

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
AKAR GANTUNG TUMBUHAN BAJAKAH
(*Spatholobus sp.*) TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL
AERIAL ROOTS OF BAJAKAH PLANT
(*Spatholobus sp.*) EXTRACT AGAINST
Escherichia coli BACTERIA**

**IRDA RAHAYU PUTRY
N11116502**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL AKAR GANTUNG
TUMBUHAN BAJAKAH (*Spatholobus sp.*) TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL PROP ROOTS OF
BAJAKAH PLANT (*Spatholobus sp.*) EXTRACT AGAINST *Escherichia
coli* BACTERIA**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

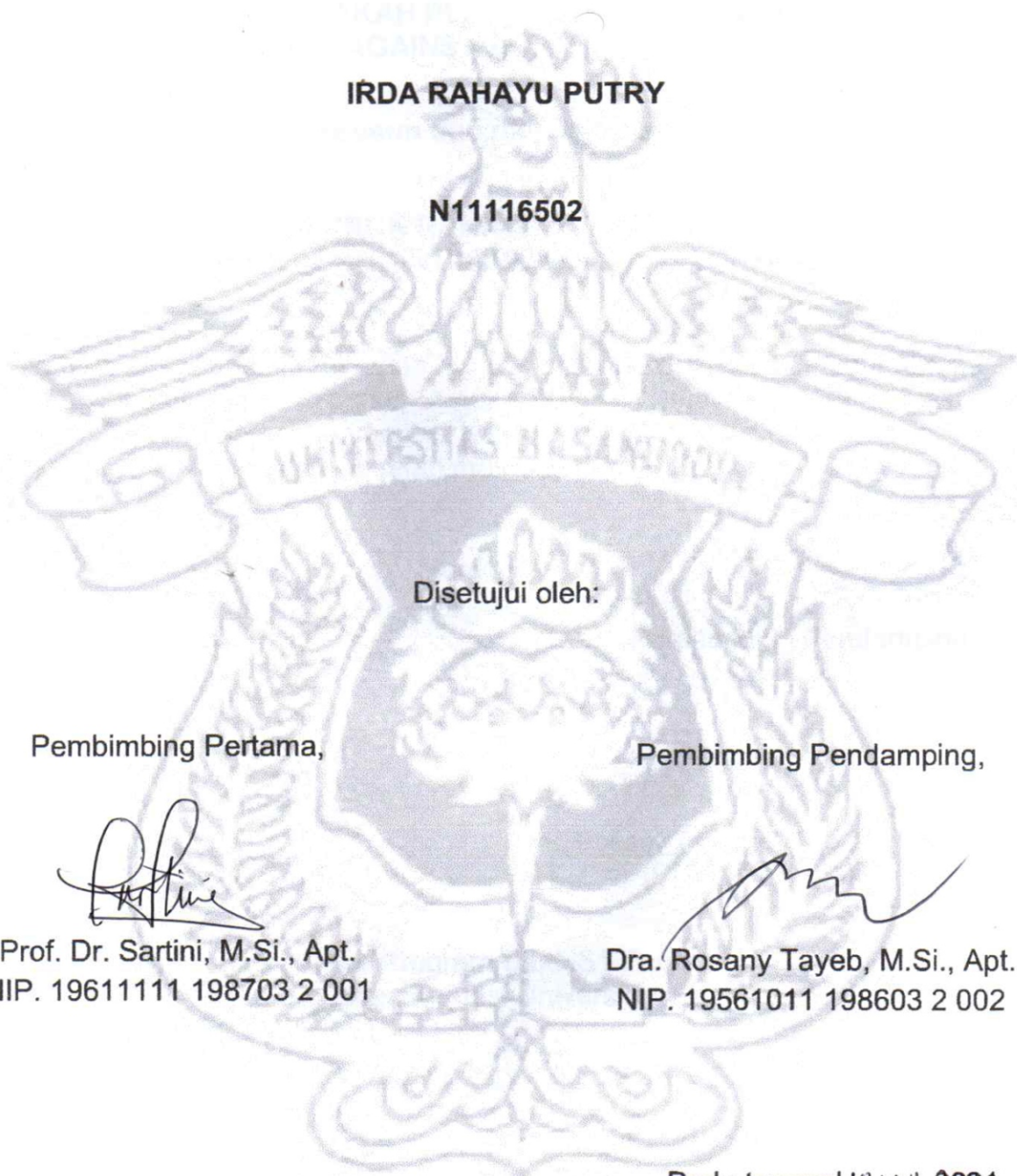
**IRDA RAHAYU PUTRY
N11116502**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL AKAR GANTUNG
TUMBUHAN BAJAKAH (*Spatholobus sp.*) TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

IRDA RAHAYU PUTRY

N11116502



Disetujui oleh:

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada tanggal 10 JUNI 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL AKAR GANTUNG
BAJAKAH (*Spatholobus sp.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETANOL AERIAL
ROOTS OF BAJAKAH PLANT (*Spatholobus sp.*)
EXTRACT AGAINST *Escherichia coli***

Disusun dan diajukan oleh

**IRDA RAHAYU PUTRY
N111 16 502**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas
Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

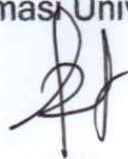


Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt
NIP. 19611111 198703 2 001



Dra. Rosany Tayeb M.Si., Apt
NIP. 19561011 198603 2 002

plt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak pernah terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang saya peroleh batal demi hukum.

Makassar, 16 Juni 2021

Yang menyatakan



Irda Rahayu Putry
N111 16 502

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, berkat rahmat, petunjuk dan anugerahNya sehingga skripsi ini bisa diselesaikan dengan baik.

Penulisan skripsi ini memiliki banyak kendala dan hambatan selama proses penyelesaian, namun berkat dukungan serta bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis dimampukan untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada

1. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang penuh kesabaran memberikan bimbingan, arahan, ilmu, semangat dan waktu dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Dekan dan Wakil Dekan, para dosen, serta staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang mewadahi peneliti untuk menyelesaikan penelitian
3. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt dan Ibu Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm Sci., Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan, koreksi dan arahan untuk penelitian dan perbaikan skripsi ini.

4. Seluruh laboran di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, khususnya Ibu Haslia yang selalu memberikan bantuan kepada penulis selama melakukan penelitian.
5. Sahabat seperjuangan dalam melaksanakan penelitian, Dibi yang selalu saling memberikan semangat dan berbagi ilmu setiap harinya.
6. Sahabat-sahabat dekat penulis selama berkuliah di Farmasi, khususnya Meli, Hesty, Ningrum dan Mentari yang menjadi tempat berbagi keluh kesah, canda tawa maupun kesedihan yang selalu mendukung penulis sampai terselesainya skripsi ini.
7. Kepada saudaraku NEOST16MINE (angkatan 2016) Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang menjadi tempat berbagi canda tawa dan terima kasih atas kebersamaan yang terjalin selama ini.

Terselesainya skripsi tidak ada artinya tanpa adanya dorongan moril maupun materil, semangat, dan doa yang tidak henti-hentinya mengalir dari Orang tua penulis Hj. Hadriah, Suami Dr. H. Muh. Azhar Burhan, S.Pd.I., M.Pd. dan Anak Muaz dan Faiz yang senantiasa memberikan semangat dan arahan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan sehingga skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga akan tercipta karya yang lebih baik lagi. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Makassar, 10 JUNI 2021



Irda Rahayu Putry

ABSTRAK

IRDA RAHAYU PUTRY. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ekstrak Etanol Akar Gantung Tumbuhan Bajakah (*Spatholobus sp.*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC® 25922 (Dibimbing oleh Sartini dan Rosany Tayeb)

Bajakah (*Spatholobus sp.*) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan secara empiris oleh masyarakat Kalimantan sebagai obat. Air rebusannya dipercaya secara turun-temurun mempunyai khasiat sebagai obat sakit perut dan diare. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar gantung bajakah terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC® 25922. Ekstraksi akar gantung bajakah dilakukan dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 70% (1 : 15). Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi dan metode disk difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan, nilai KHM akar bajakah > 2 mg/mL, sedangkan diameter zona hambat ekstrak etanol akar gantung tumbuhan bajakah 8,87mm pada konsentrasi 20% (4 mg/disk). Ekstrak etanol akar gantung bajakah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC® 25922.

Kata Kunci : *Spatholobus sp.*, konsentrasi hambat minimum, diameter zona hambat, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

IRDA RAHAYU PUTRY. Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Bajakah (*Spatholobus sp.*) Prop Roots against *Escherichia coli* Bacteria ATCC® 25922 (supervised by Sartini and Rosany Tayeb)

Bajakah (*Spatholobus sp.*) Is a plant that is used empirically by the people of Kalimantan as medicine. The boiled water is believed from generation to generation to have properties as a medicine for stomach pain and diarrhea. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of the root of the Bajakah plant against the growth of *Escherichia coli* ATCC® 25922. The root extraction of the Bajakah plant was carried out by maceration method using (1:15) 70% ethanol as a solvent. Determination of antibacterial activity was carried out by microdilution method and disk strach diffusion method. The results showed that the MIC value of the root of the Bajakah was > 2 mg / mL. while the diameter of the inhibition zone of the ethanol extract of the root of the Bajakah was 8.87mm at a concentration of 20% (4mg / disk). Ethanol extract bajakah root has antibacterial activity of *E. coli* ATCC® 25922

Keywords: *Spatholobus sp*, minimum inhibitory concentration, inhibition zone diameter, *Escherichia coli*.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	Viii
ABSTRACT	Ix
DAFTAR ISI	X
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Uraian Tumbuhan Bajakah	4
II.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bajakah	4
II.1.2 Kandungan dan Aktivitas Bajakah	5
II.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	7
II.2.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	7
II.2.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	7
II.3 Ekstraksi	11
II.4 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	14

	halaman
II.4.1 Metode Difusi	14
II.4.2 Metode Dilusi	15
BAB III METODE PENELITIAN	
III.1 Alat dan Bahan	17
III.2 Penyiapan sampel	17
III.3 Metode Kerja	18
III.3.1 Pembuatan Ekstrak	18
III.3.2 Sterilisasi Alat	18
III.3.3 Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri	18
III.3.3.1 Medium Mueller Hinton Broth	18
III.3.3.2 Medium Mueller Hinton Agar	19
III.3.4 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Akar gantung Bajakah	19
III.3.5 Penentuan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar gantung Bajakah	19
III.3.5.1 Peremajaan Bakteri	19
III.3.5.2 Pembuatan Suspensi Bakteri	20
III.3.5.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum	20
III.3.5.4 Pengujian Aktivitas Daya Hambat dengan Metode Difusi Agar	21
III.4 Analisis Data	21
BAB IV Hasl dan Pembahasan	

IV.1 Hasil Ekstraksi	22
IV. Hasil Penentuan Diameter Zona Hambat	26
BAB V Kesimpulan dan saran	
V.1 Kesimpulan	
V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil ekstraksi	22
2. Hasil penentuan nilai KHM	23
3. Hasil penentuan diameter zona hambat	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Akar gantung tumbuhan bajakah (<i>Spatholobus sp.</i>)	4
2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	7
3. Hasil pengamatan sebelum penambahan TTC 1%	39
4. Hasil pengamatan setelah penambahan TTC 1%	39
5. Hasil pengamatan zona hambat	40
6. hasil uji penegasan 2%	41
7. hasil uji penegasan 1%	41
8. hasil uji penegasan 0,5%	41
9. hasil uji penegasan 0,25%	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol Akar gantung Bajakah	34
2. Skema Kerja Pengenceran Sampel	35
3. Komposisi Medium	36
4. Skema Kerja Penentuan KHM Ekstrak Akar gantung Bajakah	37
5. Skema Kerja Penentuan Daya Hambat Akar gantung Bajakah	38
6. Hasil penentuan nilai KHM ekstrak etanol akar tumbuhan bajakah	39
7. Hasil pengamatan zona bening ekstrak etanol akar gantung tumbuhan bajakah	40
8. Hasil uji penegasan	41

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang memiliki banyak manfaat. Salah satu keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai obat tradisional yaitu bajakah (*Spatholobus sp.*) merupakan salah satu tumbuhan yang air rebusanya digunakan secara empiris oleh masyarakat di desa Garung Kabupaten Pulang Pisau Propinsi Kalimantan Tengah secara turun-temurun sebagai obat sakit perut dan diare Air (Saputera, 2018).

Berdasarkan skrining fitokimia, menyatakan bahwa bajakah mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin (Saputera, 2018). Flavonoid, saponin dan tannin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli* yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk (Saputera 2019 dan Zamzami 2011).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan di dunia terutama di negara berkembang. Sebanyak 25 juta kematian di seluruh dunia, sepertiganya disebabkan oleh infeksi (Dewi, 2017). Infeksi oleh bakteri Gram positif maupun Gram negatif merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi hingga saat ini (Nasronudin, 2011). Salah satu agen penyebab infeksi bakteri Gram negatif adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri yang berada di dalam saluran pencernaan bagian bawah yang merupakan flora normal dan dapat

berubah menjadi patogen jika perkembangannya di dalam tubuh melebihi batas normal (Darsana, 2012).

Menurut World Health Organization Penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri *E.coli* adalah penyakit diare (Simatupang, 2004). Selain itu, Bakteri Gram negatif seperti *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, dan *Pseudomonas spp.* merupakan bakteri yang sering menyebabkan ISK. Beberapa hasil penelitian menunjukkan *E. coli* mengakibatkan 80–95% kejadian ISK (Prakasam et al., 2012). Salah satu pengobatan yang bertujuan untuk mengeliminasi bakteri penyebab penyakit infeksi adalah dengan penggunaan senyawa antibakteri.

Berdasarkan penelitian Guo W et al (2018) menunjukkan bahwa ekstrak *Spatholobus* mempunyai aktivitas antibakteri. Genus *Spatholobus* mempunyai banyak spesies diantaranya *Spatholobus suberectus*, *Spatholobus littoralis Hassk.* dan lainnya. Perbedaan varietas, tempat tumbuh, bagian tumbuhan dan jenis pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi kandungan senyawa kimia tumbuhan.

Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol Akar gantung bajakah terhadap bakteri *E. coli*.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol Akar Gantung tumbuhan bajakah (*Spatholobus sp.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol Akar Gantung tumbuhan bajakah (*Spatholobus sp.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tumbuhan Bajakah

II.1.1 Klasifikasi Dan Morfologi Tumbuhan Bajakah



Gambar 1. Tumbuhan bajakah (*Spatholobus sp.*)

Klasifikasi tumbuhan bajakah (*Spatholobus sp.*) yaitu sebagai berikut (Tropicos, 1982):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Subclass	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Spatholobus</i>
Spesies	: <i>Spatholobus suberectus</i> Dunn.

Tumbuhan bajakah genus *Spatholobus* adalah genus tumbuhan yang merambat pada pohon kayu dari suku *phaseolaea*. Pada tahun 1842 seorang ahli botani asal Jerman yang bernama Jstus Karl Hasskarl menemukan genus ini. Menurut Ninkaew dan Chantaranothai (2014), terdapat sebanyak 29 jenis spesies dari genus *Spatholobus Hassk* yang mayoritas tersebar di hutan tropis indonesia bajakah tampala sebagian besar tersebar di hutan Kalimantan.

Berdasarkan genusnya, bajakah disebut berkerabat dengan genus *Vigna*. Bajakah tumbuh merambat di pohon kayu dengan ketinggian mencapai 50 meter. Daun bajakah berbentuk tajam dengan warna kuning, coklat dan putih. Bajakah mempunyai bunga kecil dengan variasi warna ungu, merah muda, dan putih. Ketika batangnya dipotong, maka akan mengeluarkan cairan yang aman untuk dikonsumsi (Allen et. Al, 1981)

II.1.2 Kandungan Kimia dan Aktivitas Tumbuhan Bajakah

Kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan tergantung pada lingkungan tempat tumbuhnya. Berdasarkan skrining fitokimia, menyatakan bahwa bajakah tampala yang berasal dari Kalimantan Tengah memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin dan tanin (Hasanah, 2020 dan Saputera, 2018). Menurut Fitriani (2020) Kadar flavonoid, akar bajakah merah maupun putih, baik dibagian kulit maupun di batang kayunya memiliki kadar yang cukup tinggi. Kadar flavonoidnya lebih tinggi dibandingkan dengan kayu secang.

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bajakah dapat mengobati berbagai penyakit degeneratif, seperti diabetes, kanker, tumor dan lain-lain. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang telah dilakukan Ayuhecacia et al. (2020) menyatakan bahwa ekstrak batang bajakah tampala rata-rata mengandung kadar fenolik sebesar 12,33 mg GAE/g. Bajakah tampala juga terbukti mampu mempercepat proses penyembuhan luka pada konsentrasi 10% (Saputera dan Ayuhecacia, 2018) dan memiliki aktifitas antibakteri pada konsentrasi 6,25% (Saputera et al., 2019). Hasil partisi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan partisi air dan etanol 96%. Selain itu akar bajakah juga mempunyai aktivitas sitotoksik yang menunjukkan bahwa partisi etil asetat memiliki nilai LC50 sebesar 48,39 µg/mL dan pada air sebesar 354,20 µg/mL (Hasanah, 2020). Ekstrak aseton batang *Spatholobus parviflorus* mengandung senyawa vignafuran yang mempunyai aktivitas terhadap *Escherichia coli* dengan nilai konsentrasi hambat minimum 32 µg/mL (Promchai et al, 2018) .

Bajakah (*Spatholobus littoralis Hassk.*) mempunyai aktivitas antioksidan, berdasarkan hasil penelitian Fitriani (2020) Hasil penelitian menyimpulkan bahwa tanaman akar bajakah merah dan tanaman akar bajakah putih baik pada kulit maupun batangnya memiliki kandungan metabolit sekunder, yaitu fenolik, tanin, flavonoid dan memiliki aktivitas antioksidan (IC50). Aktifitas antioksidan tanaman akar bajakah ini memiliki kategori sangat kuat. Berdasarkan kandungan metabolit sekunder dan

aktifitas antioksidan pada tanaman akar bajakah ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan sediaan farmasi.

II.2 Bakteri *Escherichia coli*

II.2.1 Klasifikasi dan Karakteristik Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* (Jawetz et al., 1995).

Klasifikasi *Escherichia coli* sebagai berikut :

Superdomain	: Phylogenetica
Filum	: Proterobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia Coli</i> (Jawetz et al., 1995).

II.2.1 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu jenis bakteri yang merupakan flora normal dalam saluran pencernaan. *Escherichia coli* hidup secara normal dalam pencernaan manusia maupun hewan yang sehat. Nama bakteri ini berasal dari nama seorang *bacteriologist* dari Germani yaitu

Theodor Von Escherich, beliau mempunyai pencapaian yaitu berhasil melakukan isolasi bakteri ini pertamakali pada tahun 1885. Dr. Escherich juga berhasil membuktikan bahwa diare dan gastroenteritis yang terjadi pada infant adalah disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Jawetz et al., 1995).

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. Morfologi bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 2. Bentuk sel dari *Escherichia coli* berbentuk seperti coccal hingga membentuk sepanjang ukuran *filamentous*, Tidak ditemukan spora, Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Kusuma, 2010, Jawetz et al., 1995)

Kapsula atau mikrokapsula terbuat dari asam-asam polisakarida. Mukoid kadang-kadang memproduksi pembuangan ekstraselular yang tidak lain adalah sebuah polisakarida dari speksitifitas antigen K tertentu atau terdapat pada asam polisakarida yang dibentuk oleh banyak *Escherichia coli* seperti pada *Enterobacteriaceae*. Selanjutnya digambarkan sebagai antigen M dan dikomposisikan oleh asam kolanik (Smith-Keary, 1988).

Biasanya sel ini bergerak dengan *flagella petrichous*. *Escherichia coli* memproduksi macam-macam fimbria atau pili yang berbeda, antara

lain *filamentus*, *proteinaceus*, seperti rambut *appendages* di sekeliling sel dalam variasi jumlah. Fimbria merupakan rangkaian hidrofobik dan mempunyai pengaruh panas atau organ spesifik yang bersifat adhesi. Hal itu merupakan faktor virulensi yang penting. *Escherichia coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling sedikit banyak di bawah keadaan anaerob (Collier, 1998).

Pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. *Escherichia coli* berbentuk sirkular, konveks dan koloni tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 60°C selama 15 menit atau pada suhu 55°C selama 60 menit. *Escherichia coli* tumbuh baik pada temperatur antara 8°-46°C dan temperatur optimum 37°C. Bakteri yang dipelihara di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum, tidak akan segera mati melainkan berada di dalam keadaan tidur atau dormansi (Melliawati, 2009).

Escherichia coli berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak

dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral (Ganiswarna, 1995).

Pada umumnya bakteri *Escherichia coli* hanya mengenal satu macam pembiakan yaitu dengan cara seksual atau vegetatif. Pembiakan ini berlangsung cepat, apabila faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru tersebut akan membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induknya (Melliawati, 2009).

Kehidupan bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor luar tetapi sebaliknya bakteri mampu mempengaruhi keadaan lingkungannya, misalnya dapat menyebabkan demam (panas) akibat terinfeksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang ada dalam saluran pencernaan dan menyebabkan diare yang berkepanjangan. Jika *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon (glukosa, laktosa, dsb) maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati, 2009). *Escherichia coli* dapat menyebar melalui debu dari makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh feses (Ginns, 2000).

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014). Sedangkan, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Tujuan ekstraksi bahan alam yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antibakteri dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan (Ditjen POM, 2000).

Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair, senyawa yang dipisahkan terdapat dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi padat-cair merupakan suatu metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan (Maleta, 2018).

Berdasarkan penggunaan panas, ekstraksi dibedakan menjadi 2 yaitu ekstraksi secara dingin dan ekstraksi secara panas (Marjoni, 2016).

a. Ekstraksi secara dingin

Ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan terhadap pemanasan atau

bersifat termolabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu maserasi, dan perkolasi.

b. Ekstraksi secara panas

Ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa yang terdapat dalam simplisia yang sudah dipastikan tahan terhadap panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan pemanasan diantaranya infusa, dekokta, coque, digesti, refluks, soxhletasi.

Salah satu metode ekstraksi secara dingin yaitu maserasi. Istilah maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang berarti merendam. Maserasi adalah proses yang tepat untuk obat yang sudah halus dimungkinkan untuk direndam dalam suatu wadah sampai meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan dan cocok untuk simplisia yang mengandung senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu, sedangkan remaserasi berarti dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Metode maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi

senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).

Kelebihan metode maserasi yaitu peralatan yang digunakan sangat sederhana, teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan, dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena tanpa pemanasan (Marjoni, 2016).

Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Selain itu terdapat metode ekstraksi lainnya yaitu ultrasound assisted extraction yang memanfaatkan bantuan gelombang ultrasonik dengan prinsip kerja perubahan sinyal listrik menjadi getaran mekanis yang dapat diarahkan menuju zat untuk memecahkan ikatan antar molekul atau merusak sel. Ekstraksi dengan bantuan ultrasonik lebih singkat dibandingkan dengan ekstraksi tanpa ultrasonik, dan menghasilkan jumlah rendemen yang sama. Hal ini dapat terjadi karena selama ekstraksi dengan ultrasonik menyebabkan timbulnya panas dan proses difusi meningkat, sehingga proses ekstraksi semakin dipercepat (Sholihah, et al., 2017).

II.4 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji potensi antibiotika secara mikrobiologik adalah suatu teknik untuk menetapkan potensi suatu antibiotika dengan mengukur efek senyawa tersebut terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji yang peka dan sesuai. Efek yang ditimbulkan pada senyawa uji dapat berupa hambatan pertumbuhan. Terdapat cara yang umum digunakan dalam uji potensi secara mikrobiologik yaitu (Djide & Sartini, 2008).

II.4.1 Metode Difusi

a. Difusi Agar

Pada pengujian potensi suatu antibiotika dengan difusi agar, berarti metode ini menggunakan media padat, yang pada permukaannya telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang sensitif terhadap antibiotika yang secara merata. Difusi adalah proses perpindahan molekul secara acak dari satu posisi ke posisi lain. Pada difusi tersebut, yang perlu diperhatikan adalah 14 dosis, kecepatan, dan energi kinetik dari proses tersebut. Metode difusi dibagi menjadi difusi linier dan difusi radial (Djide & Sartini, 2008).

b. Gradien Antimikroba (Etest)

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya dan diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan

agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (minimal 6) digoreskan pada arah mulai konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan. (Djide & Sartini, 2008).

II.4.1 Metode Dilusi

a. Dilusi Cair

Pada pengujian atau penetapan secara tabung atau turbidimetri, media yang digunakan adalah media cair yang diinokulasikan dengan mikroorganisme uji yang sensitif dalam tabung-tabung reaksi steril. Selanjutnya, dipipet senyawa antibiotika yang diuji dan kemudian diinkubasikan. Pertumbuhan mikroorganisme ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung sesuai dengan tingkat pengenceran dari senyawa yang diuji antibiotika baku. Kekeruhan media setelah inkubasi dinyatakan sebagai kerapatan optik media tersebut, tergantung pada larutan senyawa yang diuji dalam tabung (Djide & Sartini, 2008).

Dilusi cair terdiri dari mikrodilusi dan makrodilusi, perbedaan keduanya terletak pada jumlah volume yang digunakan. Makrodilusi memiliki minimum volume yaitu 2 mL dan mikrodilusi memiliki volume yang lebih kecil dengan menggunakan micro plate 96wells. Kerugian utama dari makrodilusi yaitu risiko kesalahan dalam penyiapan larutan antimikroba untuk setiap tes dan membutuhkan reagen yang lebih banyak,

sedangkan mikrodilusi membutuhkan bahan yang sedikit (Balouiri, et al., 2016).

Penentuan nilai KHM pada mikrodilusi dapat menggunakan metode kolorimetri dengan reagen yang digunakan salah satunya yaitu garam tetrazolium.

b. Dilusi Padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji. Metode ini cocok untuk untuk pengujian kepekaan antibakteri dan antifungi. Dilusi padat sering direkomendasikan sebagai metode standar untuk organisme yang cepat seperti anaerob dan *Helicobacter*. Metode ini memiliki korelasi yang baik dengan metode E-Test terutama untuk pengujian antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif. (Balouiri, et al., 2016).