelarut kloroform	45
2.9.3 Pelarut n-heksan	46
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	47
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	47
3.3 Variabel Penelitian	48
3.3.1 Variabel bebas.....	48
3.3.2 Variabel terikat	48
3.3.3 Variabel terkendali.....	48
3.4 Alat dan Bahan.....	49
3.4.1 Alat.....	49
3.4.2 Bahan	49
3.5 Prosedur Penelitian	49
3.5.1 Persiapan sampel.....	49
3.5.2 Ekstraksi daun patikan kebo dengan metode maserasi	50
3.5.3 Uji efektivitas antibakteri.....	51
3.5.4 Uji KHM dan KBM	52
3.5.5 Perhitungan koloni bakteri	52
3.5.6 Penentuan KHM dan KBM.....	53
3.5.7 Perhitungan Koloni Bakteri secara Drop Plate.....	55
3.5.8 Analisis Data Uji Anti Bakteri.....	56
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak daun patikan kebo terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	57
4.2 Uji konsentrasi KHM dan KBM daun patikan kebo terhadap <i>S.aureus</i> dan <i>E.coli</i>	67
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i>).....	12
Gambar 2.2 Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Gambar 2.3 Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	26
Gambar 2.4 Mekanisme kerja bahan Antimikroba.....	32



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil rerata dan simpang baku zona hambat ekstrak daun patikan kebo terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	58
Tabel 4.2 Kategori rerata diameter penghambatan antibakteri.....	59
Tabel 4.3 Perbedaan hasil uji KHM dan KBM ekstrak daun patikan kebo terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja	82
Lampiran 2. Tabel hasil uji	86
Lampiran 3. Dokumentasi penelitian	89



ABSTRAK

Maulid, Rendy R. 2016. **Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Pelarut Yang Berbeda Secara *In Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: drg. Risma Aprinda Kristanti M.Si dan Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Kata Kunci: *Diare, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Patikan Kebo pelarut organik, anti bakteri, in vitro, zona hambat, KHM, KBM*

Penyakit diare pada setiap tahunnya mengalami peningkatan. Kasus diare di Indonesia paling sering disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Salah satu tumbuhan yang terkenal dapat menyembuhkan masalah diare adalah patikan kebo (*Euphorbia hirta*). Daun Patikan Kebo megandung senyawa aktif fenol, flavonoid, tannin, saponin, dan minyak atsiri yang diketahui berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Perbedaan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah bertujuan untuk mengetahui pelarut terbaik yang dapat menarik senyawa aktif dalam jumlah banyak sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* berdasarkan jenis pelarut yang berbeda dan mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun patika kebo (*Euphorbia hirta*) dalam beberapa pelarut yang berbeda terhadap aktivitas bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Penelitian ini menggunakan penelitian experimental laboratorik. Ekstraksi daun patikan kebo menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksana p.a. Uji zona hambat menggunakan konsentrasi 500 mg/ml. Kemudian dihitung konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan konsentrasi 3,9 mg/ml, 7,8 mg/ml, 15,6 mg/ml, 31,25 mg/ml, 62,5 mg/ml, 125 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml, 1000 mg/ml, dan 0 mg/ml

Hasil zona pada masing-masing perlakuan dari yang terbesar sampai terkecil secara berurutan adalah untuk bakteri *S. aureus*; Kloramfenikol 31,17 mm, patikan kebo etanol 12,94 mm, kloroform 8,72 mm, n-heksan 4,95 mm. Sedangkan untuk uji bakteri *E. coli*; kloramfenikol 25,83 mm, n-heksan 11,85 mm, kloroform 6,05 mm, etanol 7,42 mm. Hasil uji KHM dan KBM pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* adalah untuk nilai KHM terdapat pada masing-masing ekstrak patikan kebo konsentrasi 250 mg/ml, dan untuk nilai KBM pada konsentrasi 500 mg/ml.

ABSTRACT

Maulid, Rendy R. 2016. **Effectiveness Patikan Kebo Leaf Extract Antibacteria (*Euphorbia hirta*) to *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherichia coli* with Different solvents In Vitro**. Thesis. Biology Department. Faculty of Science and Technology. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor: drg. Risma Aprinda Kristanti M.Si and Mujahidin Ahmad, S.Pt, M.Si, M.Sc.

Keywords: *Diare, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, patikan kebo, organic solvents, anti bacteria, in vitro, inhibition zone, MIC, MBC*

Diarrheal diseases have been increased every year. The cases of diarrhea in Indonesia mostly caused by *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherichia coli*. One of the plants which known can help to heal diarrheal is Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*). Patikan kebo leaf contains of active compound of fenol, flavonoid, tannin, saponin, and volatile oil which function as antibacterial compound. Different solvent which is used in this research is to know the best solvent that can collect active compound in large quantities, so it can hamper the growth of bacterial. The purpose of this research is to know the influence of patikan kebo leaf extract (*Euphorbia hirta*) to the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacterial based on the types of different solvent and know the minimum of inhibitory concentration value patikan kebo leaf extract (*Euphorbia hirta*) in some different solvents to the *E.coli* dan *S.aureus* bacterial activity.

This research uses experimental research laboratory. Patikan kebo leaf extraction is using maceration method with ethanol p.a, kloroform p.a, and n-heksana p.a. Test of inhibition zone using 500 mg/ml concentration. Then calculated by using the Minimum Inhibitory Concentration and the Minimum Bacterisidal Concentration with a concentration of 3,9 mg/ml, 7,8 mg/ml, 15,6 mg/ml, 31,25 mg/ml, 62,5 mg/ml, 125 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml, 1000 mg/ml and 0 mg/ml. Each treatment was conducted three times repetition.

Results zones in each treatment from the largest to the smallest sequence is for *S. aureus* bacteria ; chloramphenicol ; 31,17 mm, patikan kebo ethanol 12,94 , chloroform 8,72 mm, n-hexane 4,95 mm. As for the test of *E. coli* ; chloramphenicol 25,83 mm, patikan kebo n-hexane 11,85 mm, chloroform 6,05 mm, patikan kebo ethanol 7,42 mm. The result of the Minimum Inhibitory Concentration and the Minimum Bacterisidal Concentration on bacterium *S. aureus* and *E. coli* is for Minimum Inhibitory Concentration contained in each of Patikan Kebo leaf extract concentration of 250 mg/ml, and for the value of the Minimum Bactericidal Concentration at of 500 mg/ml concentration.

مستخلص البحث

عانق.منهاج ذ.2016. اختبار تأثير مضاد بكتيريا في خلاصة أوراق الجوافة (بسيديوم جواجافا) إلى بكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس و أيشيريا قالي بمذيب مختلف بطريقة في الأنبوب. البحث الجامعي. قسم علم الحياة كآلية العلوم و التكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. تحت الإشراف: drg. رسما أبردنا الماجستير و مجاهدين أحمد الماجستير.

الكلمة الإشارية : الإسهال, ستايلوقاقوس أوربوس , أيشيريا قالي , الجوافة , مذيب عضويّ , مضاد

بكتيريا, في الأنبوب , منطقة محاصرة , التركيز الشببي الأدي(KHM) , التركيز القتلي الأدي (KBM)

كان الإسهال يرتفع ارتفاعا مستمرًا كل سنة. كان معظمه في إندونيسيا يسببه بكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس و أيشيريا قالي . و من النباتات التي تستطيع أن تداويه هي الجوافة (بسيديوم جواجافا). أوراق الجوافة تحتوي على المركب الفاعليّ فينول و فلافونويد و حمض التانيك و صابونين و زيتٌ مُتطاير التي تعرف كمضاد بكتيريا. اختلاف المذيب الذي يستعمل في هذا البحث يهدف لمعرفة أحسن المذيب الذي يستطيع أن يجرّ المركب الفاعليّ في عدد كثيرة حتى يستطيع أن يعوق نموّ بكتيريا. أما هدف البحث هو معرفة تأثير خلاصة أوراق الجوافة (بسيديوم جواجافا) إلى نموّ بكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس و أيشيريا قالي تأسيسا على جنس المذيب الذي يستعمل و على معرفة قيمة التركيز الشببي الأدي و التركيز القتلي الأدي لخلاصة أوراق الجوافة (بسيديوم جواجافا) في مذيبات مختلفات إلى عملية بكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس و أيشيريا قالي .

البحث هو تجرية الكمي وصفي . خلاصة أوراق الجوافة يستعمل طريقة التّعطن بمذيب ethanol p.a , kloroform p.a و heksana p.a. اختبار منطقة محاصرة يستعمل تركيز 50%. ثمّ يحسب التركيز الشببي الأدي و التركيز القتلي الأدي بتركيز 3.9 mg/ml و 7.8 mg/ml و 15.6 mg/ml و 31.25 mg/ml و 62.5 mg/ml و 125 mg/ml و 250 mg/ml و 500 mg/ml و 1.000 mg/ml و 0 mg/ml. كلّ التّعامل يعمل ثلاث مرّة.

نتيجة المنطقة في كلّ التّعامل من الأعلى إلى الأدي ترتيبا لبكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس هي:

kloramfenikol; 31,17 mm ethanol, 12,94 mm kloroform الجوافة, 8,72 mm, n-heksan

الجوافة kloramfenikol; 25,83 mm, n-heksan 11,85 mm, أما لاختبار بكتيريا أيشيريا قالي. 4,95

و التركيز (KHM) نتيجة اختبار التركيز الشببي الأدي . kloroform 6,05 mm , ethanol 7,42 mm.

توجد في كل خلاصة (KHM) في بكتيريا ستايلوقاقوس أوربوس و أيشيريا قالي هي: لقيمة KBM القتلي الأدي (

500 mg/ml في تركيز KBM و لقيمة 250 mg/ml الجوافة بتركيز

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit diare masih menjadi masalah global dengan jumlah prevalensi dan kematian yang tinggi di berbagai negara terutama di negara berkembang. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dengan angka kejadian penyakit diare yang tinggi karena tingginya morbiditas dan mortalitas. Diare merupakan salah satu penyebab utama kematian terutama pada anak-anak. Sekitar 10% kejadian diare pada anak berusia di bawah lima tahun (balita) di seluruh dunia merupakan diare berdarah atau disentri (Hardi, dkk, 2012).

Angka kejadian diare pada anak di dunia mencapai 1 miliar kasus tiap tahun, dengan korban meninggal sekitar 4 juta jiwa. Angka kematian balita di negara Indonesia akibat diare sekitar 2,8 juta setiap tahun (Depkes RI, 2011). Provinsi Jawa Timur merupakan daerah kedua dengan sebaran frekuensi Kejadian Luar Biasa (KLB) terbesar di Indonesia 1 setelah Sulawesi Tengah (Depkes RI, 2011). Menurut Hardi (2012) kasus diare di Indonesia lebih sering disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang hidup secara saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur dan termasuk dalam bakteri fakultatif anaerob. Dalam jumlah 10^5 CFU/ml bakteri *S. aureus* berpotensi untuk menghasilkan toksin (Pelczar dan Chan, 2005).

Escherichia coli merupakan jenis bakteri yang hidup di dalam usus manusia. Bakteri ini dalam keadaan normal membantu proses pembusukan sisa-sisa makanan sehingga dapat dikeluarkan menjadi feses. Bakteri ini adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan merupakan salah satu bakteri aerob atau fakultatif anaerob. Bakteri *E. coli* dalam jumlah 10^6 CFU/ml berpotensi menyebabkan toksik (Pelczar dan Chan, 2005).

Staphylococcus aureus dan *E. coli* merupakan kuman oportunitis yang banyak ditemukan di dalam usus besar sebagai flora normal. Bakteri tersebut hanya menjadi patogen bila berada di luar jaringan usus yang normal atau di tempat yang jarang terdapat flora normal dan jumlahnya meningkat (Irianto, 2002). Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat menyebabkan diare melalui mekanisme: 1) penempelan bakteri pada sel epitel yang menyebabkan kerusakan mukosa; 2) invasi mukosa; 3) produksi enterotoksin atau sitotoksin. Suatu bakteri dapat menggunakan satu atau lebih dari mekanisme tersebut untuk merusak pertahanan mukosa usus (Zein, 2004).

Menurut Ganiswarna (2003) penanganan medis terhadap diare adalah dengan mengkonsumsi obat yang mengandung antibiotik yang tepat dan penanganan antiseptik secara benar. Namun, penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menimbulkan masalah baru bagi kesehatan seperti gangguan fungsi hati, penurunan jumlah sel darah putih, timbulnya alergi, dan dapat menimbulkan resistensi sehingga pengobatan penyakit memerlukan dosis antibiotik yang lebih tinggi. Oleh karena itu, penelitian antibakteri baru yang lebih efektif dan aman perlu dilakukan, terutama yang berasal dari bahan alam, diantaranya yaitu dengan memanfaatkan tumbuhan-tumbuhan yang ada disekitar kita sebagai obat.

Salah satu cara pengendalian terhadap jumlah bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang lebih tinggi dari keadaan normal dapat dilakukan dengan menggunakan tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri alami sehingga diharapkan dapat menekan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pemanfaatan tanaman yang mengandung zat antibakteri dikarenakan bahan alaminya tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya seperti pada antibiotik, dan cara mendapatkannya lebih mudah karena banyak ditemukan di lingkungan sekitar.

Sebenarnya segala macam penyakit itu pasti ada obatnya, sebagaimana sebuah hadits yang disampaikan oleh Rasulullah ﷺ berikut.

شَفَاءٌ لَهُ أَنْزَلَ إِلَّا دَاءَ اللَّهِ أَنْزَلَ مَا

Artinya: " Tidaklah Allah menurunkan penyakit, kecuali menurunkan pula obatnya" (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453 disahihkan dalam al-Musnad).

Hadits diatas menunjukkan bahwa semua penyakit yang menimpa manusia selalu ada obatnya. Pada kenyataannya ada orang yang langsung bisa menemukan obatnya, ada juga orang yang belum bisa menemukannya. Oleh karena itu seseorang harus bersabar untuk selalu berobat dan terus berusaha untuk mencari obat ketika orang tersebut sedang sakit. Usaha yang dapat dilakukan oleh manusia untuk bisa sembuh bisa melalui dua cara yaitu yang pertama dengan cara berdzikir, beristighfar, dan berdo'a kepada Allah ﷻ, sedangkan yang kedua yaitu berobat ke dokter atau mencari obat alternatif . Nabi Muhammad ﷺ mengajarkan kepada umatnya dalam metode pengobatan untuk memadukan antara kedokteran insani dan kedokteran ilahi, antara kedokteran badan dan kedokteran ruh, antara pengobatan bumi dan pengobatan langit (Al-Jawziyah, 1992).

Seperti diketahui, kekayaan jenis tumbuhan di Indonesia sangat berlimpah, termasuk di dalamnya adalah jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat dan sangat potensial untuk dikembangkan. Berdasarkan hasil penelitian hanya 20-22% tumbuhan obat tersebut yang telah dibudidayakan padahal potensi tumbuhan obat di Indonesia tinggi dan sangat bermanfaat dari segi nominal, sosial budaya maupun lingkungan (Kementerian Kehutanan Republik Indonesia, 2010).

Kekayaan alam Indonesia merupakan suatu anugerah besar yang diberikan Allah ﷻ kepada manusia dan wajib untuk disyukuri. Salah satu cara mensyukurinya adalah dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat. Allah ﷻ berfirman dalam surah As-Syu'ara ayat 7 -9 sebagai berikut.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً ۖ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ وَإِنَّ رَبَّكَ لَهُوَ الْعَزِيزُ الرَّحِيمُ

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman. Dan Sesungguhnya Tuhanmu benar-benar Dialah yang Maha Perkasa lagi Maha Penyayang” (QS. Asyu'ara: 7-9).

Di dalam tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah ﷻ menciptakan segala sesuatu dimuka bumi ini tidak ada yang sia-sia, termasuk menciptakan berbagai macam jenis tumbuhan. Manusia sebagai makhluk yang sempurna yang telah diberi akal oleh Allah ﷻ dan dianjurkan untuk selalu memikirkan, mengkaji, dan meneliti potensi yang ada pada setiap hasil penciptaan tersebut, sehingga hasil dari penelitiannya dapat bermanfaat bagi orang banyak. Lafadz “زوج كريم” memiliki makna tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan

sebagai tumbuhan yang memiliki banyak manfaat karena didalamnya banyak mengandung senyawa-senyawa kimia yang bermanfaat bagi tubuh. Kandungan senyawa aktif yang ada di dalam tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk obat dari suatu penyakit yang menimpa manusia (Ar-Rifai, 2000).

Ayat diatas menunjukkan kekuasaan Allah ﷻ dalam menciptakan berbagai macam jenis tumbuhan yang dalam penciptaannya tidaklah sia-sia tetapi banyak mengandung manfaat yang berguna bagi kehidupan manusia. Manfaat yang terkandung dalam berbagai macam tumbuhan yang diciptakan Allah ﷻ di bumi ini hanya dapat diketahui oleh orang –orang yang berakal (ulul albab) sehingga selalu bertafakkur terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ .

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia akhir-akhir ini meningkat, bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara pabrikasi dalam skala besar. Penggunaan obat tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan kimia, disamping itu harganya lebih terjangkau. Selain itu keuntungan lain penggunaan obat tradisional adalah bahan bakunya mudah diperoleh dan tingkat toksisitasnya jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat-obatan kimia. Beberapa tumbuhan telah dipergunakan oleh masyarakat dan telah dibuktikan khasiat farmakologisnya sebagai antidiare. Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat adalah Patikan kebo (*Euphorbia hirta*) (Bernasconi, 1995).

Keberadaan tumbuhan patikan kebo di alam masih kurang mendapat perhatian dari masyarakat untuk dimanfaatkan dengan baik. Meskipun termasuk jenis tumbuhan liar, tumbuhan tersebut juga berpotensi untuk dijadikan sebagai tumbuhan obat. Tumbuhan tersebut telah dipercaya dapat mengobati berbagai

penyakit, seperti disentri amoeba, diare, asma, bronchitis, demam dan penyakit pada alat genital (Cowen *et al*, 2000).

Kemampuan tumbuhan patikan kebo dalam mengobati berbagai macam penyakit ini karena terdapat senyawa-senyawa kimia di dalamnya seperti kandungan tanin, flavonoid (terutama *quercitrin* dan *myricitrin*), dan triterpenoid (terutama *taraxerone* dan $11\alpha, 12 \alpha$ -*oxidotaraxerol*) (Dewanjee. 2008). Selain itu, terdapat pula kandungan senyawa aktif lainnya, seperti alkaloida dan polifenol (Davis & Stout, 1971).

Penelitian mengenai daya antibakteri dari ekstrak tumbuhan Patikan Kebo terhadap pertumbuhan bakteri telah banyak dilakukan. Hasil penelitian Ogbulie *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ekstrak daun patikan kebo dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 mg/ml dan yang paling efektif pada konsentrasi 100 mg/ml. Penelitian serupa menunjukkan bahwa ekstrak *Euphorbia hirta* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dengan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) sebesar 2 mg/ml (Dewi, F.K. 2010).

Peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu sebanding dengan zona hambat yang dihasilkan. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Sofiani (2014) yang meneliti zona hambat ekstrak daun patikan kebo dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 50% ekstrak patikan kebo lebih luas zona hambatnya dibandingkan dengan konsentrasi 75%. Ada beberapa faktor yang menyebabkan hal tersebut terjadi diantaranya adalah konsentrasi ekstrak daun patikan kebo tersebut merupakan konsentrasi yang optimum untuk menghambat

pertumbuhan bakteri yang diuji. Penurunan zona hambat pada konsentrasi yang tinggi diduga karena pola antibakteri yang *time dependent killing*, yaitu pola antibakteri yang akan menghasilkan daya bunuh maksimal terhadap kuman di atas kadar hambat minimal, kadar yang sangat tinggi tidak meningkatkan efektifitas obat untuk mematikan kuman.

Hasil fitokimia ekstrak daun Patikan Kebo menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung tanin, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri (Geidam, 2007). Arya (2012) menganalisis fitokimia daun Patikan Kebo dan hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun Patikan Kebo mengandung senyawa saponin, tanin, steroid, flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid, tannin, glikosida dapat ditarik oleh pelarut yang bersifat polar seperti etanol. Senyawa saponin, terpenoid, alkaloid dapat ditarik oleh pelarut yang bersifat semi polar seperti pelarut kloroform. Senyawa seperti minyak atsiri dapat ditarik oleh pelarut yang bersifat nonpolar (Harborne, 1987).

Potensi kandungan senyawa yang terdapat dalam daun Patikan Kebo yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dapat diketahui dengan proses ekstraksi. Salah satu faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi yaitu jenis pelarut, sehingga dalam penelitian ini digunakan variasi pelarut untuk mengetahui jenis pelarut yang paling baik dan efektif untuk uji antibakteri daun patikan kebo terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pelarut yang digunakan adalah etanol, kloroform, dan n-heksan.

Penelitian Suryanto dan Wehantouw (2009) menunjukkan bahwa etanol mampu menarik metabolit sekunder dalam jumlah yang banyak yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam daun sukun (*Artocarpus altilis* F) dibandingkan

dengan pelarut metanol. Maulana (2016) melakukan perendaman terhadap ekstrak daun Patikan Kebo dengan menggunakan pelarut butanol, kloroform, dan n-heksan, hasil peredaman yang paling besar terdapat pada pelarut golongan alkohol yaitu butanol dengan nilai peredaman 20% dalam konsentrasi 20 ppm.

Menurut penelitian Sigit (2012) menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia terbesar pada tumbuhan Patikan Kebo adalah flavonoid, dan selanjutnya senyawa saponin dan terpenoid. Senyawa flavonoid termasuk golongan senyawa polar. Sedangkan saponin merupakan senyawa semipolar dan terpenoid termasuk senyawa non polar.

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Saponin dapat ditemukan pada fraksi ekstrak metanol dan kloroform. Hal ini sesuai seperti yang dinyatakan Hamdiyati (2008) bahwa saponin larut dalam alkohol dan air dan pelarut semipolar seperti kloroform, namun tidak larut dalam pelarut organik non-polar seperti benzena dan n-heksana.

Senyawa golongan terpenoid umumnya larut dalam lemak, sehingga sangat mungkin bahwa senyawa ini larut dalam pelarut organik seperti n-heksan. Harborne (1996) juga menyatakan bahwa senyawa terpenoid dapat ditemukan pada ekstrak air, etanol, metanol, kloroform dan eter. Hal ini menjelaskan bahwa hasil identifikasi senyawa terpenoid dan steroid menunjukkan hasil positif untuk ekstrak kloroform dan n heksan.

Metode serta pelarut yang digunakan untuk memperoleh ekstrak menjadi faktor penting dalam optimasi proses ekstraksi komponen senyawa aktif dari tanaman patikan kebo. Pelarut akan menembus dinding sel ekstrak daun Patikan

Kebo dan masuk ke dalam rongga sel bakteri yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, kloroform, n-heksan, dan pelarut lainnya. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut: murah dan mudah diperoleh, stabil fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Harborne, 1987).

Dari uraian di atas, peneliti beranggapan bahwa daun Patikan Kebo memiliki kandungan senyawa antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, serta efektivitas senyawa antibakteri dalam daun Patikan Kebo tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam metode ekstraksi, sehingga perlu diteliti lebih lanjut mengenai kemampuan ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) dengan berbagai konsentrasi dalam berbagai pelarut organik yang paling efektif dalam menghambat mikroba uji bakteri *Escherichia coli* dan *S. aureus* yang dilakukan secara *in Vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh jenis variasi pelarut ekstrak daun tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?
2. Berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini antara lain:

1. Variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus*
2. Variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) dapat menghambat dan membunuh bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh yaitu:

1. Memberikan pengetahuan mengenai pengaruh efektivitas variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan pelarut ethanol p.a, kloroform p.a, dan n-heksan p.a.
2. Memberikan solusi alternatif kepada masyarakat dalam mengatasi penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

1.6 Batasan Masalah

Batasan Masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan yang berupa daun Patikan kebo (*Euphorbia hirta*) didapatkan dengan membeli dari *UPT Materia Medika* Batu Malang.

2. Bagian Tanaman Patikan Kebo yang digunakan untuk ekstrak adalah daunnya.
3. Pelarut organik pada proses ekstraksi ini menggunakan etanol p.a (polar), kloroform p.a (semi polar) dan Heksana p.a (non polar).
4. Isolat mikroba yang digunakan ada 2 jenis yaitu *E. coli* (bakteri gram negatif) dan *S. aureus* (bakteri gram positif).
5. Isolat mikroba didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
6. Metode uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan metode konsentrasi bunuh minimum (KBM).



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Patikan kebo (*Euphorbia hirta*)



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman *Euphorbia hirta*

2.1.1 Sistematika dan Klasifikasi Tanaman Patikan kebo (*Euphorbia hirta*)

Sistematika dan klasifikasi tumbuhan Patikan kebo (*Euphorbia hirta*) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Euphorbia</i>
Spesies	: <i>Euphorbia hirta</i> L.

Setiap daerah di Indonesia memiliki kekhasan dalam penyebutan nama patikan kebo, diantaranya kak sekak, Melayu: daun biji kacang, Jakarta: gelang susu, gendong anak, Ternate: isu ma bi dan Tidore, Jawa: Patikan kebo, kukon-kukon, Sunda: nanangkaan, Maluku: sosoonga, Madura: isu gibi. Selain itu,

dibeberapa negara juga memiliki sebutan masing-masing, diantaranya Malaysia: gelang susu, Filipina: gatas-gatas, Cina: Da fei yang cao, India: Amanpat chairisi dan Inggris: Asthma weed

2.1.2 Deskripsi Tanaman Patikan kebo (*Euphorbia hirta*)

Allah ﷻ menciptakan tumbuhan-tumbuhan yang ada di bumi ini beranekaragam dan masing-masing mempunyai karakteristik atau morfologi yang spesifik sehingga bisa dapat dibedakan antara satu tumbuhan dengan tumbuhan lainnya. Sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam surah Al-An'am ayat 99 sebagai berikut.

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

Artinya: Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman (Al-An'am: 99).

Lafadz نبات dalam ayat tersebut menunjukkan makna jama' yakni bermacam-macam tumbuhan yang meliputi berbagai macam bentuk, ciri khas, warna, dan rasa, yang memiliki banyak manfaat yang berbeda-beda. Sementara itu, lafadz انظروا menunjukkan kata perintah yaitu “perhatikanlah”, maksudnya adalah Allah ﷻ memerintahkan kepada manusia untuk selalu memperhatikan macam-macam tumbuhan yang ada di bumi karena dalam tumbuhan tersebut terdapat tanda-tanda

kekuasaan Allah ﷻ. Dalam ayat ini Allah ﷻ menegaskan dalam ayat لايت لقوم يؤمنون , yang menunjukkan bahwa tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ yang ada dalam berbagai macam-macam tumbuhan hanya bisa diketahui, diperhatikan, dan diamati oleh orang-orang yang beriman yakni orang yang memiliki hati yang selalu mengingat Allah ﷻ, selalu berfikir dan memahami tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ (Al-Jazairi, 2008).

Surah diatas tidak secara spesifik menyebutkan tanaman Patikan kebo, tetapi terdapat karakteristik morfologi yang disebutkan oleh ayat tersebut secara *mujmal* (global) yang sesuai dengan ciri-ciri morfologi yang dimiliki oleh tumbuhan Patikan Kebo. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya kata hijau yang dalam ayat ini diredaksikan dengan kalimat خضر , biji-bijian yang banyak “حبا” dan tangkai-tangkai yang menjulang yang dalam ayat ini diredaksikan dengan kalimat قنوان. Kata hijau (خضر) pada ayat tersebut secara morfologi menunjukkan warna daun tumbuhan yang mayoritas berwarna hijau (Al-Mahally, 1990). Ketiga morfologi umum yang disebutkan oleh kedua surah tersebut yakni tumbuhan yang menghijau, biji-bijian, dan memiliki tangkai yang menjuntai sesuai dengan morfologi yang dimiliki oleh tumbuhan Patikan kebo.

Patikan kebo (*Euphorbia hirta* L) merupakan keluarga *Euphorbiaceae*. Ciri tanaman ini mempunyai batang lunak yang mengandung cairan/air hampir seperti pada batang tumbuhan pacar air, perbedaanya batang Patikan Kebo memiliki getah putih yang cukup kental. Seperti pada tumbuhan lainnya, batang Patikan kebo beruas ruas, bulat silinder, berwarna hijau kecoklatan. Bentuk daun seperti pada tumbuhan lainnya berbentuk segitiga, namun pada batang dan daun patikan kerbau, mempunyai bulu putih kecil-kecil yang sangat halus, nampak seperti duri

tajam dan sangat lembut yang seakan-akan untuk melindungi diri dari habitat lainnya, namun itu bukan duri kecil, namun bulu yang ada pada tumbuhan patikan kerbau ini. Daun tumbuhan ini adalah daun tunggal dengan duduk daun saling berseberangan satu daun dengan daun lainnya. Panjang daun berkisar antara 0.5-5 cm (Jawetz, 1995).

Euphorbia hirta atau dikenal sebagai kucing rambut atau gelang susu di Malaysia, tumbuh subur dan baik di daerah tropis dan subtropis, seperti Afrika, Asia, dan Amerika Tengah. Tumbuhan ini tumbuh dan memiliki bulu, tingginya hanya 2 inci, memiliki banyak bunga kecil yang berkumpul bersama-sama dengan daun berbentuk lonjong yang letaknya saling berlawanan. Buah muda berwarna kuning berbentuk kapsul, berbulu kecil dengan 3 biji berwarna coklat kemerahan. Tumbuhan ini berbunga dan berbuah sepanjang tahun. *Euphorbia. hirta* memiliki banyak nilai-nilai obat tradisional. Beberapa dukun menggunakannya untuk mengobati disentri, diare dan kolik. Lateks biasanya dioleskan untuk mengobati luka kecil dan juga digunakan sebagai disinfektan. Ekstraknya juga ditemukan zat aktif terhadap *Helicobacter pylori* (Khunaifi, 2010).

2.2 Kandungan Senyawa Aktif dan Manfaat Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*)

Setiap makhluk hidup baik manusia, hewan, dan tumbuhan di muka bumi ini tidak diciptakan dalam keadaan yang sia-sia. Tumbuhan yang jumlahnya sangat banyak, semuanya diciptakan dengan membawa berkah dan manfaat untuk makhluk hidup khususnya manusia. Dalam hal tersebut terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ yang harus disyukuri, seperti dalam firman Allah ﷻ surah An-Nahl ayat: 13 sebagai berikut.

وَمَا ذَرَأَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَذَكَّرُونَ

Artinya: Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran.

Menurut Al Qurthubi (2009) makna dari menundukkan adalah Allah ﷻ mengendalikan semua yang telah diciptakannya, baik itu manusia, hewan, dan tumbuhan-tumbuhan. Ayat tersebut menjelaskan bahwa semua ciptaan Allah ﷻ yang mempunyai berbagai macam bentuk dan ragam serta masing-masing ciptaannya itu memiliki manfaat yang bermacam-macam. Hal ini merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ yang hanya bisa terfikirkan oleh orang yang mempunyai keinginan tinggi untuk mengambil hikmah atau pelajaran dari semua tanda-tanda itu. Sehingga ayat tersebut memotivasi kita supaya *mentadabburi, mentafakkuri*, dan mempelajari berbagai macam tumbuhan yang telah diciptakan, supaya bisa lebih mendekatkan diri kepada Allah ﷻ dan bisa memberi manfaat terhadap kehidupan manusia melalui pengamatan dan penelitian terhadap manfaat yang terkandung dalam berbagai macam tumbuhan seperti meneliti kandungan senyawa antibakteri pada tumbuhan yang dapat berguna bagi masyarakat sebagai solusi untuk mengobati penyakit. Kandungan senyawa aktif yang ada dalam daun patikan kebo tidak dapat diketahui kecuali oleh orang-orang yang mau berfikir dan meneliti atau disebut dengan *ulul albab*. Hal tersebut sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam surah Ali-Imran ayat 190-191 sebagai berikut.

إِنَّا فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَبْصَارِ ۝ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190), (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (191) (QS. Ali-'Imran: 190-191).

Kata *ulul albab* menurut Tafsir Ibnu katsir artinya adalah orang-orang yang dianugrahi akal yang sempurna lagi memiliki kecerdasan, karena hanya yang demikianlah yang dapat mengetahui segala sesuatu dengan hakikatnya masing-masing secara jelas. Dalam ayat tersebut juga dijelaskan bahwa orang yang berakal itu adalah orang-orang yang mengingat Allah ﷻ sambil berdiri, duduk, dalam keadaan berbaring yang disertai pentafakuran terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah ﷻ yang ada di bumi maupun di langit, maksudnya adalah orang yang masuk dalam kategori *ulul albab* akan memahami semua hikmah yang terkandung dalamnya yang menunjukkan kepada kebesaran Allah ﷻ dan kekuasaannya seperti misalnya penciptaan langit dan bumi serta seluruh isinya, yang kesemuanya itu tidaklah sia-sia tetapi banyak hikmah dan manfaat bagi manusia.

Metabolit sekunder dibedakan menjadi tiga kelompok besar yaitu terpen, fenolik, dan senyawa mengandung nitrogen terutama alkaloid. Alkaloid dalam daun patikan kebo menurut Dzulkarnain (1996) juga bersifat antibakteri. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Tanin pada tumbuhan patikan kebo dapat ditemukan pada bagian batang dan daun batang, sedangkan pada bunganya tidak banyak mengandung tanin. Daun-daun Patikan Kebo memiliki kandungan zat-zat penyamak (psiditanin) sekitar 9%,

minyak atsiri berwarna kehijauan yang mengandung erganol sekitar 0,4%, damar 3%, minyak lemak 6%, dan garam-garam mineral (Kartasapoetra, 2004).

Tumbuhan yang banyak mengandung tanin pada umumnya dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan, karena senyawa ini mempunyai rasa sepat dan dianggap sebagai penolak hewan. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin, yaitu tanin terkondensasi atau tidak dapat dihidrolisis dan tanin terhidrolisis (Harbone, 1987). Tanin merupakan senyawa polifenol yang berfungsi mengikat dan mempresipitasi protein sehingga bersifat antibakteri (Kumalaningsih, 2006). Dalam dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, mengatasi perdarahan, dan mengobati ambeien (Nurhari, 2010).

Flavonoid adalah golongan terbesar yang terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Fungsi flavonoid pada tumbuhan adalah sebagai pelindung terhadap serangga, antimikroba, dan antivirus. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang memiliki sifat insektisida. Flavonoid menyerang bagian syaraf pada beberapa organ vital serangga sehingga timbul suatu perlemahan syaraf, seperti pernapasan dan menimbulkan kematian (Robinson, 1995).

Tanin dan flavonoid merupakan senyawa fenol. Fenol merupakan unsur anti mikroba yang kuat. Pada konsentrasi yang biasa digunakan (larutan dalam air 1-2 %), fenol dan derivatnya menimbulkan denaturasi protein (Brooks *et al.*, 2005). Fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil.

Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan gula seperti glikosida (Harbone, 1987).

Minyak atsiri atau minyak eteris adalah istilah yang digunakan untuk minyak yang mudah menguap dan diperoleh dari tanaman dengan cara penyulingan uap (Harbone, 1987). Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroba dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel sehingga membran dan dinding sel tersebut tidak terbentuk secara sempurna (Ajizah, 2004).

Saponin adalah senyawa penurun tegangan permukaan yang kuat dan dapat menghasilkan busa bila dikocok dalam air. Saponin mampu mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Saponin termasuk ke dalam senyawa terpenoid. Aktivitas saponin ini di dalam tubuh serangga adalah mengikat sterol bebas dalam saluran pencernaan makanan dimana sterol itu sendiri adalah zat yang berfungsi sebagai prekursor hormon ecdison, sehingga dengan menurunnya jumlah sterol bebas dalam tubuh serangga akan mengakibatkan terganggunya proses pergantian kulit (*moulting*) pada serangga. Saponin memiliki efek lain menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus larva menjadi korosif (Simanjuntak, 2008).

Menurut Sipahutar (2000) tumbuhan patikan kebo banyak digunakan sebagai obat. Tumbuhan tersebut bersifat anti diare, anti radang (inflamasi), dan menghentikan pendarahan (hemostatik). Daun segarnya dapat digunakan untuk pengobatan luar pada luka akibat kecelakaan, pendarahan akibat benda tajam, dan borok (ulcus) di sekitar tulang.

2.3 Bakteri

2.3.1 Tinjauan Umum Bakteri

Bakteri merupakan mikroba uniseluler. Bakteri umumnya berukuran kecil dengan berat jenis 1,05-1,1 g cm⁻³ dan berat sekitar 10-12 g sebagai partikel kering (Hidayat, dkk, 2006). Umumnya, bakteri berukuran lebar 0,5-1 mikron dan panjang hingga 10 mikron (1 mikron = 10⁻³ mm) (Irianto, 2006). Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan (Radji, 2010).

Bakteri bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama yang disebut dengan pembelahan biner. Bakteri mendapatkan nutrisinya dengan menggunakan bahan kimia organik yang diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan biosintesis, sedangkan beberapa bakteri yang lain memperoleh nutrisi dari substansi organik (Radji, 2010).

Struktur sel bakteri terdiri atas tiga bagian penting, yaitu struktur eksternal sel, struktur internal sel dan struktur dinding sel. Struktur eksternal sel merupakan bagian-bagian penting yang ada dipermukaan sel, antara lain adalah glikokaliks (substansi yang menyelimuti permukaan sel), flagel (bagian yang membantu bakteri dalam bergerak), fimbria (bagian yang berperan dalam adhesi bakteri dengan sel hospes) dan pili (alat untuk menempel). Sedangkan struktur internal sel bakteri terdiri dari membran sitoplasma, sitoplasma, area nukleus, ribosom, mesosom dan inklusi. Bagian yang terakhir adalah bagian struktur dinding sel. dinding sel berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan keutuhan sel. selain itu, dinding sel

juga berperan dalam proses pembelahan sel. Dinding sel dapat melaksanakan biosintesis sendiri untuk membentuk dinding sel itu sendiri (Radji, 2010).

2.3.2 Klasifikasi Bakteri

2.3.2.1 Berdasarkan Bentuk

Berdasarkan bentuknya, bakteri diklasifikasikan menjadi 3 yaitu :

1. Bentuk bulat

Sel bakteri yang terbentuk seperti bola atau elips dinamakan *kokus* (Pelczar dan Chan, 2008). Bentuk bulat atau *kokus* dapat dibedakan lagi dalam (Hidayat, dkk, 2008; Irianto, 2006):

- 1) *Kokus*, yakni bulat satu-satu. Contohnya adalah *Neisseria gonorrhoeae*
- 2) *Diplokokus*, yakni bulat bergandengan dua-dua. Contohnya adalah *Streptococcus pneumoniae*.
- 3) *Streptokokus*, yakni bulat bergandengan seperti rantai. Contohnya adalah *Streptococcus pyogenes*.
- 4) *Tetrakokus*, yakni bulat terdiri dari 4 sel yang tersusun dalam bentuk bujur sangkar. Contohnya adalah *Pediococcus cerevisiae*.
- 5) *Sarsina*, yakni bulat yang terdiri dari 8 sel yang tersusun dalam bentuk kubus. Contohnya adalah *Sarcina veniriculi*.
- 6) *Stafilokokus*, yakni bulat tersusun sebagai kelompok buah anggur. Contohnya adalah *S. aureus*.

2. Bentuk batang

Sel bakteri yang mempunyai silindris atau seperti batang disebut *bacillus*. Ujung beberapa *bacillus* tampak persegi, bundar, meruncing atau

lancip. Terkadang *bacillus* tetap saling melekat satu dengan lainnya, ujung dengan unjung, sehingga memberikan penampilan rantai. Contohnya adalah *Bacillus cereus* (Pelczar dan Chan,2008).

3. Bentuk lengkung

Bakteri dengan bentuk lengkung dapat dibagi menjadi bentuk koma (vibrio). Jika lengkungannya kurang dari setengah lingkaran. Jika spiralnya halus dan lentur disebut spirochaeta dan jika spiralnya tebal dan kaku disebut spirillum. Contohnya adalah *Treponema pallidum*, *Borrelia anserina* dan *Spirillum volutans* (Hidayat, dkk, 2006; Pelczar dan Chan,2008).

2.3.2.2 Berdasarkan Pewarnaan Gram

Berdasarkan pewarnaan gram, bakteri dibagi dua yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Yuwono, 2002). Bakteri gram positif adalah bakteri yang dapat mempertahankan zat warna ungu (metilviolet, kristalviolet atau gentianviolet) meskipun telah didekolorisasi dengan alkohol. Bakteri tersebut juga akan tetap mempertahankan warna ungunya meskipun disertai dengan pengecatan oleh zat warna kontras. Hal ini terjadi karena kandungan peptidoglikan yang cukup banyak pada bakteri gram positif yang mampu mempertahankan warna ungu.

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna setelah didekolorisasi dengan alkohol akan kembali menjadi tidak berwarna. Hal ini disebabkan oleh banyaknya kandungan lipid yang tidak mampu mempertahankan warna ungu. Apabila diberikan pengecatan dengan zat warna kontras, maka akan berwarna sesuai dengan zat warna kontras (Irianto, 2006).

a) Bakteri gram positif

Bakteri gram positif merupakan bakteri yang mempunyai struktur dinding sel yang tebal (15-80 μm) dan berlapis tunggal (mono). Komponen utama penyusun dinding sel bakteri gram positif adalah peptidoglikan dan asam terikoat (Pelczar dan Chan, 2008). Asam terikoat ada dua jenis, yaitu asam terikoat ribitol dan asam terikoat gliserol. Fungsi asam terikoat belum sepenuhnya diketahui, namun diperkirakan berperan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel. Asam terikoat mempunyai sifat antigen spesifik sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi spesies-spesies bakteri gram positif secara serologi (Radji, 2010). Salah satu bakteri yang tergolong bakteri gram positif adalah *S. aureus*.

b) Bakteri gram negatif

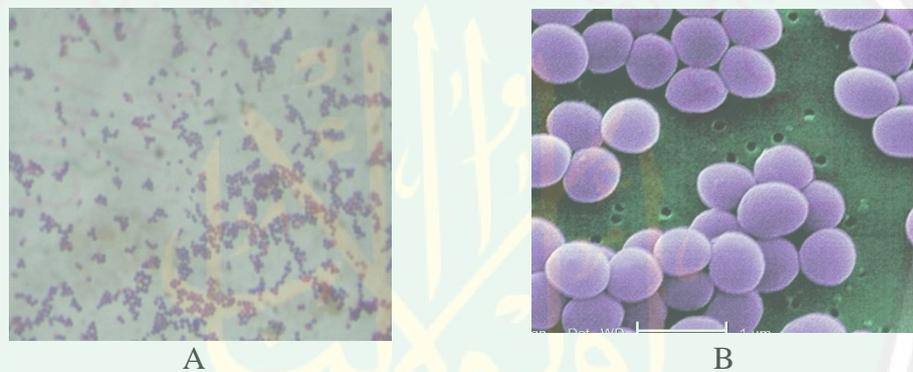
Bakteri gram negatif adalah bakteri yang mempunyai struktur dinding sel yang tipis (10-15 nm) dan berlapis tiga (multi). Dinding selnya meliputi sedikit peptidoglikan dan selaput luar yang mengandung tiga polimer yaitu lipoprotein, fosfolipida dan lipopolisakarida (Pelczar dan Chan, 2008). Komponen lipopolisakarida pada membran luar bakteri gram negatif ini mempunyai peranan penting. Gugus polisakarida dari lipopolisakarida yang disebut dengan O-polisakarida berfungsi sebagai antigen spesifik yang dapat dimanfaatkan untuk membedakan spesies-spesies bakteri gram negatif (Radji, 2010). Salah satu bakteri yang tergolong bakteri gram positif adalah *E. coli*.

2.4 Bakteri Uji

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur

seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2008). Morfologi bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada gambar 2.2 berikut ini.



Gambar 2.2 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus*: a) pengamatan hasil pewarnaan gram; b) pengamatan menggunakan mikroskop elektron (Kunkel, 2004)

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembedihan bakteriologik dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik, tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20 °C) dan pada media dengan Ph 7,2-7,4 koloni pada pembedihan padat berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilau membentuk pigmen (Jawetz *et al.*, 1991).

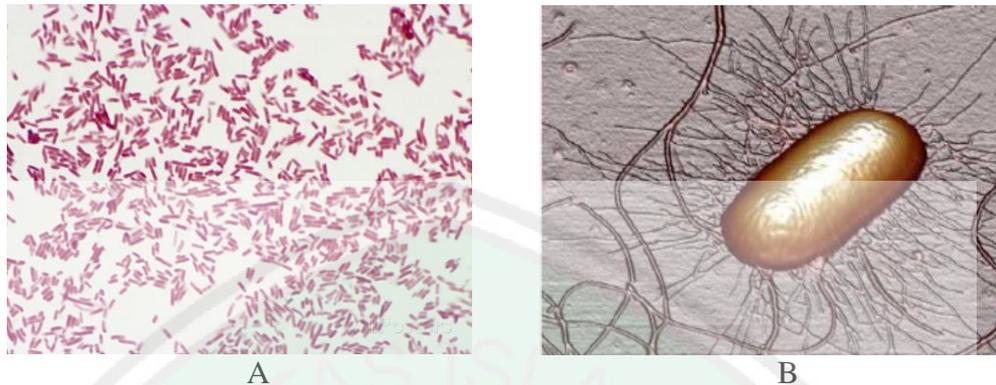
2.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia .(Menurut Garrity (2004), taksonomi *E.coli* adalah:

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Gambar 2.3). Spesies ini bersifat motil dengan flagel peritrik yang dimilikinya, tetapi beberapa ada yang non motil. *Escherichia coli* memiliki flagel peritrikus karena flagelnya terdapat di sekujur tubuh. Selain itu bakteri ini juga memiliki pili yaitu berupa fibril dan diatur oleh F-plasmid (Purwoko, 2007).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dalam sel tunggal atau berpasangan, merupakan anggota family *Enterobacteriaceae* dan flora normal intestinal yang mempunyai kontribusi pada fungsi normal usus dan nutrisi tetapi bakteri ini akan menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar jaringan intestinal. Bakteri *E.coli* merupakan jasad indikator dalam substrat air dan bahan makanan yang mampu memfermentasikan laktosa pada temperatur 37°C dengan membentuk asam dan gas dalam waktu beberapa jam. Bakteri ini berpotensi patogen karena pada keadaan tertentu dapat menyebabkan diare (Suriawiria, 1996). Morfologi bakteri *E. coli* dapat dilihat pada gambar 2.3 berikut ini



Gambar 2.3 Morfologi bakteri *Escherichia coli*: a) pengamatan hasil pwarnaan gram; b) pengamatan menggunakan mikroskop elektron (Kunkel, 2004)

Escherichia coli biasanya berkolonisasi di saluran pencernaan dalam beberapa jam setelah masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik. Namun, strain non-patogenik dari *E. coli* bisa menjadi patogen, ketika adanya gangguan di dalam pencernaan serta immunosupresi pada host (Suriawiria, 1996).

Penelitian yang dilakukan oleh Jawetz *et al.* (1996), menyatakan bakteri *E. coli* pada media EMBA membentuk koloni khas berwarna hijau metalik dengan pusat koloni berwarna gelap. Pada media SIM, bakteri *E. coli* bersifat motil dan menghasilkan indol. *Escherichia coli* secara khas memberi hasil positif pada tes indol, lisin, dekarboksilase dan peragian manitol serta membentuk gas dari glukosa.

Bakteri *Coliform* dibedakan menjadi 2, yaitu fekal dan non-fekal. Yang termasuk kelompok bakteri *Coliform* fekal adalah *E. coli*, sedangkan kelompok bakteri *Coliform* non-fekal adalah *E. aerogenes*. Untuk membedakan *E. coli* dari *E. aerogenes* dapat dilakukan uji IMViC (indol, merah metil, voges-proskauer, sitrat), yaitu uji yang menunjukkan pembentukan indol dari triptofan, uji merah metil yang menunjukkan fermentasi glukosa menghasilkan asam sampai pH 4,5 sehingga

medium akan berwarna merah dengan adanya merah metil, uji voges-proskauer yang menunjukkan pembentukan asetil metil karbinol dari glukosa, dan uji penggunaan sitrat sebagai sumber karbon. *Escherichia coli* mempunyai sifat yang berbeda dengan *E. aerogenes* karena pada umumnya dapat memproduksi indol dari triptofan, membentuk asam sehingga menurunkan pH sampai 4,5 tidak memproduksi asetil metil karbinol, dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Sifat-sifat *E. coli* lainnya yang penting adalah bakteri ini dapat memfermentasi laktosa dengan memproduksi asam dan gas, mereduksi nitrat menjadi nitrit, bersifat katalase positif, dan oksidase negatif (Fardiaz, 1992).

Bakteri *E. coli* dapat tumbuh baik pada hampir semua media yang bisa dipakai di dalam laboratorium mikrobiologi. Bakteri ini merupakan salah satu kelompok koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44 °C, bersifat indol positif, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37 °C, bersifat merah metal (*methyl red*) positif, an hasil vogesproskauer (VP) negatif. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C (Juliantina *et al.*, 2009).

2.5 Pengobatan Antibiotik

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang diisolasi dari infeksi di dalam masyarakat biasanya sensitif terhadap obat-obat antimikroba yang digunakan untuk organisme gram negatif, meskipun terdapat juga strain-strain resisten, terutama pada pasien dengan riwayat pengobatan antibiotik sebelumnya (Karsinah, 1994).

Kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik untuk terapi penyakit akibat bakteri *E.coli*. Kloramfenikol menghambat ikatan asam aminol baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil

transferase. Kloramfenikol bersifat bakteristatik dan bakteri bisa tumbuh lagi apabila pengaruh obat dihilangkan (Katzung, 2004).

2.6 Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme penghambatan dan kerusakan mikroba oleh senyawa antimikroba berbeda-beda. Menurut Djide dan Sartini (2005), antimikroba mempunyai mekanisme kerja utama antara lain sebagai berikut :

1) Penginaktifan enzim tertentu

Penginaktifan enzim tertentu adalah mekanisme umum dari senyawa antiseptika dan disinfektansia, seperti turunan aldehida, amida, karbanilida, etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuartener.

2) Denaturasi protein

Turunan alkohol, halogen dan halogenator, senyawa merkuri, peroksida, turunan fenol dan senyawa ammonium kuartener bekerja sebagai antiseptika dan disinfektan dengan cara denaturasi dan konyugasi protein sel bakteri.

3) Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Cara ini adalah model kerja dari turunan amin dan guanidin, turunan fenol dan senyawa amonium kuarternner. Dengan mengubah permeabilitas membram sitoplasma bakteri, senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial, sehingga bakteri mengalami kematian.

4) Intekalasi ke dalam DNA

Beberapa zat warna seperti turunan trifenilmetan dan turunan akridin, bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan bahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

5) Pembentukan khelat

Beberapa turunan fenol, seperti heksoklorofen dan oksikuinolin dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu, kemudian bentuk khelat tersebut masuk ke dalam sel bakteri. Kadar yang tinggi dari ion-ion logam di dalam sel menyebabkan gangguan fungsi enzim, sehingga mikroorganisme mengalami kematian.

6) Bersifat sebagai antimetabolit

Antimikroba bekerja menghambat tahap metabolik spesifik mikroba, seperti pada sulfonamida dan trimetoprin. Sulfanamida menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfanamida secara struktur mirip dengan asam folat, para amino benzoic acid (PABA), dan bekerja secara kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat. Trimetoprin secara struktur analog pteridin yang dibagi oleh enzim dihidrofolat reduktase dan bekerja sebagai penghambatan kompetitif enzim tersebut yang dapat mengurangi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat.

7) Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme. Yang termasuk kelompok ini antara lain : penisilin, sefalosporin, vankomisin, sikloserin, basitrasin. Penisilin yang bekerja sebagai analog struktur D-alanil-D-alanin yang menempati tempat dari enzim transpeptidase yang menimbulkan crosslink antara bagian dinding sel mikroorganisme (bakteri). Penisilin dapat menghambat pembentukan crosslink tersebut.

8) Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme (bakteri). Dalam ini antimikroba dapat : (1) berinteraksi dengan sterol membran sitoplasma pada sel jamur seperti amfoterisin B dan nistanin, (2) merusak membran sel bakteri gram negatif, misalnya polimiksin dan kolistin.

9) Penghambatan sintesis protein

Antimikroba disini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Dalam hal ini antimikroba dapat : a) Berinteraksi dengan ribosom 30S, termasuk kelompok ini adalah aminoglikosida, terasiklin dan lain-lain. Aminoglikosida yang menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks. Salah dalam menterjemahkan tanda mRNA dan meghasilkan polipeptida yang abnormal. Tertrasiklin bekerja menghambat ikatan aminoasil tRNA dengan ribosom mRNA kompleks. b) Berinteraksi dengan ribosom 50S misalnya pada kloramfenikol, linkomisin, klindamisin, eritromisin.

10) Penghambatan asam nukleat

Dalam hal ini antimikroba mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Sebagai contoh Rifampisin, mengikat dan menghambat DNA dependent RNA polimerase yang akan pada bakteri. Kuinolon menghambat DNA girase dan metronidazol menghambat sintesis DNA. Penghambatan mikroba oleh senyawa antimikroba secara umum dapat disebabkan oleh : 1) gangguan pada komponen penyusun sel terutama komponen penyusun dinding sel, 2) reaksi dengan membran sel yang dapat mengakibatkan perubahan permeabilitas dan kehilangan komponen penyusun sel, 3) penghambatan terhadap sintesis protein dan 4) gangguan fungsi material

genetik. Menurut Kanazawa dkk., (1995) terjadi proses tersebut diatas disebabkan oleh adanya pelekatan senyawa antimikroba pada permukaan sel mikroba atau senyawa tersebut berdifusi ke dalam sel.

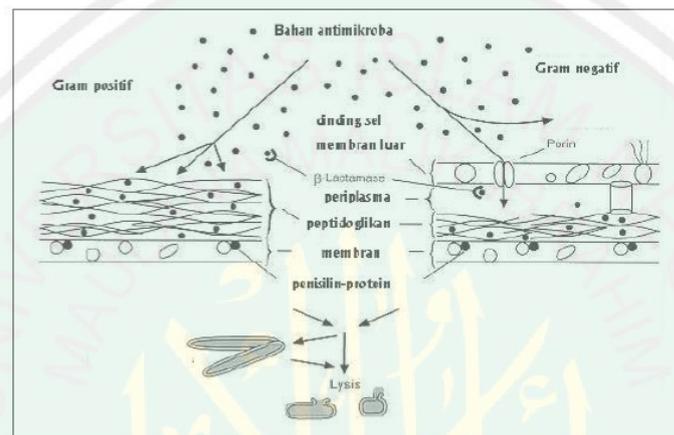
a. Gangguan Pembentukan Dinding Sel

Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang terdiri dari turunan gula yaitu asama N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat serta asam amino 1, alanin, D-alanin, D-glutamat, dan lisin (Fardiaz,1992). Bakteri gram-positif mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan asam teikoat dan asama teikuronat yang bermuatan negatif. Pada bakteri gram negatif terdapat lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5-20% peptidoglikan (Gambar 2.3). Lapisan ini merupakan lipid kedua yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). Lapisan ini tersusun oleh fosfolipid, polisakarida dan protein (Madigan,2000). Dalam upaya mencapai sasaran, senyawa antimikroba dapat menembus lipopolisakarida dari dinding sel tersebut.

Perbedaan struktur dinding sel berpengaruh pada ketahanannya terhadap perlakuan bahan antimikroba dan bagian penting dari dinding adalah lapisan peptidoglikan karena lapisan ini berfungsi untuk melindungi sel bakteri dari perubahan kondisi lingkungan dan faktor -faktor luar yang menyebabkan kerusakan membran sel yang berakibat kematian sel bakteri tersebut. Bakteri gram-positif lebih sensitif terhadap perlakuan biosida dari pada bakteri gram negatif (Madigan, 2000).

Mekanisme masuknya bahan antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan gram negatif berbeda seperti terlihat pada gambar 2.4 dibawah ini. Pada Gambar 2.4 terlihat bahwa pada bakteri gram-positif, bahan antimikroba dapat langsung

masuk dan akan mengisi lapisan peptidoglikan kemudian berikatan dengan protein, selanjutnya dapat menyebabkan bakteri tersebut lisis. Sedangkan pada bakteri gram-negatif bahan tersebut masuk melalui porin yang terdapat pada lapisan luar, kemudian masuk ke lapisan peptidoglikan dan selanjutnya membentuk ikatan dengan protein.



Gambar 2.4 Mekanisme bahan antimikroba terhadap bakteri gram negatif dan gram positif

Penghambatan senyawa antimikroba adalah kemampuan suatu senyawa antimikroba untuk mempengaruhi dinding sel mikroba. Nychas dan Tassou (2000), menyatakan bahwa minyak atsiri dapat menghambat enzim yang terlibat pada produksi energi dan pembentukan komponen struktural sehingga pembentukan (dinding sel bakteri terganggu). Mekanisme kerusakan dinding sel dapat disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel.

b. Bereaksi Dengan Membran Sel

Membran sitoplasma yang berperan pada keutuhan sel dapat terganggu permeabilitasnya oleh beberapa senyawa antimikroba yang dapat menyebabkan kebocoran sel sehingga transfer isi sel tidak terkontrol. Bocornya membran sitoplasma bersifat dapat pulih dan dapat dideteksi dengan adanya perubahan

jumlah asam nukleat dan protein dalam medium. Senyawa antimikroba dapat menyerang membran sitoplasma dan mempengaruhi integritasnya, kerusakan pada membran ini mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel, yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler.

c. Penghambatan Sintesis Protein

Sintesis protein adalah pembentukan rantai polipeptida dari asam-asam amino melalui ikatan peptida. Proses sintesis tersebut terdiri atas beberapa tahap yaitu inisiasi, penggabungan kompleks asam amino, pembentukan ikatan peptida, translokasi dan terminasi. Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis protein bakteri, yaitu senyawa tersebut bereaksi dengan komponen sel ribosom 50S yang membentuk kompleks pada tahap inisiasi, sehingga menstimulasi translasi yang salah, selanjutnya terjadi penyimpangan dalam ribosom, yang mengakibatkan sintesis protein dilanjutkan dengan pasangan yang tidak tepat dan akhirnya mengganggu pembentukan protein (Nychas dan Tassou, 2000).

d. Gangguan Fungsi Material Genetik

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari proses transkripsi (sintesis asam ribonuklat, tergantung DNA) dan proses translasi (sintesis protein tergantung RNA), jika senyawa antimikroba menghambat salah satu dari kedua proses tersebut maka sintesis protein akan terhambat. Senyawa antimikroba dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (DNA dan RNA), akibatnya transfer informasi genetik akan terganggu karena komponen menghambat aktivasi enzim RNA polimerase dan DNA polimerase yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel (Campbell, 2008).

2.7 Metode Pengujian Antibakteri

2.7.1 Metode Dilusi

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal dari suatu bahan uji atau obat terhadap kuman percobaan. Pada prinsipnya bahan antibakteri uji diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri.

Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diinokulasi bakteri uji dan kemudian dieramkan. Tahap akhir dilarutkan anti mikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan dilusi agar memakan waktu dan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai. Namun kini ada cara sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plat* keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan mikroba bakteri (Brooks *et al.*, 2007).

2.7.2 Metode Difusi

Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode cakram kertas, metode sumuran, dan metode parit.

1) Metode Cakram kertas (Cara Kirby Bauer)

Pada metode ini digunakan suatu kertas cakram saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring mengandung zat antimikroba tersebut diletakan pada lempeang agar yang telah diinokulasi

dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Pada metode difusi, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Ada dua macam zona hambat yang terbentuk dari cara Kirby Bauer:

- a. Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter zona radikal.
- b. Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak mematikan.

Uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter *clearzone* (zona bening) yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling zat antimikroba pada masa inkubasi bakteri) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Semakin besar zona hambatan yang terbentuk, maka semakin besar pula kemampuan aktivitas zat antimikroba. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan atau sensitivitas yaitu $10^5 - 10^8$ CFU/mL.

2) Metode Sumuran

Lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Cara ini dapat diganti dengan meletakkan cawan porselin kecil yang biasa disebut *fish spines* diatas medium agar, kemudian cawan-cawan tersebut diisi dengan zat uji, setelah inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dilakukan pengamatan dengan melihat ada tau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang atau cawan.

3) Metode Parit

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh adalah ada atau tidaknya zona hambatan di sekitar parit, interpretasi sama dengan cara Kirby bauer.

Metode difusi cakram merupakan metode yang paling banyak digunakan diantara kedua metode tersebut. Metode ini dikenal sebagai metode *Kirby Bauer*. Sejumlah bakteri uji diinokulasi pada media agar dan cakram yang mengandung larutan uji atau antibakteri tertentu diletakan pada permukaan media agar. Setelah diinkubasi terlihat daerah hambatan sebagai daerah bening yang tidak ditumbuhi bakteri di sekeliling cakram (Pelczar dan Chan, 2005).

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kefiras sering berisi jumlah tertentu obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, maka akan tampak diameter zona hambatan obat atau antibakteri terhadap organism uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adalah fisika, kimia, obat, dan organisme selain itu dipengaruhi juga oleh sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekuler dan stabilitas obat (Brooks *et al.*, 2007).

2.8 Metode Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Patikan kebo (*Euphorbia hirta*)

Ekstraksi merupakan proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya. Metode maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut sehingga terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan

terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang paling pekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Guenther, 1990).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

2.8.1 Jenis-jenis Ekstraksi

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet.

2.8.2 Cara-Cara Ekstraksi

a. Ekstraksi secara soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap penyari akan naik melalui pipa samping, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin tegak. Cairan penyari turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi. Demikian seterusnya sampai zat aktif yang terdapat dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai jernihnya cairan yang lewat pada

tabung sifon.

b. Ekstraksi secara perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

c. Ekstraksi secara maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan.

d. Ekstraksi secara refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut, demikian seterusnya. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap

kali diekstraksi selama 4 jam.

e. Ekstraksi secara penyulingan

Penyulingan dapat dipertimbangkan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih yang tinggi pada tekanan udara normal, yang pada pemanasan biasanya terjadi kerusakan zat aktifnya. Untuk mencegah hal tersebut, maka penyari dilakukan dengan penyulingan.

Diantara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut merupakan metode pemisahan yang baik dan sangat populer. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro sampai pada tingkat mikro. Prinsip dari metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur seperti benzen, karbon tetra klorida atau kloroform. Batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, memperkaya, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja. Mulanya metode ini dikenal dalam kimia analisis, kemudian menjadi metode yang baik, sederhana, cepat dan dapat digunakan untuk ion-ion logam yang bertindak sebagai *tracer* (pengotor) dan ion-ion logam dalam jumlah makrogram (Khopkar, 2010).

Terdapat dua macam ekstraksi padat-cair, yaitu dengan cara sokhlet dan perkolasi dengan atau tanpa pemanasan. Menurut Brown (1950) dalam Muchsony (1997), metode lain yang lebih sederhana dalam mengekstrak padatan adalah dengan mencampurkan seluruh bahan dengan pelarut, lalu memisahkan larutan dengan padatan tak terlarut.

2.8.3 Metode Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Dalam proses maserasi, simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang. Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 2005).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan dalam temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Djarwis, 2004).

Maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di

luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel serta metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Larutan dari hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan saringan halus dan kemudian dipompa ke dalam evaporator, sehingga pelarut dapat diuapkan (Guenther, 1990). Salah satu kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Djarwis, 2004).

Menurut Harborne (1987), metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Kekurangan dari metode ini adalah waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu (1) pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, (2) pelarut organik akan melarutkan senyawa organik. Ekstraksi senyawa aktif dari suatu jaringan tanaman dengan berbagai jenis pelarut pada tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimum, baik jumlah ekstrak maupun senyawa aktif yang terkandung dalam contoh uji.

Pelarut yang biasa digunakan dalam metode ekstraksi maserasi antara lain kloroform, eter, aseton, metanol, etanol, n-heksana dan etil asetat. Ekstraksi biasanya dilakukan secara bertahap dimulai dengan pelarut yang non polar (n-heksana), semipolar (kloroform), dan pelarut polar (metanol atau etanol)

(Harborne, 1987). Pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi harus memenuhi syarat, yaitu pelarut tersebut harus merupakan pelarut yang terbaik untuk bahan yang diekstraksi dan pelarut tersebut harus terpisah dengan cepat setelah pengocokan (Winarno, 2004).

Polaritas sering diartikan sebagai adanya pemisahan kutub bermuatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuknya konfigurasi tertentu dari atom-atom penyusunnya. Dengan demikian, molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul yang lain yang juga mempunyai polaritas yang kurang lebih sama. Besarnya polaritas dari suatu pelarut proporsional dengan besarnya konstanta dielektriknya (Adnan 1997).

Menurut Stahl (1985), konstanta dielektrik (ϵ) merupakan salah satu ukuran kepolaran pelarut yang mengukur kemampuan pelarut untuk menyaring daya tarik elektrostatik antara isi yang berbeda. Salah satu ciri penting dari pelarut adalah tetapan dielektrik (D). Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja antara dua muatan itu dalam pelarut. Tetapan ini menentukan sampai sejauh mana tingkat kemampuan melarutkan pelarut itu. Misalnya air mempunyai tetapan dielektrik tinggi yaitu sebesar 78,5 pada suhu 25⁰C merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang berkutub polar. Tetapi air merupakan pelarut yang tidak baik untuk zat-zat yang non-polar. Pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik rendah merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang non-polar. Umumnya reaksi-reaksi yang digunakan dalam pemeriksaan kimia berlangsung dalam larutan berair. Kerapatan elektron dalam molekul air tidak tersebar merata. Hal ini disebabkan oleh 2 hal, yaitu:

1. Perbedaan keelektronegatifan yang besar antara atom hidrogen dan oksigen yang menggeser kerapatan elektron sepanjang ikatan- α dari hidrogen ke arah oksigen.
2. Adanya pasangan elektron yang memperbesar muatan negatif pada oksigen sehingga secara bersamaan menyebabkan kecenderungan air membentuk ikatan hidrogen. Terbentuknya ikatan hidrogen menyebabkan tetapan dielektrik yang sangat tinggi.

Adanya perbedaan keelektronegatifan di dalam ikatan kovalen akan menimbulkan perbedaan muatan parsial atom-atom penyusun molekul. Perbedaan ini mengakibatkan senyawa mempunyai dipol-dipol dan senyawa bersifat polar. Senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut pola dan sebaliknya (*like dissolves like*).

Senyawa polar merupakan senyawa yang mempunyai momen dipol lebih besar dari pada nol. Hal ini disebabkan oleh molekul yang menyusun yaitu molekul yang mempunyai atom tidak sejenis dan mempunyai bentuk asimetris. Sedangkan Senyawa, senyawa non-polar adalah senyawa yang mempunyai momen dipol sama dengan nol ($\mu = 0$). Hal ini disebabkan oleh molekul yang menyusun yaitu molekul yang mempunyai atom sejenis dan mempunyai bentuk molekul yang simetris, sehingga titik berat muatan positif berimpit dengan muatan negatif.

Adapun sifat keelektronegatifan tersebut adalah kemampuan suatu atom untuk menarik elektron yang mengakibatkan bahwa atom yang terlibat dalam ikatan kovalen dapat menarik elektron yang terbagi dengan kekuatan berbeda-beda. Paling mengembangkan suatu skala keelektronegatifan untuk sebagian besar atom dari susunan berkala. Makin besar nilai numeriknya, makin besar kemampuan atom

menarik elektron. Keelektronegatifan meningkat dengan bergerak dari kiri ke kanan melintasi susunan berkala. Sebagian besar atom yang biasanya terdapat dalam senyawa organik (kecuali hidrogen) lebih elektronegatif dari pada karbon sehingga disebut elektropositif.

Ikatan antar atom yang hanya berbeda sedikit keelektronegatifannya menghasilkan suatu ikatan kovalen dengan kerapatan elektron terletak lebih dekat pada atom yang lebih elektronegatif. Ikatan inilah yang disebut polar karena distribusi muatannya tak sama. Ikatan polar biasanya ditandai dengan huruf Yunani delta dan sebuah tanda hitung (+/-) untuk menunjukkan suatu distribusi muatan yang sedikit berbeda.

Dalam molekul organik karbon-karbon dan ikatan karbon-hidrogen adalah jenis ikatan non-polar yang paling umum, dimana kedua atom menerapkan tarikan yang sama atau hampir sama terhadap elektron ikatan. Selain keelektronegatifan, faktor lain yang menentukan derajat kepolaran suatu ikatan adalah polarizabilitas atom-atom, yaitu kemampuan awan elektron didistorsi (diubah bentuk) sehingga mengimbas kepolaran. Elektron-elektron terluar dari atom-atom besar berada lebih jauh dari inti dan kurang kuat terikat dibandingkan atom-atom kecil. Akibat perbedaan keelektronegatifan dan polarizabilitas adalah beranekaragamnya jenis ikatan.

Kelarutan suatu zat juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: ketetapan dielektrik, dapat / tidaknya membentuk ikatan hidrogen, panjang rantai atom karbon, kemiripan struktur dan sebagainya. Kelarutan adalah jumlah zat yang larut sehingga larutan tepat jenuh dalam 1 liter pelarut. Kelarutan juga dipengaruhi oleh 3 faktor:

a. Jenis zat terlarut

Tiap zat mempunyai harga kelarutan masing-masing. Pada suatu pelarut umumnya semua asam mudah larut dalam air kecuali beberapa asam saja yang sulit larut.

b. Jenis zat pelarut

Zat pelarut dibedakan atas pelarut polar (misalnya air) dan pelarut non-polar (misalnya n-heksana, kloroform).

c. Suhu

Kelarutan akan semakin besar jika suhunya semakin tinggi, oleh karena itu kelarutan diukur pada keadaan tertentu.

2.9 Uraian Pelarut yang Digunakan

2.9.1 Pelarut Etanol

Etanol merupakan cairan polar yang dapat bercampur dengan air, alcohol-alcohol lain, ester, keton, eter, dan sebagian besar pelarut organik. Etanol juga dikenal sebagai etil alkohol, adalah [senyawa kimia](#) dengan [rumus kimia](#) CH_3OH . Ia merupakan jenis [alkohol](#) yang paling sering digunakan dan banyak ditemukan dalam kehidupan sehari-hari. Pada "keadaan atmosfer" ia berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas. Etanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi perindustrian (Guenther, 1990).

2.9.2 Pelarut Kloroform

Kloroform adalah nama umum untuk triklorometana (CHCl_3). Kloroform dikenal karena sering digunakan sebagai bahan pembius, akan tetapi penggunaannya sudah dilarang karena telah terbukti dapat merusak liver dan ginjal. Kloroform

kebanyakan digunakan sebagai pelarut nonpolar di laboratorium. Wujudnya pada suhu ruang berupa cairan bening, mudah menguap, dan berbau khas. Pelarut kloroform (semi polar) memiliki konstanta dielektrikum sebesar 4,81. Pelarut yang digunakan adalah kloroform untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar sampai semi polar (Poedjiadi, 2006).

2.9.3 Pelarut n-Heksana

Heksana adalah senyawa hidrokarbon golongan alkana dengan rumus C_6H_{14} merupakan fraksi petroleum eter dengan kisaran titik didih $65-70^{\circ}C$. Keuntungan pelarut ini yaitu bersifat selektif dalam melarutkan zat, menghasilkan jumlah kecil lilin, albumin, dan zat warna, namun dapat mengekstrak zat pewangi dalam jumlah besar. Kelarutan tidak larut dalam air, larut dalam pelarut organik, sangat larut dalam alkohol. Hasil ekstraksinya akan menghasilkan minyak yang berwarna gelap dan kental karena bersifat tidak selektif terhadap pigmen tanaman (Guenther, 1990).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian “Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* berdasarkan Perbedaan Pelarut Secara In Vitro” merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 9 kali. Konsentrasi ekstrak daun patikan kebo yang digunakan sebesar 500 mg/ml.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai September 2016 bertempat di:

- 1) Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk melakukan proses ekstraksi dan evaporasi daun Patikan Kebo
- 2) Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, untuk melakukan uji zona hambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*
- 3) Laboratorium Biomedik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang, untuk melakukan uji KHM dan KBM.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang menjadi sebab timbulnya perubahan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pelarut etanol p.a, kloroform p.a dan n-heksan p.a.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah

1. Zona hambat yang dihasilkan pada uji efektivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*
2. Jumlah koloni bakteri yang dihasilkan pada uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali adalah variabel yang diduga berpengaruh terhadap variabel terikat, tetapi dalam penelitian ini diupayakan agar mempunyai pengaruh sama terhadap variabel terikat. Variabel kendali dalam penelitian ini antara lain:

- a. Suhu
- b. pH
- c. Waktu
- d. Media

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi dalam penelitian yaitu pisau, oven, neraca analitik, corong Buchner, Erlenmeyer 1000 ml, Erlenmeyer 500 ml, corong gelas, pengaduk kaca, *beaker glass* dan *rotary evaporator*.

Alat-alat yang digunakan untuk uji antimikroba yaitu: autoklaf, timbangan analitik, Bunsen, Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 500 ml, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, paper disk, *beaker glass*, labu ukur 5 ml, gelas ukur, *microplate*, mikropipet, pinset, pipet ukur 5 ml, pipet ukur 2 ml, jangka sorong, *colony counter*, jarum ose, stirer, kertas label, kertas cakram, kapas, laminar air flow, hot plate, lemari es, plastik wrap, botol semprot, inkubator, inkubator CO₂ 5% dan aluminium foil, hot plate, vortex, botol flacon, Bunsen, plastic wrap, mikroskop stereo APD *colony counter*.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun patikan kebo, bakteri *Escherichia coli*, koloni bakteri *Staphylococcus aureus*, media NA (*Nutrient Agar*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), aquades steril, alkohol 70 %, PEG 400, kloramfenikol, NaCl 0,9 %, etanol 70%, Mc Farland, Larutan *Tween 80*, kapas dan kain kasa, kloroform p.a, ethanol p.a, dan n-heksan p.a.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pembuatan Ekstrak Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L)

Sebanyak 250 gram serbuk Daun Patikan Kerbo (*Euphorbia hirta*) dimasukkan kedalam labu erlenmyer 1000 ml dan ditambahkan pelarut etanol p.a sebanyak 1000 ml. Dilakukan hal yang sama pada pelarut kloroform p.a dan

heksana p.a, dengan perbandingan 1:4 kemudian masing-masing direndam selama 24 jam. Ampas yang diperoleh disaring dengan penyaring Buchner dan dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama. Tahap ini dilakukan selama 3 hari dengan mengganti pelarutnya setiap 1x24 jam sampai filtratnya berwarna bening. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 30-40⁰C. Suhu rendah digunakan untuk menjaga agar senyawa aktif tidak mengalami kerusakan, sampai didapatkan ekstrak pekat dari ketiga pelarut yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Proses evaporasi dihentikan sampai pelarut habis dengan ditandai tidak adanya penetesannya pada labu pelarut. (Saman, 2013).

Untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut dari ekstrak daun Patikan Kebo dilakukan penyemprotan dengan gas N₂ (Nitrogen Cair). Gas N₂ ini akan membuat ekstrak yang pekat mengkristal, sehingga antara sisa-sisa pelarut akan terpisah dengan ekstrak tumbuhan.

3.5.2 Proses Persiapan Bakteri *Escherichia coli* dan *S. aureus*

a. Sterilisasi Alat

Sterilisasi merupakan suatu usaha untuk membebaskan atau memusnahkan alat-alat atau bahan-bahan dari segala macam bentuk kehidupan, terutama mikroorganisme (Safitri, dkk., 2010). Alat yang digunakan disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 16⁰C-17⁰C selama 1 jam sedangkan bahan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan alkohol 96 %.

b. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media NA dibuat dengan cara melarutkan 20 gram bubuk media NA dalam aquades, sampai volume 1 Liter. Larutan media dipanaskan sampai

bubuk media NA benar-benar larut, dan dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL. Kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, suhu 121°C. Tabung reaksi selanjutnya dimiringkan agar media NA didalamnya membeku berbentuk miring (Dewi, 2010).

c. *Media Muller Hinton Agar (MHA)*

Prosedur pembuatan media MHA adalah ditimbang medium sebanyak 38,0 gram kemudian medium disuspensi ke dalam 1 L aquades atau deionized. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit. Disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 118-121 °C, tekanan 1-2 atm. Ditunggu hingga agak dingin sekitar suhu 45-50 °C. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri. Untuk membuat medium coklat agar, tambahkan darah domba di 80 °C selama 10 menit. Inokulasi mikroorganisme ke dalam cawan dan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

3.5.3 Peremajaan Biakan Murni

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat agar dengan cara menggosokkan jarum ose yang mengandung bakteri *S.aureus* dan *E. coli* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan cawan petri pada nyala api saat menggosokkan jarum ose. Kemudian cawan ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator.

Mengambil 1 ose *S.aureus* dan *E. coli* dari stok yang akan digunakan. Kemudian diinokulasikan pada 5 ml media NA miring. Selanjutnya

diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator suhu 37°C. Koloni yang terbentuk menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

3.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri

Inokulum bakteri diambil 1 ose dan ditambahkan NaCl 0,9% steril sebanyak 5 mL. Selanjutnya dihomogenkan dengan vortex. Setelah itu larutan tersebut dibandingkan dengan larutan Mc Farland. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan pada larutan Mc Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/mL (Fatisa, 2013).

Larutan standart Mc Farland, komposisi terdiri dari larutan asam sulfat 1% sebanyak 9,95 ml, larutan barium klorida 1,175% sebanyak 0,05 ml. Cara pembuatannya kedua larutan di atas dicampurkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok homogen (Silaban, 2009).

3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode ini menggunakan prosedur difusi standar menggunakan *blank disk paper* (diameter 6 mm) yang diletakkan di atas agar. Metode ini memungkinkan penentuan kemampuan senyawa aktif dalam daun patikan kebo, dengan melihat dan mengukur diameter dari zona hambat yang merupakan hasil dari difusi senyawa aktif ke dalam medium di sekitar *blank disk paper*. Dimasukan suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 200 µl ke dalam cawan petri steril, kemudian dimasukkan media MHA yang masih cair sebanyak 20 ml, dan media dibiarkan memadat (Bauer *et al* dalam Huda, dkk., 2012). Di atas medium MHA diletakkan kertas cakram steril yang telah direndam dengan ekstrak metanol p.a, kloroform p.a dan n-

heksana p.a dengan konsentrasi 75% selama 60 menit. Dilakukan kontrol positif dengan merendam kertas cakram pada kloramfenikol sebanyak 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 100 pelarut (PEG 400) dan kontrol negatif menggunakan PEG 400. Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Suganda, 2003).

3.5.6 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum KHM dan KBM

Penentuan KHM dan KBM dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi padat menggunakan *microplate* steril. KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal dari ekstrak daun patikan kebo yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, sedangkan KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal yang mampu membunuh bakteri uji, yang ditunjukkan dengan tidak adanya koloni atau jumlah koloni $< 0,1$ % dari *Original Inoculum* (Winarsih, dkk, 2011).

Original Inoculum adalah kontrol kuman yang berisi bakteri uji dan media. Selain kontrol kuman, digunakan juga kontrol bahan yang berisi bahan uji (ekstrak daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*)) dan aquades steril untuk mengetahui ada tidaknya mikroba yang tumbuh pada bahan uji (Prihantoro, dkk, 2006).

a) Penentuan nilai KHM

Penelitian ini menggunakan metode pengenceran secara bertingkat. Tahap dilusi diulang tiga kali untuk masing-masing bakteri. Suspensi bakteri yang digunakan adalah dengan konsentrasi 10^6

CFU/mL dengan media NB. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati kekeruhan dari tiap konsentrasi. Nilai KHM ditentukan dari konsentrasi uji yang mempunyai larutan lebih keruh dari kontrol mikroba.

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi sebagai berikut 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62,5 mg/ml, 31,25 mg/ml, 15,6 mg/ml, 7,8 mg/ml, 3,9 mg/ml terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pertama-tama dibuat konsentrasi 1000000 mg/ml, selanjutnya ekstrak 1000000 mg/ml dimasukkan ke dalam sumuran pertama sebanyak 200 µl (sebagai kontrol bahan) dan ke dalam sumuran kedua dimasukan 150 µl ekstrak dan ketiga sebanyak 100 µl ekstrak. Kemudian sumuran ke-4 diisi 50 µl ekstrak, selanjutnya dari sumuran ke-3 sampai ke-10 diisi dengan aquades steril sebanyak 100 µl kecuali pada sumuran ke 4 dimasukan 50 µl. Setelah itu, dari sumuran ke-4 diambil 100 µl dan diletakkan di sumuran ke-5. Proses ini dilakukan hingga sumuran ke-9. Pada sumuran ke-9, larutan sebanyak 100 µl dibuang. Selanjutnya, dari sumuran ke-2 hingga ke-10, ditambahkan bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) sebanyak 100µl kecuali pada sumuran ke 2 sebanyak 50 µl. Pada sumuran pertama disebut kontrol bahan. Pada sumuran ke-2 hingga ke-9 merupakan perlakuan uji, sedangkan pada sumuran terakhir disebut kontrol mikroba.

Tahap dilusi tersebut diulang tiga kali untuk masing-masing bakteri Suspensi bakteri yang digunakan adalah dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL dengan media NB. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

Setelah 24 jam, diamati kekeruhan dari tiap konsentrasi. Nilai KHM ditentukan dari konsentrasi uji yang mempunyai larutan lebih keruh dari kontrol mikroba.

b) Penentuan Nilai KBM

Pada tahap penentuan KBM dalam penelitian ini yaitu dari masing-masing *micro plate* selanjutnya diambil satu mikrolit dan ditanam pada media padat dengan menggunakan metode *drop plate* pada medium padat NA. Kemudian medium NA diinkubasi lagi pada suhu 37 °C selama 8 jam. Disebut KBM jika pertumbuhan koloni kuman 0,1 % dari jumlah koloni kontrol kuman (kuman mati sejumlah 99,9 %). Hal ini sesuai menurut (Dzen et al., 2003; Winarsih, 2011) bahwa nilai KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada medium NA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium NA.

3.5.7 Perhitungan Koloni Bakteri Secara “Drop Plate”

Setelah biakan di inkubasi selama 8 jam pada suhu 37°C lalu dilakukan pengamatan biakan bakteri dan dihitung dengan menggunakan APD *Colony Counter*. Biakan yang dihitung Diambil koloni yang tumbuh sesuai dengan standar *plate count* yaitu 30-300 koloni per tetes. Adapun cara menghitung koloni adalah sebagai berikut:

- a) Satu koloni dihitung 1 koloni
- b) Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni
- c) Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni

- d) Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni
- e) Satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dihitung sebagai 1 koloni
- f) Satu koloni yang membentuk satu deretan atau rantai dan terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai 1 koloni.
- g) Dari hasil penghitungan yang dilakukan, kemudian dihitung jumlah koloni per ml dengan cara sebagai berikut:

$$\text{jumlah koloni} = \text{jumlah koloni tiap cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengencer}}$$

Faktor pengenceran = pengenceran \times jumlah yang diencerkan.

3.5.8 Analisis Data Uji Antibakteri

Data yang diperoleh dari uji antibakteri adalah besarnya zona hambat, nilai KHM, nilai KBM dan total koloni bakteri. Total koloni dari uji KHM dan KBM dihitung menggunakan APD *colony counter*. Data yang diperoleh tersebut dianalisa secara deskriptif kualitatif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan Variasi Pelarut

Pengujian daya hambat ekstrak daun patikan kebo terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ini menggunakan metode kertas cakram (*Kirby Bauer*) atau metode cakram kertas. Hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa semua ekstrak daun patikan kebo memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, hal tersebut dapat terlihat dari zona bening yang muncul di sekitar kertas cakram.



Gambar 2.5 Zona hambat pada uji antimikroba menggunakan kertas cakram; a) bakteri *E. coli*; b) bakteri *S. aureus*

Untuk hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun patikan kebo terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rerata (*mean*) dan simpang baku (SD) zona hambat ekstrak daun patikan kebo terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Sampel	Rata-rata (mm)±SD	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Patikan kebo etanol	12,94±0,61	7,42±0,36
Patikan kebo kloroform	8,72±0,36	6,05±0,33
Patikan kebo n-heksana	4,95±0,06	11,85±0,23
Kontrol Positif (kloramfenikol)	31,17±0,40	25,83±0,43
PEG 400	0	0

Berdasarkan data rata-rata hasil uji zona hambat pada Tabel 4.1 diatas dapat diketahui bahwa zona hambat yang paling besar terdapat pada kontrol positif yang menggunakan kloramfenikol, yaitu sebesar 31,17 mm untuk bakteri *S. aureus* sedangkan pada bakteri *E. coli* sebesar 25,83 mm. Kloramfenikol termasuk antibiotik yang paling stabil, senyawa ini dapat dengan cepat dan hampir sempurna diabsorpsi oleh saluran pencernaan. Menurut Katzung (2004), kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik gram positif maupun gram negatif. (Pelczar dan Chan, 2005).

Mekanisme kloramfenikol dalam menghambat bakteri dengan bergabung pada subunit-subunit ribosom, sehingga mencegah bergabungnya asam amino menjadi protein sehingga sintesis asam amino bakteri terganggu, bahkan tidak berlangsung. Hal tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri. Antibiotik dengan mekanisme mengganggu sintesis protein memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi (Katzung, 2004). Zona hambat kloramfenikol lebih besar dibanding dengan zona hambat pada ekstrak daun patikan kebo dengan pelarut etanol, kloroform, dan n-

heksan. Hal ini karena kloramfenikol merupakan senyawa murni, sedangkan ekstrak daun patikan kebo merupakan ekstrak kasar dan masih mengandung berbagai senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuan fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Adapun kategori rerata diameter penghambatan antibakteri bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kategori Rerata Diameter Penghambatan Zat Antibakteri

Diameter Zona Hambat	Daya Hambat Pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Sumber: Davis dan Stout (1971)

Penggunaan pelarut yang berbeda dalam proses ekstraksi daun patikan kebo mempengaruhi hasil dari zona hambat. Tabel 4.1 menunjukkan bahwa pada uji efektivitas antibakteri *S. aureus* pelarut yang menghasilkan zona hambat paling besar adalah pelarut etanol yaitu sebesar 12,94 mm yang masuk dalam kategori zona hambat kuat. Hal tersebut dikarenakan pelarut etanol bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa aktif yang bersifat polar secara optimal. Senyawa aktif yang bersifat polar adalah flavonoid, tanin, dan glikosida. Pernyataan tersebut dikuatkan dengan laporan penelitian hasil skrining fitokimia ekstrak daun patikan kebo oleh Geidam (2007) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun patikan kebo mengandung tanin, karbohidrat, flavonoid, steroid, saponin. Selain itu, besarnya zona hambat ekstrak etanol daun patikan kebo disebabkan oleh bakteri *S. aureus* yang memiliki

peptidoglikan bersifat polar sehingga mengakibatkan sensitivitas yang dihasilkan juga cukup tinggi.

Flavonoid bekerja sebagai senyawa antibakteri dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler pada bakteri sehingga terjadi denaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Semakin lipofilik suatu flavonoid, maka kemampuannya dalam merusak dinding sel akan semakin kuat. Sedangkan tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba. Selain itu juga dapat menginaktifkan enzim serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1999).

Menurut Jawetz (2005) kandungan flavonoid pada daun patikan kebo efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti *S. aureus*. Flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar. Disamping itu pada dinding sel Gram positif mengandung polisakarida (asam teikoat) yang merupakan polimer larut dalam air, yang berfungsi sebagai transfer ion positif untuk keluar masuk (Gritter *et al.*, 1991). Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel Gram positif lebih polar. Aktivitas penghambatan oleh senyawa aktif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan pelindung sel dari lisis osmotik, dengan terganggunya dinding sel maka akan menyebabkan sel menjadi lisis (Volk dan Wheeler, 1993).

Pelarut kloroform menghasilkan zona hambat sebesar 8,72 mm yang masuk dalam kategori sedang. Pelarut kloroform ini bersifat semi polar sehingga dimungkinkan penarikan senyawa aktif dalam ekstrak daun patikan kebo tidak sebanyak pelarut etanol yang bersifat polar, hal tersebut menyebabkan senyawa aktif yang menembus sel bakteri *S. aureus* lebih sedikit dan zona hambat yang dihasilkan

lebih kecil daripada pelarut polar seperti etanol. Menurut Geidam (2007) hasil fitokimia ekstrak kloroform daun patikan kebo menunjukkan adanya senyawa aktif saponin. Uji fitokimia senyawa aktif saponin ditandai dengan timbulnya busa, hal tersebut menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Senyawa saponin cenderung tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri ialah dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis dan metabolisme menjadi terganggu, akhirnya sel bakteri tidak dapat tumbuh dan berkembang (Astarina, 2013).

Pelarut n-heksan menghasilkan zona hambat yang paling kecil dibandingkan dengan pelarut lainnya yaitu sebesar 4,95 mm yang masuk dalam kategori lemah. Hal tersebut terjadi karena pelarut n-heksan merupakan pelarut yang bersifat non-polar sehingga senyawa aktif dalam daun patikan kebo yang dapat ditarik oleh pelarut tersebut adalah senyawa yang tidak larut dalam air, seperti saponin, terpenoid dan alkaloid, sedangkan bakteri *S. aureus* memiliki dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan yang bersifat polar, sehingga senyawa aktif yang tertarik oleh pelarut non polar tersebut sulit untuk menembus dinding sel bakteri *S. aureus* dan mengakibatkan sensitivitas yang dihasilkan lebih lemah (Gritter *et al.*, 1991).

Zona hambat ekstrak daun patikan kebo yang dihasilkan oleh masing –masing pelarut berbeda-beda, sesuai dengan kadar antibakteri yang dapat ditarik oleh pelarut tersebut. Tertariknya senyawa aktif antimikroba oleh pelarut polar, semi

polar, dan non polar tidak terlepas dari kehendak Allah ﷻ. Sebagaimana firmanNya dalam surah Al-A'la ayat 3 sebagai berikut:

وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ

Artinya: *Dan dzat (Allah) yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk (QS. Al-A'la: 3).*

Allah ﷻ adalah dzat yang mengatur segala hal dan menentukan kadar apapun yang ada di alam semesta ini, termasuk kadar senyawa aktif antibakteri yang ada pada daun patikan kebo yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal ini tidaklah terlepas dari kekuasaan Allah ﷻ.

Dari uji zona hambat ekstrak daun Patikan Kebo terhadap bakteri *E. coli* diketahui bahwa pelarut yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* adalah ekstrak n-heksan yaitu sebesar 11,85 mm yang masuk dalam kategori zona hambat kuat. Hasil fitokimia Fatimah (2012) ekstrak n-heksan daun patikan kebo menunjukkan adanya senyawa alkaloid, glikosida, dan minyak atsiri. Menurut Ajizah (2004) minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan mikroba dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel sehingga membran dan dinding sel tersebut tidak terbentuk secara sempurna.

Alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa tersebut. Senyawa alkaloid memanfaatkan sifat reaktif gugus basanya. Gugus basa pada alkaloid apabila mengalami kontak akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan juga DNA bakteri, yang merupakan penyusun utama inti sel dan merupakan pusat

pengaturan segala kegiatan sel. Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereaksi dengan senyawa asam dalam hal ini adalah asam amino. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino karena sebagian besar asam amino telah bereaksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid (Karou, 2006).

Menurut Harbone (1987) pelarut nonpolar seperti n-heksan dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid, dan minyak. Besarnya hasil zona hambat tersebut disebabkan karena di dalam dinding sel bakteri *E. coli* terdapat lapisan lipid yang bersifat non polar, sehingga hanya senyawa-senyawa tertentu yang bersifat non polar saja yang dapat melewati dinding sel bakteri *E.coli*, seperti minyak atsiri dan steorid.

Bakteri gram negatif seperti *E. coli* lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa lipid bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik. Membran luar *E. coli* terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipida yang bersifat non polar (Jawetz, 1996).

Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun patikan kebo pada uji zona hambat bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat sebesar 7,42 mm yang masuk dalam kategori zona hambat sedang. Dinding sel bakteri *E. coli* lebih sulit ditembus senyawa yang bersifat polar karena struktur dinding sel bakteri ini berlapis tiga yang tersusun atas sedikit lipid dan lipid dengan kadar yang tinggi yaitu 11-22% (Jawetz, 1996). Senyawa aktif dalam daun patikan kebo yang dapat ditarik oleh pelarut etanol yang bersifat polar diantaranya adalah flavonoid.

Harbone (1987) menyatakan bahwa Flavonoid merupakan senyawa fenolik, golongan flavonoid meliputi kalkon, flavon, isoflavon, flavonol, dan flavonon serta katekin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Ekstrak kloroform daun patikan kebo pada uji zona hambat bakteri *E. coli* adalah sebesar 6,05 mm yang masuk dalam kategori sedang. Pelarut kloroform merupakan pelarut bersifat semi polar, sehingga senyawa aktif ekstrak daun patikan kebo yang dapat ditarik oleh pelarut ini hanya senyawa-senyawa aktif yang bersifat semi polar saja, seperti saponin dan alkaloid. Oleh karena itu penghambatan bakteri *E. coli* yang mempunyai dinding sel bersifat non polar tidak sebesar pada perlakuan pelarut n-heksan.

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak daun patikan kebo terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi terbentuknya zona hambat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Astarina (2013) yang menyatakan bahwa pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menarik sebagian besar metabolit sekunder. Pernyataan tersebut didukung oleh Husnah (2009) yang menjelaskan bahwa dalam proses ekstraksi perlu dilakukan variasi pelarut karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri dalam ekstrak belum diketahui sifat kepolarannya. Perbedaan hasil zona hambat bakteri *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif lebih besar dibandingkan dengan zona hambat pada bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri.

Staphylococcus aureus yang merupakan bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif yang lebih kompleks sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif. Hal ini sesuai pendapat Zuhud (2001) yang menyatakan bahwa bakteri gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antibakteri dibandingkan bakteri gram positif.

Menurut Ajizah (2004) dinding sel bakteri gram positif terdiri atas peptidoglikan sangat tebal yang memberikan kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel, dinding sel Gram negatif mengandung lipopolisakarida yang membantu melindungi bakteri dari senyawa antibakteri.

Pelczar dan Chan (2005) menyatakan bahwa bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel yang relatif sederhana dibandingkan dengan bakteri gram negatif, bakteri *E. coli* adalah bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan yang tebal dan lapisan dalam lipopolisakarida. Struktur dinding sel bakteri gram positif yang lebih sederhana tersebut memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran bekerja. Sedangkan dinding sel yang kompleks menimbulkan hambatan bagi senyawa antibakteri untuk menembus membran sel bakteri, sehingga *E. coli* kurang peka terhadap senyawa antibakteri tersebut.

Bakteri *E. coli* memiliki lapisan dinding sel yang dilapisi oleh membran luar yang terdapat protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida, serta ruang periplasmik,

sehingga pada media yang ditumbuhi bakteri *E. coli* terbentuk zona hambat yang relatif kecil. Sedangkan bakteri *S. aureus* memiliki lapisan dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal, asam teikoat, sedikit lipid sehingga pada media yang ditumbuhi bakteri *S. aureus* akan terbentuk zona hambat yang relatif besar (Ibrahim, 2007).

Perbedaan pelarut pada proses ekstraksi merupakan faktor yang dapat mempengaruhi hasil senyawa fitokimia yang tertarik saat proses ekstraksi. Meskipun sampel yang diekstrak berasal dari tanaman yang sama, dan bakteri yang diuji merupakan bakteri yang sama akan tetapi senyawa aktif yang ditarik dari ekstrak daun patikan kebo berbeda-beda dengan adanya perbedaan pelarut. Hal ini dapat diambil pelajaran bahwa sesungguhnya ini tidak terlepas dari iradah dan kuasa Allah ﷻ, sebagaimana firmanNya dalam surahAl-Hijr ayat 19 sebagai berikut.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ

Artinya: *Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran.*

Menurut Hasan (2015) dalam Abdullah (2007) Kalimat كل شيء موزون menurut Ibnu Abbas artinya adalah segala sesuatu dengan ukuran, arti dari *mauzuun* adalah maklum (diketahui atau tentu). Demikian juga dikatakan oleh Sa'id bin Zubair, Abu Malik, Abu Hakam bin 'Uayinah sebagian ulama mengatakan maksud *mauzun* adalah kadar yang ditentukan.

4.2 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Daun Patikan kebo terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ini menggunakan sepuluh macam konsentrasi ekstrak daun patikan kebo yaitu 500 mg/ml, 250 mg/ml, 125 mg/ml, 62,5 mg/ml, 31,25 mg/ml, 15,6 mg/ml, 7,8 mg/ml, 3,9 mg/ml, dan konsentrasi 0% sebagai kontrol kuman (bakteri *S. aureus* dan *E. coli*) serta konsentrasi 1000000 mg/ml sebagai kontrol negatif (kontrol bahan).

Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) pada kedua bakteri tersebut menunjukkan bahwa pada semua perlakuan, nilai KHM-nya terdapat pada konsentrasi yang sama yaitu 250 mg/ml, nilai KHM yang sama pada semua perlakuan dimungkinkan adanya senyawa aktif yang sama yang tertarik oleh ketiga pelarut sehingga kemampuan menghambatnya ada pada konsentrasi yang sama, sedangkan KBM-nya terdapat pada konsentrasi 500 mg/ml. Dalam uji KHM pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* jumlah koloni yang dihasilkan pada setiap perlakuan pelarut ekstrak menghasilkan jumlah koloni bakteri yang berbeda-beda.

Berdasarkan hasil pengamatan, pada konsentrasi 250 mg/ml pertumbuhan bakteri sangat sedikit yang ditandai kejernihan yang tampak pada media, sedangkan pada konsentrasi 3,9 mg/ml, 7,8 mg/ml, 15,6 mg/ml, 31,25 mg/ml, 62,5 mg/ml, dan 125 mg/ml terlihat media semakin keruh, meskipun dari hasil pengamatan semakin tinggi konsentrasinya maka kekeruhan yang tampak pada media tersebut semakin berkurang. Oleh karena itu, maka dapat diketahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak daun patikan kebo terhadap bakteri *S. aureus* berada pada konsentrasi 250 mg/ml. Pada konsentrasi yang sudah disebutkan tadi masih

diperlukan adanya perhitungan koloni untuk mengetahui jumlah koloni yang tumbuh pada media, berbeda pada konsentrasi 500 mg/ml yang terlihat bening, hal tersebut menunjukkan tidak ada bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 500 mg/ml tersebut, sehingga pada konsentrasi 500 mg/ml merupakan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Hal ini sesuai dengan pendapat Dwijayanti (2011) bahwa konsentrasi bunuh minimum (KBM) terdapat pada konsentrasi yang sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan mikroba. Jumlah koloni tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbedaan Hasil Uji KHM dan KBM ekstrak daun patikan kebo dengan pelarut etanol, kloroform, dan n-heksan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sampel	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)					
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	Etanol	Klorofom	n-heksan	Etanol	Kloroform	n-heksan
Kontrol mikroba	$1,29 \times 10^{14}$	$1,29 \times 10^{14}$	$1,29 \times 10^{14}$	$1,57 \times 10^{15}$	$1,57 \times 10^{15}$	$1,57 \times 10^{15}$
0,39%	$1,14 \times 10^{14}$	$1,19 \times 10^{14}$	$1,21 \times 10^{14}$	$1,49 \times 10^{15}$	$1,52 \times 10^{15}$	$1,52 \times 10^{15}$
0,78%	$1,07 \times 10^{14}$	$1,16 \times 10^{14}$	$1,13 \times 10^{14}$	$1,43 \times 10^{15}$	$1,42 \times 10^{15}$	$1,43 \times 10^{15}$
1,56%	$0,91 \times 10^{14}$	$1,11 \times 10^{14}$	$1,09 \times 10^{14}$	$1,32 \times 10^{15}$	$1,35 \times 10^{15}$	$1,35 \times 10^{15}$
3,13%	$0,83 \times 10^{14}$	$1,03 \times 10^{14}$	$0,93 \times 10^{14}$	$1,25 \times 10^{15}$	$1,33 \times 10^{15}$	$1,24 \times 10^{15}$
6,25%	$7,27 \times 10^{13}$	$9,5 \times 10^{13}$	$1,13 \times 10^{13}$	$1,32 \times 10^{14}$	$1,19 \times 10^{14}$	$1,32 \times 10^{14}$
12,50%	$8,8 \times 10^{12}$	$8,62 \times 10^{12}$	$3,55 \times 10^{12}$	$1,30 \times 10^{14}$	$1,34 \times 10^{13}$	$1,26 \times 10^{13}$
25,00%	$7,23 \times 10^8$	$6,21 \times 10^9$	$1,14 \times 10^9$	$1,35 \times 10^9$	$1,29 \times 10^9$	$1,23 \times 10^9$
50,00%	0	0	0	0	0	0
Kontrol Bahan	0	0	0	0	0	0

Keterangan  : Konsentrasi Hambat Minimum
 : Konsentrasi Bunuh Minimum

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa kontrol bakteri *S. aureus* pada masing-masing pelarut mengandung jumlah bakteri yang paling banyak yaitu 1,29

$\times 10^{14}$ CFU/mL. Dari hasil perhitungan jumlah koloni pada masing-masing pelarut ekstrak yang digunakan dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah koloni mengalami penurunan. Menurut Pelczar dan Chan (2005) semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka penghambatan pertumbuhan bakteri semakin tinggi pula. Yanti (2014) juga menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula penghambatan terhadap bakteri uji sehingga pada konsentrasi tinggi total koloni semakin sedikit.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang dihasilkan oleh semua pelarut hasilnya sama yaitu untuk KHM 250 mg/ml sedangkan untuk KBM 500 mg/ml. Namun terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *S. aureus* dalam konsentrasi hambat minimum pada masing-masing pelarut yang digunakan. Pada pelarut etanol jumlah koloni bakterinya adalah $7,23 \times 10^8$ CFU/mL, jumlah ini merupakan yang paling sedikit diantara pelarut yang digunakan, ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang dapat ditarik oleh pelarut metanol bekerja secara baik.

Sedikitnya jumlah koloni bakteri pada perlakuan ekstrak etanol daun patikan kebo disebabkan karena pelarut etanol yang bersifat polar dapat menarik senyawa-senyawa aktif pada daun patikan kebo seperti flavonoid, steroid dan tannin. Menurut Harborne (1987) bahwa senyawa aktif tanin tersebar luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Senyawa tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri (Pratiwi, 2008). Selain itu, sedikitnya koloni bakteri dipengaruhi juga oleh peptidoglikan *S. aureus* yang bersifat polar.

Menurut Volk dan Wheeler (1993) senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun patikan kebo bersifat polar, sehingga dapat dengan mudah untuk menembus lapisan peptidoglikan pada bakteri *S. aureus* yang memiliki sifat polar juga. Flavonoid bersifat lipofilik sehingga memungkinkan senyawa aktif tersebut merusak membran mikroba. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan dinding sel mikroba. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel mikroba semakin kuat (Cowan,1999).

Pelarut kloroform dalam konsentrasi hambat minimum ini menghasilkan jumlah koloni bakteri sebanyak $6,21 \times 10^9$ CFU/ml, jumlah ini lebih banyak daripada yang dihasilkan oleh etanol. Hal ini dapat disebabkan oleh sifat dari pelarut yang semi polar sedangkan peptidoglikan bakteri *S. aureus* bersifat polar sehingga pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus* lebih banyak dibandingkan pelarut etanol.

Jumlah koloni bakteri pada pelarut n-heksan yaitu sebanyak $1,14 \times 10^9$ artinya jumlah koloni bakteri ini paling banyak diantara ketiga pelarut yang digunakan. Banyaknya jumlah koloni bakteri *S. aureus* pada ekstrak n-heksan dimungkinkan karena pelarut n-heksan merupakan pelarut non polar, sehingga senyawa antibakteri ekstrak daun patikan kebo yang dapat ditarik oleh pelarut tersebut adalah non polar juga.

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa kontrol bakteri *E. coli* pada masing-masing pelarut mengandung jumlah bakteri yang paling banyak yaitu $1,57 \times 10^{15}$ CFU/mL. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dari semua pelarut yang digunakan pada uji bakteri *E. coli* ini yaitu pada konsentrasi 250 mg/ml. Pelarut n-heksan pada konsentrasi 500 mg/ml menghasilkan jumlah koloni bakteri yang

paling sedikit yaitu $1,23 \times 10^9$ CFU/ml, hal ini dapat disebabkan oleh senyawa aktif yang ada pada ekstrak daun patikan kebo seperti minyak atsiri yang bekerja mengendalikan pertumbuhan bakteri *E. coli*. Bakteri memiliki lapisan lipid pada dinding selnya, lipid sendiri bersifat non polar sehingga minyak atsiri yang bersifat non polar juga akan mudah untuk menembus dinding sel bakteri *E. coli* sehingga minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* tersebut.

Menurut Volk dan Wheeler (1988) komponen khusus dinding sel bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif adalah protein, fosfolipida, dan lipopolisakarida. Dinding luar yang dimiliki oleh bakteri *E. coli* mempunyai sifat permeabilitas yang tinggi sehingga senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun patikan kebo sulit untuk masuk ke dalam sel bakteri, akibatnya penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* kecil tidak seperti penghambatan pada bakteri *S. aureus*.

Jumlah koloni bakteri *E. coli* pada pelarut kloroform yaitu $1,29 \times 10^9$ CFU/mL, sedangkan jumlah koloni bakteri *E. coli* pada pelarut etanol adalah $1,35 \times 10^9$ CFU/ml. Jumlah ini lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri pada pelarut n-heksan. Hal ini dapat disebabkan karena kedua pelarut tersebut bersifat semi polar dan polar, sedangkan dinding sel bakteri *E. coli* bersifat non polar.

Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks yaitu berlapis tiga terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah. Lipopolisakarida berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif antibakteri, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid yang tinggi (Jawetz, 2005).

Manfaat mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah menemukan konsentrasi yang sesuai dengan yang dibutuhkan oleh tubuh manusia ketika mengalami masalah penyakit diare yang disebabkan oleh *E. coli* dan *S. aureus*. Segala sesuatu harus digunakan sesuai dengan kadar atau ukurannya, hal tersebut sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam surah Al –furqan ayat 2 berikut ini.

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan (Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (QS. Al-Furqon ayat 2).

Menurut tafsir Al-aisar (al-jazairi, 2008) kalimat **فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا** bermakna bahwa Allah ﷻ menetapkan suatu ukuran dengan serapi-rapinya tanpa ada kesalahan di dalamnya, tidak perlu penambahan atau pengurangan, semua ukuran yang telah ditetapkan oleh Allah ﷻ itu merupakan kemaslahatan bagi manusia. Apabila dikorelasikan dengan penelitian KHM dan KBM ini jadi penggunaan konsentrasi ekstrak daun patikan kebo ini kurang dari nilai KHM, maka kemungkinan ekstrak daun patikan kebo tersebut tidak dapat menghambat bakteri penyebab diare karena konsentrasinya terlalu kecil, sebaliknya apabila penggunaan konsentrasi ekstrak daun patikan kebo terlalu besar misalnya lebih dari 1000000 mg/ml maka akan terjadi dosis yang berlebih. Hal tersebut merupakan suatu hal yang berlebihan yang tidak disukai dalam agam islam, sesungguhnya sesungguhnya sebaik-baiknya urusan

adalah yang sedang-sedang saja. Allah ﷻ menjelaskan tentang sikap yang berlebihan dalam surah Al-‘Araf ayat 31:

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

Artinya: Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di Setiap (memasuki) mesjid, Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.

Dalam ayat tersebut terdapat kalimat لا تسرفوا yang artinya “janganlah kalian berlebihan”. Kata *La* pada kalimat tersebut merupakan *La nahyi* artinya larangan, Allah ﷻ melarang manusia untuk berperilaku berlebih-lebihan dalam segala hal. لا تسرفوا berasal dari kata اسرف-اسرف-اسرافا yang secara harfiah artinya berlebih-lebihan, arti secara istilah israf adalah perilaku melampaui batas dari aturan-aturan yang sudah ditentukan hanya untuk mengikuti nafsu dari syaitan semata (Al-jazairi, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri ekstrak daun patikan kebo terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*, maka dapat diketahui bahwa ekstrak daun patikan kebo mempunyai manfaat untuk membantu mengatasi masalah penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini sesuai dengan hadits yang disampaikan oleh Rasulullah ﷺ berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

Artinya: Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya, obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahui dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim)

Hadits di atas menjelaskan bahwa segala penyakit yang menimpa manusia akan ada obatnya yang diturunkan oleh Allah ﷻ obat untuk menyembuhkan penyakit tersebut hanya dapat ditemukan oleh orang yang mau berfikir dan meneliti

untuk mencari solusi alternatif mengatasi penyakit tersebut, dan obat tersebut tidak dapat diketahui serta ditemukan oleh orang yang hanya diam tanpa adanya keinginan untuk meneliti. Namun untuk mendapatkan kesembuhan atas penyakit tidak cukup dengan hanya obat saja, ada faktor yang paling menentukan yaitu kehendak Allah ﷻ sebagaimana firman Allah ﷻ dalam surah Asyu'ara ayat 80 sebagai berikut.

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya : *Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku* (QS. Asyu'ara: 80)

Ayat alquran diatas menegaskan bahwa yang dapat menyembuhkan terhadap segala macam penyakit hanyalah Allah ﷻ dan yang menghilangkan bencana hanya Allah semata. Obat-obatan atau berbagai sarana lain yang digunakan oleh manusia untuk menyembuhkan penyakit hanya sebagai *ikhtiar* atau upaya yang dilakukan oleh manusia untuk mempermudah kesembuhan. Ayat diatas didukung oleh hadits yang disampaikan oleh Rasulullah ﷺ sebagai berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: *“Setiap penyakit ada obatnya, apabila obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh dengan izin Allah ‘Azza wa Jalla.”*
(HR.Muslim)

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit apapun yang di derita oleh mahluk Allah ﷻ ada obatnya, oleh karena itu sudah sepatutnya manusia sebagai mahluk yang lemah, yang tidak mempunyai daya dan upaya untuk melakukan apapun kecuali dengan kehendak allah maka ketika suatu penyakit menimpa dirinya mintalah kesembuhan kepada dzat yang maha pengasih dan

penyayang yakni Allah ﷻ yang disertai dengan upaya –upaya penyembuhan secara lahiriah.

Berdasarkan dari hasil penelitian terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) dengan penggunaan pelarut yang berbeda. Namun, penurunan jumlah koloni ini juga berbeda untuk setiap jenis pelarut yang digunakan. Perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif dari penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak daun Patikan kebo mampu membunuh bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Patikan kebo dengan pelarut tertentu terbukti efektif sebagai antibakteri.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Variasi pelarut ekstrak daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) berpengaruh terhadap zona hambat Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Pelarut yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah pelarut etanol p.a sedangkan pada bakteri *E. coli* pelarut yang paling efektif adalah pelarut n-heksan p.a.
2. Nilai KHM ekstrak daun Patikan Kebo terhadap bakteri *S. aureus* adalah pada konsentrasi 250 mg/ml dengan total koloni pada masing – masing pelarut adalah $7,23 \times 10^8$ (Etanol p.a). Sedangkan pada bakteri *E. coli* total koloni pada $1,23 \times 10^9$ (n-heksan p.a). Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum terdapat pada konsentrasi 500 mg/ml.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam melakukan uji KHM dan KBM ekstrak daun patikan kebo dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda dengan peneliti sebelumnya.
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis ini dengan menggunakan mikroorganisme yang lain, sehingga dapat mempertegas bahwa tumbuhan *Euphorbia hirta* dapat pula dibuktikan kemampuannya sebagai zat antifungi juga.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Ahmad, Mujahidin. 2015. Skrining Aktivitas Antioksidan Jamu Subur Kandungan Komersial. *Skrining Aktivitas Antioksidan El-Hayah*. Vol. 5. No. 2. Hal 89-95
- Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Salmonella typhirium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava*. *L Bioscientiae 1* (1): 31-38.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayyim. 1992. *Metode Pengobatan Nabi*. Penerjemah: Abu Umar Basyier Al-maidani, Edisi 7. Jakarta: Griya Ilmu.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir al-Qur'an Al-Aisar Jilid 4*, Alih Bahasa: Suratman dan Fityan Amali. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Al Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Quran Al-Qurthubi (Edisi Terjemahan)*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Ansel, H.C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi keempat. Jakarta: UI Press.
- Ar-Rifa'I, Muhammad Nasib. 2000. *Ringkasan Tafsir Ibnu Katsir*, Jilid 3. Jakarta: Gema Insani.
- Bernasconi, G. 1995. *Teknologi Kimia. Jilid 2. Edisi pertama*. Jakarta: PT. Pradaya Paramita.
- Brooks, G. F., J.S. Butel dan S.A Morse. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, melnick dan Adelberg*. Ahli bahasa: Huriawati Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Campbell and Reece. 2008. *Biologi*. Edisi Kedelapan Jilid 2. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Cowen, 2000. "Plant Products as Antimicrobial Agents". *Clinical Microbiology Reviews*. 12, (4).
- Davis & Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4.

- Dewanjee. 2008. "Evaluation of Antimicrobial Activity of Hydroalcoholic extract Schima wallichii bark". *Pharmacology online*.1, 523-528.
- Dewi, Fajar K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNS Surakarta.
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Dzulkarnain, B., Sundari dan A. Chozin. 1996. Tanaman Obat bersifat Antibakteri di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran* 110: 35-48
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fatimah, Cut. 2012. Skrining Fitokimia Dan Uji kemampuan Sebagai Antioksidan Dari daun jambu Biji. *Skripsi*. Medan: Universitas Tjut Nyak Dhien.
- Fatisa, Y. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan*. Vol 10. No. 1 (31-38).
- Ganiswarna, S. G. 2003. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-4, Jakarta: Universitas Indonesia.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. and Lilburn, T. G. 2004. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2nd Edition)*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Geidam, Y. A. , Ambali and P. A Onyeyili. 2007. Preliminary Phytochemical and antibacterial evaluation of crude aqueous extract of *Psidium guajava* leaf. *J. Applied Science*, 7: 511-514.
- Gritter, R. J, M. B James dan E. S. Arthur. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Guenther, E. 1990. Minyak Atsiri. Jilid IV A. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia.
- Hamdiyati, Y., Kusnadi, I. dan Hardian. 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermis*. Jurusan Pendidikan Biologi MIPA. Universitas Pendidikan Indonesia. *Jurnal Pengajaran MIPA*, 12(2).
- Harborne, 1987. Metode Fitokimia, *Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terjemahan K. Padmawinata. Edisi Ii. Bandung : ITB Press.
- Irianto, K. 2002. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*. Jakarta: Irama Pustaka.

- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi ke-20. Jakarta : EGC.
- Juliantina., Farida R. Manfaat Sirih (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap grampositif dan gram negatif. *JKKI – Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*; 2009 No 1 (I).hal, 5.
- Karou, D. Aly, S. Antonella, C. Saydou, Y Alfred ST. 2005. Antibacterial Activity of Fenom Alkaloid From The imported Fire and Solepnscsis Invicta Buren. *American Society For Microbiology*: 2 (4): 291-293.
- Karsinah. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi kedokteran*. Edisi ketiga. Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Kartasapoetra, G. 2004. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Katzung, B. G., 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi XIII. Buku 3. Translation of *Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition*. Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika
- Kementerian Kehutanan. 2010. *Rencana Strategis 2010-2014*. Jakarta: Menteri Kehutanan Republik Indonesia.
- Khopkar. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Penerjemah A. Saptorahardjo, dkk. Jakarta: UI Press.
- Khunaifi, Mufid. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi. Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas Sumber Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Surabaya: Penerbit Trubus Agrisarana.
- Kunkel, D. 2004. Dennis Kunkel Microscopy, Inc. Diunduh tahun 2016, dari *Science Stock Photography*: <http://www.denniskunkel.com/index.php>
- Madigan, M. T. 2000. “*Nutrition Metabolism*”, *Brock Biology of Microbiology*, Prentice- Hall.
- Muchsony MI. 1997. “Potensi Bioaktif Ekstrak Ranting Tumbuhan Betung (*Dysoxylum excelsum*) terhadap Mortalitas Larva Udang (*Artemia salina* L)”. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Nurhari, Ogi. 2010. Uji Fitokimia-Terpenoid. Bandung : Sekolah Tinggi Farmasi.
- Nychas G J E & C C Tassou. 2000. *Traditional Preservatives-oil and Spices. Encyclopedia of Food Microbiology*. London : Academic Press.

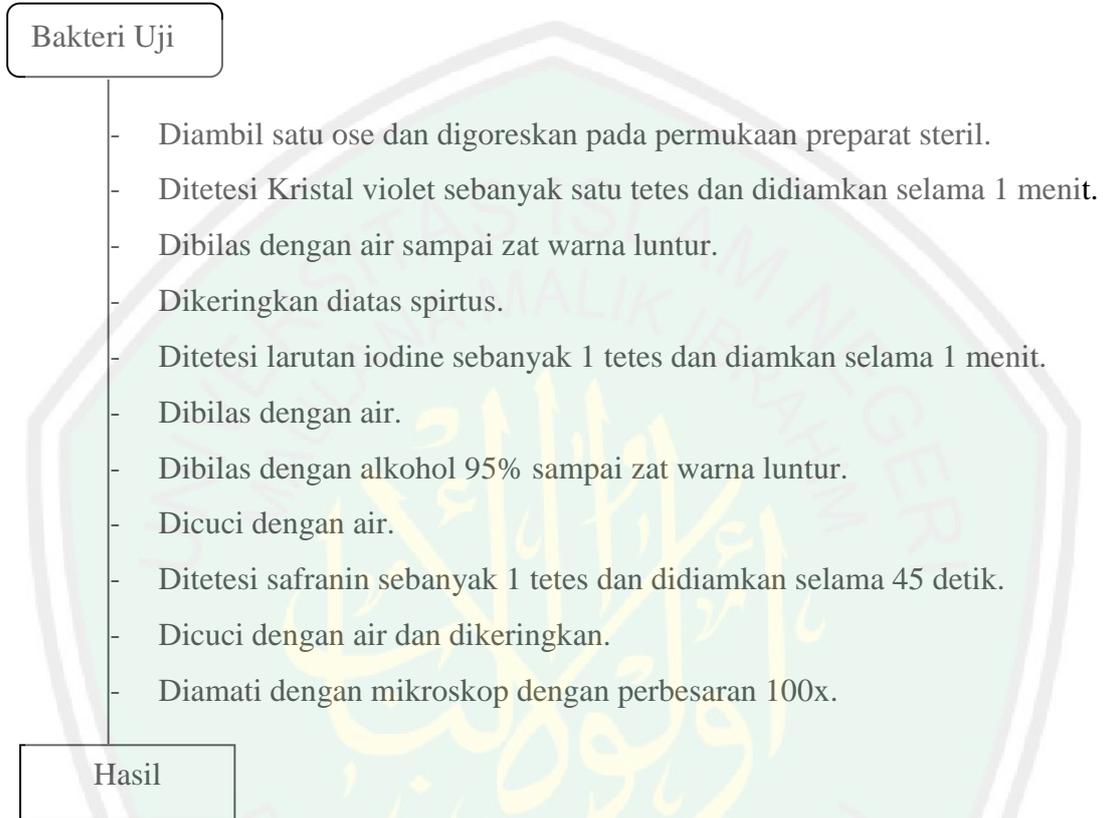
- Pelczar, M. J and E. C. S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Jakarta: UI-Press.
- Poedjiadi, A. 2006. *Dasar – Dasar Biokimia*. Edisi Revisi. Jakarta: UI - Press.
- Qurthubi, Syek Imam. 2009. *Tafsir al-Qurthubi Jilid 15*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT: Bumi Aksara.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Safitri, Ratu, Sasika, Sinta Novel. 2010. *Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Saman, Sri Iin, Nurhayati Bialangi, Wenny J. A. Musa. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavanoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rimpang Jeringau*. Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo (<http://eprints.ung.ac.id/4805/>).
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-misbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Sigit, Setyawati, dkk. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas Hydrophila* Secara *In Vitro*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 113 – 124
- Silaban, L. W. 2009. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dari kulit buah sentul (*Sandoricum koetjae* (burm. f.) Merr) terhadap beberapa bakteri secara in vitro. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sjahid, L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L) *Skripsi*. Diterbitkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Simanjuntak, Partomuan. 2008. Identifikasi Senyawa Kimia dalam Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*), Thymelaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol.6, No.1 ISSN 1693-1831.
- Sipahutar, H. S. 2000. Potensi Antibakteri Ekstrak Kunyit (*curcuma domstica*), Daun Jambu biji (*Psidium guajava* L.), Sirih (*Piper betle* L.) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophoila*. *Skripsi*. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan, IPB, Bogor
- Sofiani, Erma dan Mareta Ardian. 2014. Perbedaan Daya Antibakteri Antara Klorheksidin Diglukonat 2% dan Ekstrak Daun jambu Biji (*Psidium guajava*) Berbagai Konsentrasi (bakteri *Enterococcus faecalis*). *IDJ*, vol 3 No. 1

- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Edisi terjemahan (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro). Bandung: ITB press.
- Steenis, C. G. G. J., 2008. *Flora "Untuk Sekolah di Indonesia"*, Cetakan XII (Diterjemahkan), 211, PT. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Suganda, Asep Gana, Elin Yulinah Sukandar, dan Asep Abdul Rahman. 2003. Aktivitas Antibakteri Dan Antifungi Ekstrak Etanol Daun (*Allamanda cathartica*, L.) Dan (*Allamanda neriifolia*) Hook. Bandung: Departemen Farmasi FMIPA-ITB. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* ISSN 1412-2855 Vol. 2, No. 3
- Suriawiria, U. 1996. *Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Air Buangan Secara Biologis*. Bandung: Penerbit Alumni.
- Suryanto, E. dan F. Wehantouw. 2009. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Ekstrak fenolik Daun Sukun (*Artocarpus atilis* F.). *Chem. Prog.*, 2 (1).
- Umar, Zein, Khalid, Huda Zagala dan Josia, Ginting. 2004. *Diare Akut Disebabkan Bakteri*. Sumatera Utara : Universitas Sumatera Utara.
- WHO, 2009, Traditional medicine, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>, diakses Maret 2016.
- Winarno F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsih, Sri R. 2011. Hambatan Ekstrak Etanol Gel Lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap pertumbuhan Jamur *Candida albican* Isolat Vagina 218 SV Secara In vitro. *Jurnal Penelitian Mahasiswa. Program Studi pendidikan dokter*. Hal: 1-4.
- Zuhud, E. 2001. *Bukti kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

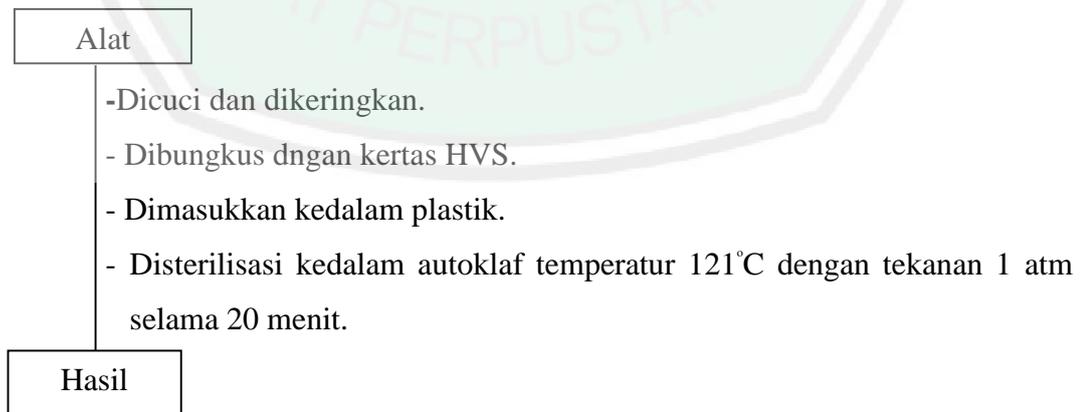
LAMPIRAN

Lampiran 1: Skema Kerja

a) Pewarnaan Gram



b. Sterilisasi



c. Pembuatan Media

NA

Ditimbang media NA 20 gram

- Dimasukkan kedalam erlenmeyer 1 L
- Ditambahkan aquades sebanyak 1 L.
- Dipanaskan diatas *hotplate*.
- Disterilisasi

Hasil

MHA

- Ditimbang media MHA 38 gram.
- Dimasukkan kedalam erlenmeyer 1 L.
- Ditambahkan aquades sebanyak 1 L.
- Dipanaskan diatas *hotplate*.
- Disterilisasi

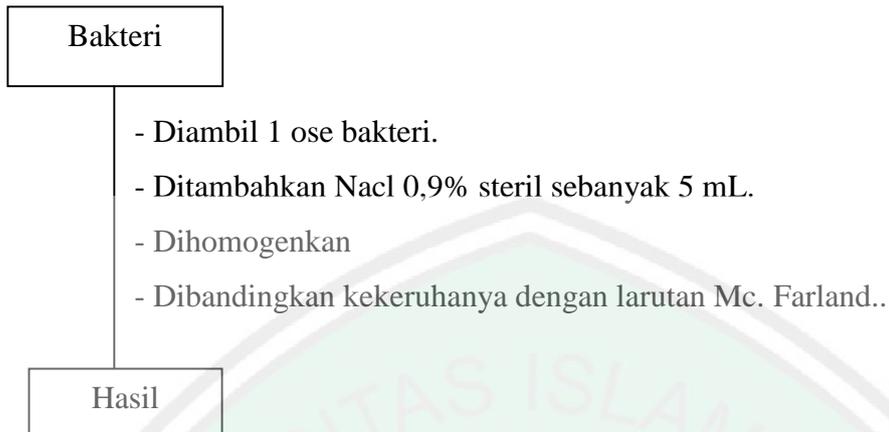
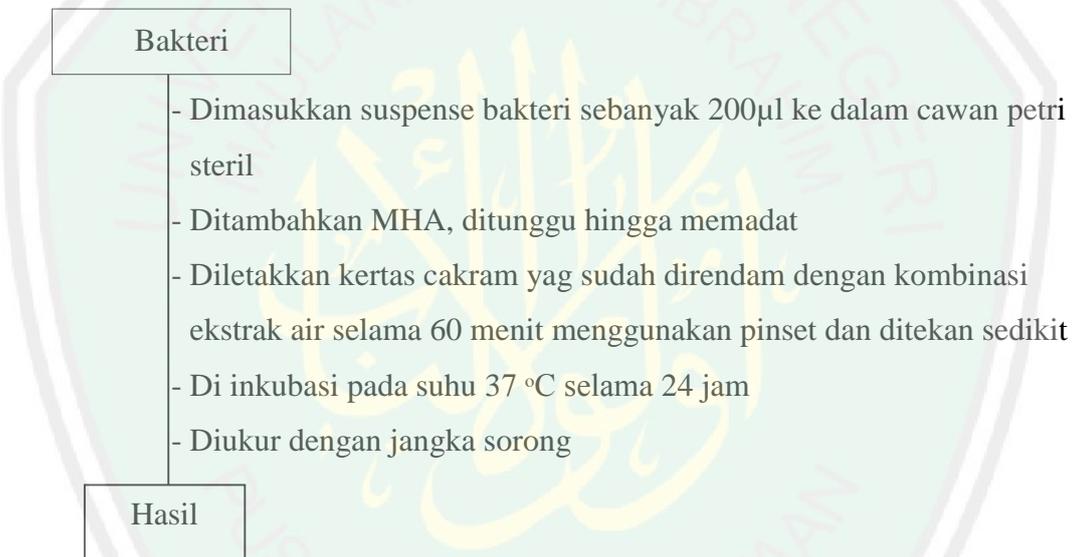
Hasil

d. Regenerasi Bakteri

Bakteri

- Diambil 1 ose dari stok yang akan digunakan.
- Diinokulasikan pada 5 ml media NA
- Diinkubasi selama 1x24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C.

Hasil

e. Pembuatan inokulum bakteri**f. Uji zona hambat**

g. Penentuan (KHM) dan (KMB)**Larutan uji**

- Diberi nomor 1-10 pada tabung steril yang sudah disiapkan (Keterangan : tabung no. 1: kontrol bahan, 2-9 : larutan uji, 10 : kontrol kuman)
- Dibuat larutan antibakteri dari ekstrak konsentrasi 1000000 mg/ml (ditambahkan *emulsion fyer/tween 80%*)
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 200µl pda tabung no.1
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100µl pda tabung no.2
- Dimasukkan ekstrak sebanyak 100µl pda tabung no.3
- Dimasukkan aquades 100µl pada tabung no.3 sampai dengan tabung no.10
- Dicampur (vortex) hingga rata tabung no.3,kemudian diambil 100µl dan ditambahkan kedalam tabung no.4
- Dikerjakan hal yang sama dimulai tabung no.4-9
- Pada tabung no.9 setelah larutan tercampur merata, larutan dibuang sebanyak 100µl
- Kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 100µl pada tabung no.2 - no.10
- Diinkubasi Selama 24 jam
- Diamati kekeruhanya
- Ditanam di media agar dan diinkubasi selama 8 jam

Hasil

Lampiran 2: Tabel Hasil

a. Hasil zona hambat Bakteri *S. aureus*

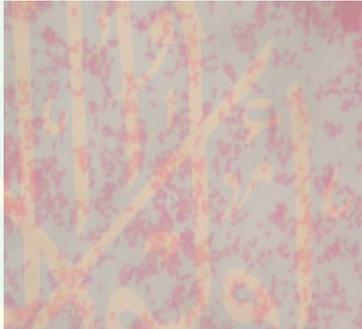
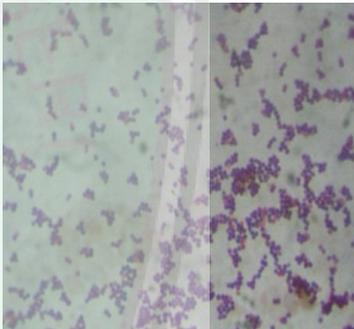
Perlakuan	Ulangan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata diameter zona hambat (mm)
		I	II	III	Rata-rata	
Etanol	1	12,77	12,45	12,53	12,58	12,94
	2	13,64	13,57	13,72	13,64	
	3	12,37	12,75	12,68	12,60	
					38,82 : 3	
Kloroform	1	9,25	8,42	8,65	8,77	8,72
	2	9,10	9,32	8,73	9,05	
	3	8,46	8,22	8,31	8,33	
					26,15 : 3	
n-heksan	1	5,55	6,05	6,29	5,96	6,03
	2	6,11	6,03	5,98	6,04	
	3	5,38	7,55	5,32	6,08	
					18,08 : 3	
Kloramfenikol	1	31,27	31,32	32,05	31,55	31,17
	2	31,51	30,25	31,86	31,21	
	3	30,69	30,74	30,84	30,76	
					93,52 : 3	

b. Hasil zona hambat bakteri *E. coli*

Perlakuan	Ulangan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata diameter zona hambat (mm)
		I	II	III	Rata-rata	
Etanol	1	7,35	6,22	7,55	7,04	7,42
	2	7,44	8,12	7,68	7,75	
	3	7,53	7,48	7,42	7,48	
					22,27 : 3	
Kloroform	1	6,08	5,75	6,65	6,16	6,05
	2	6,12	6,24	6,53	6,30	
	3	5,34	5,65	6,05	5,68	
					18,14 : 3	
n-heksan	1	11,72	11,58	11,48	11,59	11,85
	2	12,23	11,96	11,61	11,93	
	3	12,43	12,01	11,65	12,03	
					35,55 : 3	
Kloramfenikol	1	27,54	28,05	28,17	27,92	25,83
	2	28,20	27,94	29,02	22,39	
	3	26,90	27,65	27,02	27,19	
					77,50 : 3	

Lampiran 3: Dokumentasi Penelitian

a. Uji Pewarnaan gram

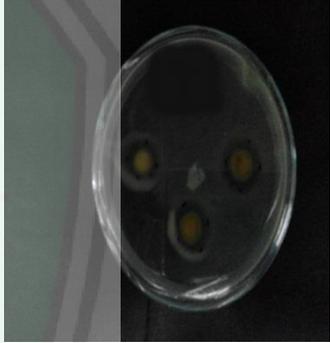
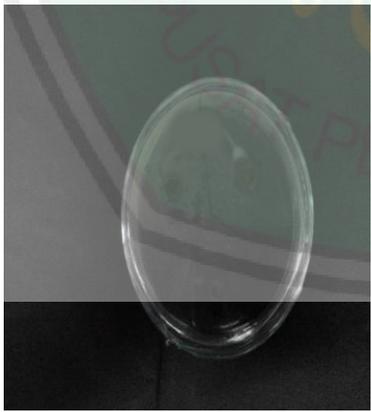
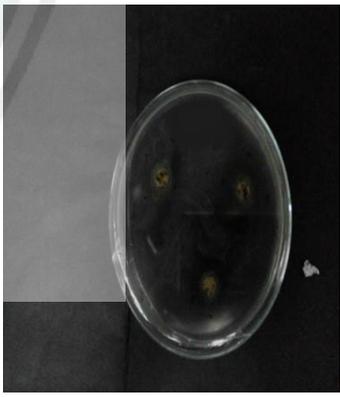
		
Penetesan larutan Iodin pada deck glas <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	Pencucian dengan akuades	Pemberian warna safranin
		
Penetesan alkohol	Bakteri <i>E. coli</i> hasil pewarnaan Gram	Bakteri <i>S. aureus</i> hasil pewarnaan Gram

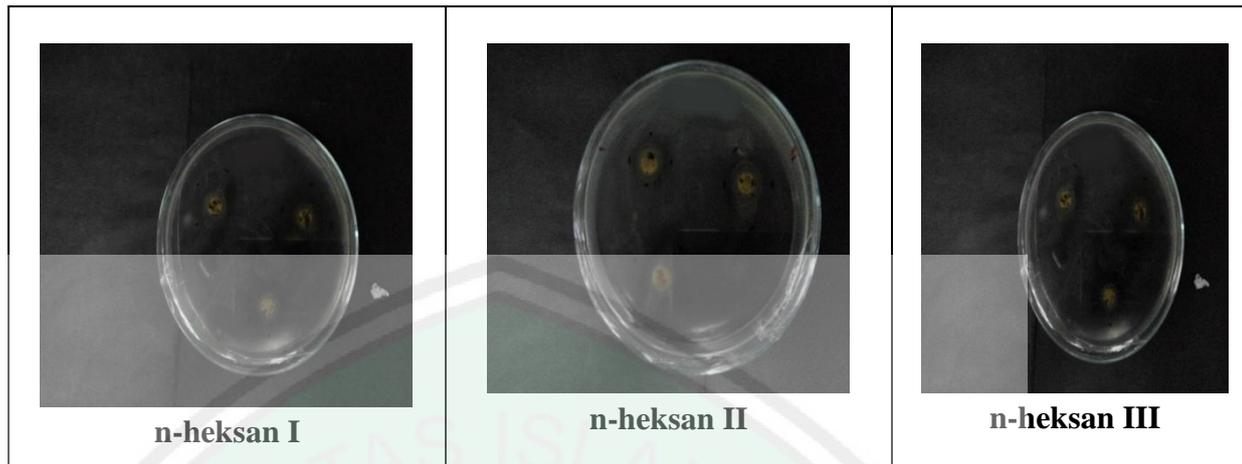
b. Uji zona Hambat

		
Sterilisasi alat dan bahan	Pemanasan media diatas hotplate	Homogenisasi larutan dengan vortex mixer

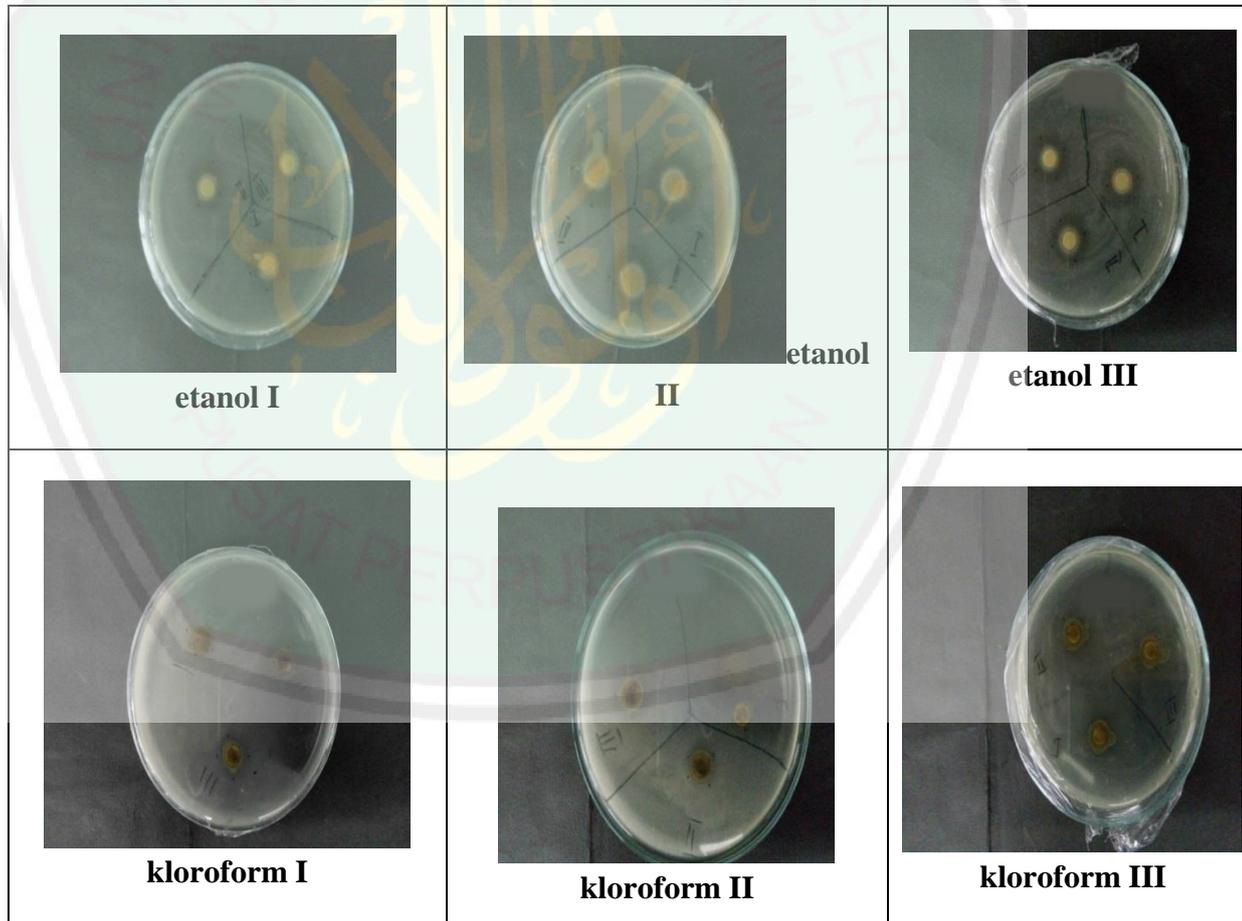
		
Kertas cakram	Proses inkubasi didalam inkubator	Proses destruksi

c. Gambar hasil uji zona hambat bakteri *E. coli*

 <p style="text-align: center;">etanol I</p>	 <p style="text-align: center;">etanol II</p>	 <p style="text-align: center;">etanol III</p>
 <p style="text-align: center;">Kloroform I</p>	 <p style="text-align: center;">kloroform II</p>	 <p style="text-align: center;">kloroform III</p>



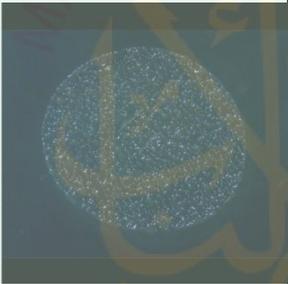
d. Gambar hasil uji zona hambat bakteri *S. aureus*

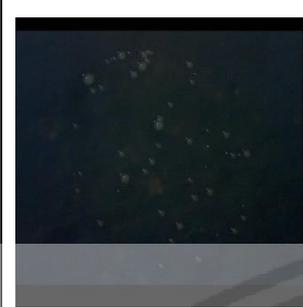
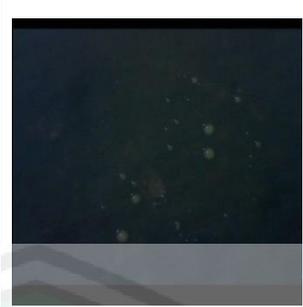
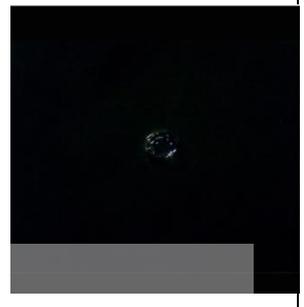




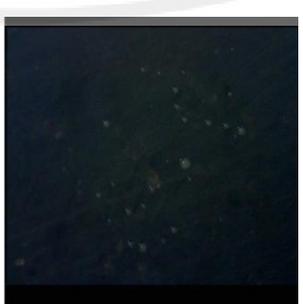
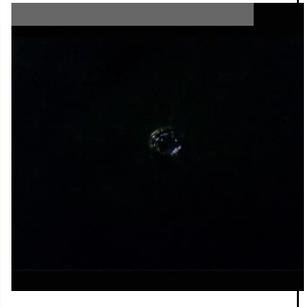
e. Gambar hasil Uji KHM dan KBM *S. aureus*

1. Etanol

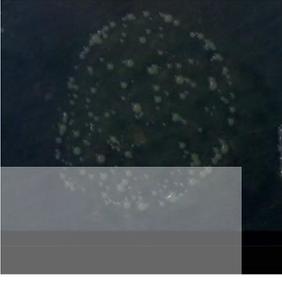
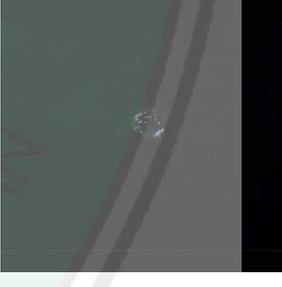
		
Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml
		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml

		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

2. Kloroform

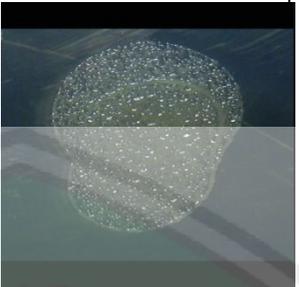
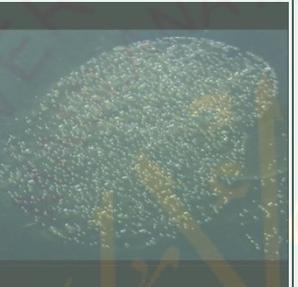
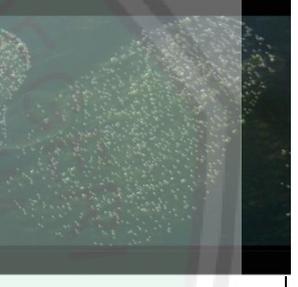
		
Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml
		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml
		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

3. N-heksan

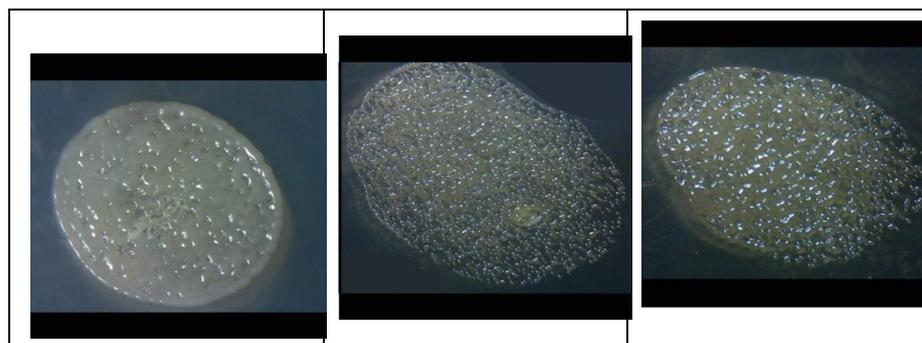
		
Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml
		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml
		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

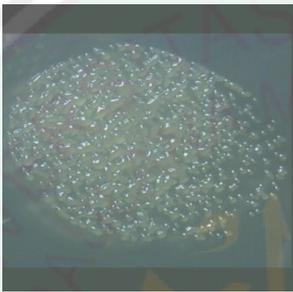
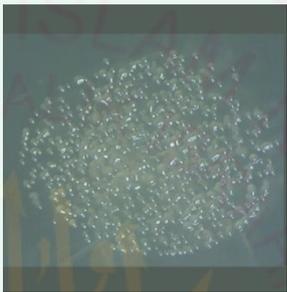
f. Uji KHM dan KBM *E. coli*

1. Etanol

		
Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml
		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml
		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

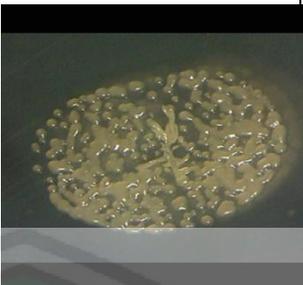
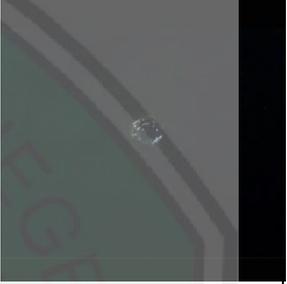
2. Kloroform



Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml
		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml
		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

3. N-heksan

		
Kontrol mikroba	3,9 mg/ml	7,8 mg/ml

		
15,6 mg/ml	31,3 mg/ml	62,5 mg/ml
		
125 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml

g. Hasil SPSS

1. Bakteri *S. aureus*

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahambat	jenispelarut	ulangan
N		27	27	27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9,2296	2,0000	2,0000
	Std. Deviation	2,94750	,83205	,83205
Most Extreme Differences	Absolute	,190	,219	,219
	Positive	,154	,219	,219
	Negative	-,190	-,219	-,219
Kolmogorov-Smirnov Z		,987	1,136	1,136
Asymp. Sig. (2-tailed)		,284	,151	,151

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Zonahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,334	2	24	,719

c. Uji Anova

Zonahambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	218,611	2	109,305	360,783	,000
Within Groups	7,271	24	,303		
Total	225,882	26			

Post Hoc Tests

Zonahambat

Duncan^a

jenispelarut	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3,00	9	6,0289		
2,00	9		8,7178	
1,00	9			12,9422
Sig.		1,000	1,000	1,000

2. Bakteri *E. coli*

a. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahambat	jenispelarut	ulangan
N		27	27	27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8,4396	2,0000	2,0000
	Std. Deviation	2,55702	,83205	,83205
Most Extreme Differences	Absolute	,246	,219	,219
	Positive	,246	,219	,219
	Negative	-,216	-,219	-,219
Kolmogorov-Smirnov Z		1,280	1,136	1,136
Asymp. Sig. (2-tailed)		,075	,151	,151

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Zonahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,043	2	24	,958

c. Uji Anova

ANOVA

Zonahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	165,733	2	82,866	466,364	,000
Within Groups	4,264	24	,178		
Total	169,997	26			

Post Hoc Tests

zonahambat

Duncan^a

jenispelarut	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2,00	9	6,0456		
1,00	9		7,4211	
3,00	9			11,8522
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Rendy Rohmatul Maulid
NIM : 12620098
Program Studi : Biologi
Semester : IX TA. 2016 / 2017
Pembimbing : drg Risma Aprinda K, M.Si
Judul Skripsi : Efektipitas Antibakteri Ekstrak Daun Pakitan Kebo terhadap Bakteri E. coli dan S. aureus berdasarkan Perbedaan Pelarut secara In Vitro

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	24-02-2016	Judul Skripsi	<i>[Signature]</i>
2	02-03-2016	Judul Skripsi	<i>[Signature]</i>
3	11-03-2016	Bab I: Latar Belakang	<i>[Signature]</i>
4	14-03-2016	Bab I: LB, fungsi senyawa, pelarut yg berbeda	<i>[Signature]</i>
5	21-03-2016	ACC Bab I	<i>[Signature]</i>
6	04-04-2016	Bab II	<i>[Signature]</i>
7	05-04-2016	Bab III: Metode Penelitian	<i>[Signature]</i>
8	08-04-2016	Bab III: Uji Zona hambat & KHM + KBM	<i>[Signature]</i>
9	15-04-2016	ACC Bab III	<i>[Signature]</i>
10	17-04-2016	ACC Proposal Skripsi	<i>[Signature]</i>
11	06-06-2016	Seminar Proposal	<i>[Signature]</i>
12	06-12-2016	ACC Bab I, II, III	<i>[Signature]</i>
13	14-12-2016	Bab IV: Hasil Uji zona hambat, KHM & KBM	<i>[Signature]</i>
14	25-12-2016	Bab IV: Revisi Hasil KHM & KBM	<i>[Signature]</i>
15	28-12-2016	ACC BAB IV, V	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

[Signature]

drg. Risma Aprinda K, M.Si
NIP. 1982 1005 200912 2001

Malang, 28 Desember 2016
Ketua Jurusan,

[Signature]

Dr. Eytka Sandi Savitri, MP
NIP. 1974101820031 2 2002



Certificate No. ID08/1219

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu, Kematangan Profesional

