

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.)
TERHADAP BEBERAPA BAKTERI PATOGEN
DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BIDARA ARAB LEAF
(*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) EXTRACT ON SOME
PATHOGENIC BACTERIA USING THE BIOAUTOGRAPHY
TLC METHOD**

**MARNI PABISA
N111 15 517**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
BIDARA ARAB (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.)
TERHADAP BEBERAPA BAKTERI PATOGEN
DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BIDARA ARAB LEAF
(*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) EXTRACT ON SOME
PATHOGENIC BACTERIA USING THE BIOAUTOGRAPHY
TLC METHOD**

**MARNI PABISA
N111 15 517**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BIDARA ARAB
(*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) TERHADAP BEBERAPA BAKTERI
PATOGEN DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BIDARA ARAB LEAF (*Ziziphus spina-
christi* (L.) Desf.) EXTRACT ON SOME PATHOGENIC BACTERIA USING
THE BIOAUTOGRAPHY TLC METHOD**

SKRIPSI

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

**MARNI PABISA
N111 15 517**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BIDARA ARAB
(*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) TERHADAP BEBERAPA
BAKTERI PATOGEN DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI

MARNI PABISA

N111 15 517

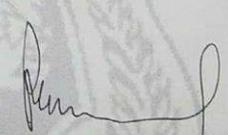
Disetujui oleh:

Pada tanggal 27 Agustus 2020

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
NIP. 19771125 200212 2 003


Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt
NIP. 19480727 197903 1 001



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BIDARA ARAB LEAF (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) EXTRACT ON SOME PATHOGENIC BACTERIA USING THE BIOAUTOGRAPHY TLC METHOD

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BIDARA ARAB (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf) TERHADAP BEBERAPA BAKTERI PATOGEN DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI

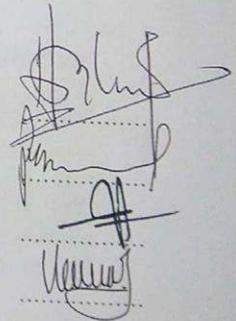
SKRIPSI

MARNI PABISA
N111 15 517

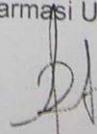
telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada Tanggal 17 Agustus 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt.
2. Sekretaris : Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt.
3. Anggota : Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
4. Anggota : Nana Juniarti, S.Si., M.Si., Apt.



Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


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



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak 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 di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 21 Agustus 2020

Yang menyatakan,


64BE6AHF561600106
6000
ENAM RIBURUPIAH
Marni Pabisa
N111.15.517



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penelitian dengan judul “uji aktivitas antibakteri ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) terhadap beberapa bakteri patogen dengan metode KLT Bioautografi” telah selesai disusun sebagai skripsi pada Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Dalam rangka penyusunan skripsi ini banyak kendala yang dihadapi penulis, namun berkat bantuan serta dukungan yang telah diberikan oleh berbagai pihak, akhirnya kendala-kendala tersebut dapat diselesaikan. Oleh karena itu, atas berbagai bantuan serta dukungan tersebut, penulis menghaturkan banyak terima kasih.

Dengan segala kerendahan dan ketulusan hati menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing utama serta Penasehat Akademik yang telah memberikan pelajaran baik berupa masukan serta saran dan terima kasih juga yang sebesar-besarnya kepada bapak Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberikan arahan, menyumbangkan pikiran dan tenaga dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga selesainya skripsi ini. Dengan penguji, bapak Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc.,Ph.D., Apt. dan ibu Niarti, S.Si., M.Si., Apt. penulis mengucapkan banyak terima kasih



atas saran dan kritik terhadap hasil penelitian sehingga lebih menyempurkan tugas akhir ini.

Pada kesempatan ini pula penulis tak lupa menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak-bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin yang tidak bisa disebutkan satu persatu atas segala bimbingan dan ilmu serta bantuan yang diberikan selama menempuh pendidikan, penelitian, hingga selesainya skripsi ini.
2. Terima kasih untuk kedua orangtua tercinta kepada ayahanda Ruring Pabisa dan ibunda Ratni Patadungan yang banyak memberikan kasih sayang, semangat untuk menyelesaikan hingga ke tahap akhir. Serta doa dan dukungan saudara-saudara penulis Patrisia Pabisa, Rendra Pabisa, dan Raihan Pabisa yang selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan pendidikan hingga ke tahap akhir.
3. Kak Haslia selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Kak Abdi selaku Laboran Farmako Fitokimia Farmasi Universitas Hasanuddin yang sangat membantu atas segala kebutuhan penulis pada saat penelitian hingga selesai.
4. Muhammad Akbar Fajar selaku teman terdekat penulis yang selalu memberikan semangat tak henti-hentinya kepada penulis dan senantiasa meluangkan waktunya untuk membantu penulis dalam menyelesaikan

penelitian dan menyusun skripsi ini.



5. Teman-teman farmasi angkatan 2015 “PO15ON” atas kebersamaan-nya selama di kampus terkhusus Syafira pratiwi, Dini Rusdayanti, Wahyuni Yusuf, Retno Wulandari, Taufiq kemal, Mahmud aldi, Ahmad Fadil dan juga terima kasih kepada adik-adik Tenri Wulengsari, Sitti Hardianti Suong, Nurul Fitri S, Aqidatul Cahya, Aditya Natsir dan teman-teman lain yang tidak disebutkan satu persatu yang telah menemani penulis selama menjalani masa perkuliahan serta memberikan motivasi dan saran.
6. Sahabat-sahabat penulis Novi Jayanti, Rezky Soraya, Wanti Batara, Noventri Reski, Fadil Ashari, Ais Syarif, Eral Yusuf, Fahmi Kurniawan Dhilan Alwi, Muhammad Alvin yang telah memberikan semangat dan bantuan.
7. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya atas bantuan dan kerjasamanya kepada penulis selama penelitian dan menjalani penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat jauh dari kesempurnaan, namun besar harapan penulis kiranya skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya dan memberikan sumber inspirasi baru untuk pengembangan ilmu pengetahuan kedepan. Aamiin

Makassar, Agustus 2020

Marni Pabisa



ABSTRAK

Marni Pabisa. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Dengan Metode KLT Bioautografi.

Daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) mengandung berbagai senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat dipengaruhi dari metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Daun bidara arab dimaserasi menggunakan etanol 70% lalu dilakukan Uji aktivitas antibakteri ekstrak menggunakan metode difusi agar. Selanjutnya KLT Bioautografi menggunakan metode kontak. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) yang menunjukkan aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat terbesar yaitu pada bakteri uji *Bacillus subtilis* dengan nilai zona hambat 13,87 mm. Hasil uji KLT-Bioautografi dari ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) yang menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* pada nilai Rf 0,31; 0,96; 0,89. selanjutnya hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) diduga mengandung senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan fenol/tannin yang mampu menghambat.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Bidara Arab, *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf., KLT- Bioautografi.



ABSTRACT

Marni Pabisa. Antibacterial Activity Of Bidara Arab Leaf (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) Extract On Some Pathogenic Bacteria Using The Bioautography Tlc.

Arabian bidara leaf (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) contains various compounds which have potential as antibacterial. The ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria can be influenced by secondary metabolites contained in plants. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of Arab bidara leaf extract (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) in inhibiting the growth of pathogenic bacteria. Arabian bidara leaves were macerated using 70% ethanol and then tested for extract antibacterial activity using agar diffusion method. Furthermore TLC Bioautography uses the contact method. The results of the antibacterial activity test of arab bidara leaf extract (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) which showed the antibacterial activity with the largest inhibitory zone diameter, namely the *Bacillus subtilis* test bacteria with inhibition zone values of 13.87 mm. TLC-Bioautographic test results from the extracts of Arabic bidara leaf (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) which inhibited *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* at Rf value 0.31; 0.96; 0.89. Furthermore, the results of phytochemical screening showed that the extract of Arabic bidara leaf (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) suspect to contained flavonoid, terpenoid and phenol/tannin compounds which were able to inhibit.

Kata kunci: Antibacterial, Bidara arab leaf, *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf., TLC-Bioautography



DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.2 Ekstraksi	6
II.3 Metode KLT-Bioautografi	7
II.4 Uraian Umum Antibakteri	10
II.5 Uraian Umum Uji Mikrobiologi	13
II.6 Uraian Mikroba Uji	14
METODE KERJA	21
dan Bahan	21
pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian	21



III.3 Sterilisasi Alat	22
III.4 Pembuatan Medium	22
III.5 Penyiapan Bakteri	23
III.6 Prosedur Skrining Aktivitas Antibakteri	23
III.7 Kromatografi Lapis Tipis	24
III.8 Pengujian Secara KLT-Bioautografi	24
III.9 Identifikasi Fitokimia Senyawa Aktif	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
IV.1 Ekstraksi	26
IV.2 Skrining Aktivitas Antibakteri	26
IV.3 KLT Bioautografi	28
IV.3 Skrining Fitokimia	30
BAB V PENUTUP	34
V. 1 Kesimpulan	34
V. 2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
Lampiran	39



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil Skrinning Aktivitas Antibakteri Ekstrak	27
2. Hasil KLT Bioautografi Ekstrak	30
3. Hasil Identifikasi Komponen Kimia	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Tanaman Daun Bidara Arab	4
2. <i>Escherichia Coli</i>	14
3. <i>Staphylococcys Aureus</i>	15
4. <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	16
5. <i>Bacillus Subtilis</i>	17
6. <i>Salmonella Thyposa</i>	19
7. Daun Bidara Arab	26
8. Hasil Kromatografi Lapis Tipis	28
9. Hasil KLT Bioautografi	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Umum	39
2. Skema Kerja Ekstraksi Sampel	40
3. Skema Kerja Skrinning Aktivitas Antibakteri	41
4. Skema Kerja KLT Bioautografi	42
5. Perhitungan % Rendemen	43
6. Perhitungan Nilai Rf	44
7. Komposisi Medium	45
8. Komposisi Reagen	46
9. Determinasi Sampel	48



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki beragam jenis tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah. Keanekaragaman hayati yang ada tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional dan modern. Banyak jenis tanaman obat di Indonesia yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat, sebagian spesies tanaman tersebut bahkan telah diuji secara klinis kandungan fitokimia, khasiat dan keamanan penggunaannya (Akhyar, 2010).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan protozoa (Mulyati, 2009). Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Berbagai obat anti-infeksi seperti antibiotik merupakan salah satu kelompok yang banyak dipilih. Timbulnya resistensi telah menyebabkan salah satu kelompok antibiotik tertentu tidak lagi digunakan dalam terapi, disisi lain harga antibiotik yang mahal menyebabkan masyarakat kalangan ekonomi lemah tidak mampu membelinya, sehingga penggunaan berbagai tumbuhan dalam pengobatan penyakit infeksi dapat menjadi pilihan bagi masyarakat Indonesia (Wibowo et



Secara empiris daun bidara arab sering digunakan masyarakat Indonesia sebagai pengawet mayat, dengan cara air dicampur dengan daun bidara arab ketika memandikan jenazah yang berfungsi untuk menghilangkan najis dari tubuh mayat (Ashri, 2013).

Berdasarkan penelitian Abalaka *et al* (2010) Ekstrak dari tanaman bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) dapat berguna dalam pengobatan infeksi luka, meningitis, dan infeksi luka yang disebabkan oleh beberapa mikroorganisme lainnya. Hasil analisis kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) menunjukkan bahwa daun bidara arab mempunyai kandungan alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tannin (Safrudin & Nurfitasari, 2018).

Senyawa metabolit sekunder seperti tanin merupakan senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas antibakteri melalui aksi molekulernya membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik, sedangkan alkaloid mempunyai aktivitas antibakteri berhubungan dengan tingginya senyawa aromatik kuartener dari alkaloid yang berkontribusi untuk membentuk interkhelat dengan DNA bakteri, (Cowan, 1999). Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat dipengaruhi dari metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) dengan bakteri

Shia coli, *Bacillus substillis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*



typhi, *Staphylococcus aureus* yang mewakili dari beberapa bakteri patogen yang dapat menginfeksi tubuh manusia.

I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*?
2. Apakah ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode KLT Bioautografi?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui nilai Rf ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) menggunakan metode KLT Bioautografi terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 1. Tanaman Daun Bidara Arab
(Sumber Allan, 2012)

Klasifikasi Tanaman Daun Bidara Arab.

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Rhamnales
Suku : Rhamnaceae
Marga : Ziziphus
Jenis : *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.

II.1.2 Morfologi Tanaman

Bidara adalah sejenis pohon kesil yang selalu hijau, penghasil

yang tumbuh didaerah afrika utara dan tropis serta Asia Barat, Tumbuh

di lembah lembah sampai ketinggian 500m. Khususnya di Indonesia

ini banyak tumbuh di Sumbawa (Nusa Tenggara Barat) (Heyne,



1987). Tanaman ini berasal dari Timur Tengah dan telah menyebar di wilayah Tropik dan sub tropik, termasuk Asia Tenggara. Tanaman ini dapat beradaptasi dengan berbagai kondisi, tetapi tumbuhan ini lebih menyukai udara yang panas dengan curah hujan berkisar antara 125 mm dan di atas 2000 mm. Suhu maksimum agar dapat tumbuh dengan baik adalah 37-48C, dengan suhu minimum 7-13C. tanaman ini umumnya ditemukan pada daerah dengan ketinggian 0-1000 m dpl (Dahiru, 2010).

II.1.3 Kandungan Kimia Tanaman

Ziziphus spina-christi (L.) Desf. hanya tiga dari kandungan kimia yang meliputi polifenol, saponin dan tanin. Sterol seperti, sitosterol, Terpenoid, pitosterol, triterpenoid, alkaloid, saponin, flavonoid, glikosida dan tanin (Dragland et al, 2003).

Kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai pengobatan dalam tanaman bidara antara lain alkaloid, fenol, flavanoid, dan terpenoid (Adzudkk, 2001).

Tanaman Bidara (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.) memiliki kandungan fenolat dan flavanoid yang kaya akan manfaat. Senyawa fenolat adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi, senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki cirri sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (Harbone, 1987).



II.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat/senyawa kimia yang dapat larut terpisah dari zat yang tidak larut dari bagian tanaman, bagian hewan termasuk biota laut dengan pelarut/penyari zat. Zat/senyawa yang tersari tadi merupakan zat aktif dari dalam sel, tujuan dari penyarian ini adalah menarik senyawa aktif yang terdapat dalam sampel tersebut (Sutrisna, 2016), adapun proses ekstraksi yang terjadi adalah masuknya cairan penyari ke dalam sel, masuknya cairan penyari ke dalam sel (osmosis) akan semakin mudah apabila dinding sel sudah tidak menjadi utuh lagi akibat adanya proses penyerbukan. Cairan penyari yang masuk akan membuat zat aktif yang berada di dalam sel terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan cairan penyari yang berada di luar sel, maka pada tahap ini terjadi proses difusi. Proses difusi akan terus terjadi sampai konsentrasi zat aktif yang berada diluar sel dan di dalam sel seimbang (Najid, 2018). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditentukan (Depkes, 1995).

Pemilihan metode ekstraksi didasarkan atas sifat bahan maupun senyawa kandungan bahan yang akan diisolasi. Salah satu metode ekstraksi

maserasi. Maserasi merupakan jenis ekstraksi sederhana karena hanya dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia dalam



cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka zat aktif (zat terlarut) ditarik keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel (Sutrisna, 2016).

II.3 Metode KLT-Bioautografi

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT (Wulandari, 2011).

Prinsip Kromatografi lapis tipis adalah adsorpsi dan partisi. Adsorpsi adalah penyerapan pada permukaan sedangkan partisi adalah kemampuan suatu zat yang ada dalam larutan untuk berpisah kedalam pelarut yang digunakan karena afinitas terhadap fase cair (Wulandari, 2011).

Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*). Fase diam yang digunakan dalam KLT

akan penjerap berukuran dengan diameter partikel antara 10-30 μm .



Penjerap paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa (Ibnu golib, 2007).

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia dan fisika. Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat lalu dipanaskan untuk mengoksidasi pelarut organik yang akan nampak sebagai bercak hitam sampai kecoklat-coklatan. Cara kimia yang digunakan adalah mereaksikan bercak dengan pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang digunakan untuk menampakkan bercak adalah pencahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet (Ibnu golib, 2007).

Rf KLT yang bagus berkisar 0,2 - 0,8. Harga Rf dapat dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan (Yazid, 2005) :

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh fase gerak}}$$

II.3.2 Bioautografi

Bioautografi berasal kata *bio*= makhluk hidup, *autografi* = melakukan aktivitas sendiri (Djide, 2008). Bioautografi merupakan teknik laboratorium untuk mendeteksi senyawa yang mempengaruhi laju pertumbuhan organisme uji dalam matrik (Chorma, 2005). Ciri khas prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antibakterinya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan

merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan tertentu akan terlihat zona hambatan disekeliling dari spot KLT yang



telah ditempelkan pada media agar. Zona hambatan ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat di dalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji (Djide, 2008).

Menurut Djide dan Sartini (2008), KTL-Bioautografi dapat dibagi atas 3 kelompok yaitu :

1. Bioautografi langsung

Mikroorganismenya tumbuh secara langsung diatas lempeng kromatografi lapis tipis (KLT). Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji yang peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatografi lapis tipis (KLT) yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

2. Bioautografi kontak

Senyawa antibakteri dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung. Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan diatas permukaan medium Nutrien Agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antibakteri yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut di pindahkan diangkat

nukaan medium.



3. Bioautografi pencelupan

Medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang diatas lempeng kromatografi lapis tipis (KLT). Pada prakteknya metode ini dilakukan sebagai berikut yaitu lempeng kromatografi yang telah dielusi, diletakan dalam cawan petri, sehingga permukaanya tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai "*base layer*". Selanjutnya dituang medium yang telah disupensikan kultur mikroba yang berfungsi sebagai "*seed layer*". Kemudian inkubasi suhu dan waktu yang sesuai.

II.4 Uraian Umum Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 1980).

II.4.1 Sifat antibakteri

Bakteriostatik yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Dalam keadaan ini jumlah bakteri menjadi stasioner, tidak terdapat lagi multiplikasi atau perkembangbiakan. Yang termasuk AM bakteriostatik di antaranya adalah sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, dan novobiosin (Raharjo dkk, 2004).

Antibakteriosid yang bersifat membunuh mikroorganisme. Dalam hal ini mikroorganisme akan berkurang bahkan habis, tidak terdapat lagi



multiplikasi atau berkembang biakan mikroba. Contoh penisilin, sefalosporin, streptomisin, kanamisin, dan neomisin (Raharjo dkk, 2004).

II.4.2 Mekanisme kerja Antibakteri

1. Bersifat sebagai antimetabolit

Antibakteri bersifat sebagai antimetabolit dimana antibakteri bekerja memblokir terhadap metabolit spesifik mikroba, seperti Sulfonamida. Sulfonamida menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfonamida 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 (Djide, 2016)

2. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Antibakteri menghambat sintesis dinding sel bakteri atau mengaktivasi enzim yang dapat merusak dinding sel bakteri. Termasuk penisilin, sefalosporin, ristosisin (Raharjo dkk, 2004).

Dinding sel bakteri menentukan bentuk karakteristik dan berfungsi melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik dan kondisi lingkungan lainnya. Di dalam sel terdapat sitoplasma dilapisi dengan membran sitoplasma yang merupakan tempat berlangsungnya proses biokimia sel. Adanya mekanisme yang mempengaruhi langkah akhir sintesis dinding sel (bakteri transpeptidase atau ikatan silang) sehingga membran

stabil secara otomatis, lisis sel akan terjadi (Mycek, 2001).



3. Penghambatan terhadap fungsi membran sel.

Antibakteri bekerja secara langsung pada membrane sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler bakteri. Dalam hal ini antibakteri dapat berinteraksi dengan sterol membrane sel pada jamur, misalnya amfoterisin B dan niastatin, merusak membran sel bakteri Gram negative misal polimiksin dan kolistin (Raharjo dkk, 2004).

4. Penghambatan terhadap sintesis protein.

Antibakteri mempunyai fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terlambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menerjemahkan tanda m-RNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contohnya aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin dan linkomisin (Ganiswarna, 1995).

5. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Untuk pertumbuhannya, kebanyakan sel terantung pada sintesi DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan menentukan informasi sintesis protein dan enzim.

gitu pentingnya DNA dan RNA dalam proses kehidupan sel. Hal ini bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada



fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA dependen RNA-polymerase bakteri, memblokir helix DNA. Contohnya seperti antibiotik quinolon, pyrimethamin, sulfonamida, trimethoprim, dan trimetrexat, sedangkan metronidazole menghambat sintesis DNA (Pelczar, 2008).

II.5 Uraian Umum Uji Mikrobiologi

1. Metode Difusi

Metode ini paling sering digunakan adalah metode difusi agar menggunakan cakram kertas, cakram kaca, pencetak lubang dalam menentukan kerentanan bakteri patogen terhadap obat-obatan antibakteri. Prinsip metode ini adalah dengan mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri didalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan bakteri adalah daerah bening yang merupakan zona hambat di sekitar cakram. Luas zona hambat berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah zona hambatannya (Jawetz, 1996).

2. Metode dilusi

Prinsipnya adalah seri pengeceran konsentrasi antibiotik. Dapat digunakan untuk menentukan MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) = KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan MKC (*Minimal Killing Concentration*) = KBM

trasi Bunuh Minimal) suatu antibiotik. Diinokulasi suatu seri peran antibiotik dalam tabung berisi media cair yang jernih dinyatakan

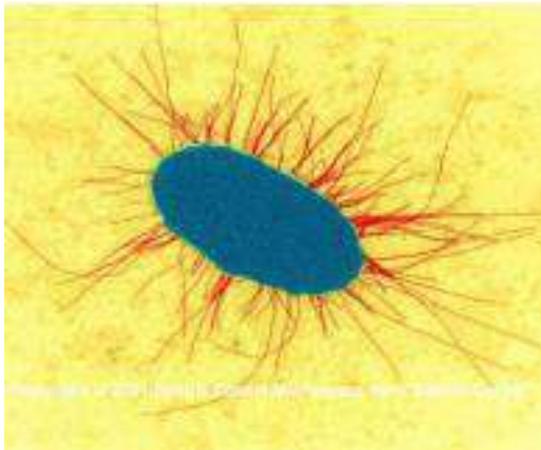


sebagai MIC, sedangkan tabung yang jernih diinokulasikan goresan pada media *plate agar*, diinkubasi dan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada permukaan *plate agar*. Pengenceran tertinggi dari tabung yang jernih dan menunjukkan tidak ada pertumbuhan pada *plate agar* sebagai MIC (Agnes, 2015).

II.6 Uraian Mikroba Uji

II.6.1 *Eschericia coli*

I.6.1.1 Klasifikasi



Gambar 2. *Escherichia Coli* (Sumber: Smith-Keary,1988)

Divisi : Procaryota

Kelas : Gammaproteobacteria

Bangsa : Enterobacteriaes

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Escherichia

Jenis : *Escherichia coli*

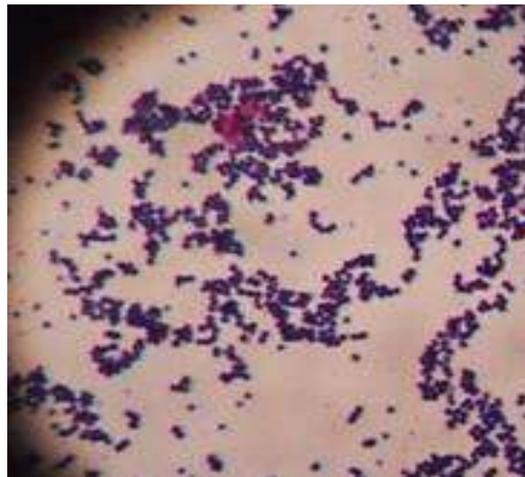


II.6.1.2 Sifat dan Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media pembedihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat mikroba aerofilik (Radji & Maksum, 2010). *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 1995).

II.6.2 *Staphylococcus aureus*

II.6.2.1 Klasifikasi



Gambar 3. *Staphylococcus Aureus* (Sumber: Toelle dan Lenda, 2014)

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



II.6.2.2 Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus berbentuk bulat. Koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani *Staphyle* berarti anggur dan *coccus* berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan *aureus* (Radji dan Maksum, 2010).

II.6.3 *Pseudomonas aeruginosa*

II.6.3.1 Klasifikasi



Gambar 4. *Pseudomonas aeruginosa* (Garrity dkk, 2004)

Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Pseudomonadales
Suku	: Pseudomonadaceae
Marga	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

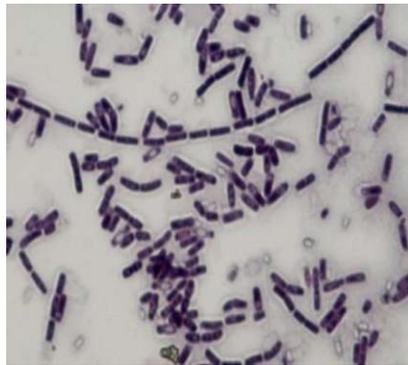


II.6.3.2 Sifat dan Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dengan berbentuk sel tunggal, batang lurus atau melengkung, namun tidak berbentuk heliks. Pada umumnya berukuran 0,5 – 1,0 μm . Motil dengan flagelum polar, monotrikus atau multitrikus. Tidak menghasilkan selongsong prosteka. Tidak dikenal adanya stadium istirahat. Metabolisme dengan respirasi, tidak pernah fermentatif. Beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif, dapat menggunakan H atau CO_2 sebagai sumber energi. Oksigen molekuler merupakan penerima elektron universal, beberapa dapat melakukan denitrifikasi dengan menggunakan nitrat sebagai penerima pilihan (Pelczar dkk, 2008)

II.6.4 *Bacillus subtilis*

II.6.4.1 Klasifikasi



Gambar 5. *Bacillus subtilis* (Sumber: Madigan, 2005)

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales



Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species : *Bacillus subtilis* sp.

II.6.4.2 Sifat dan Morfologi

Bacillus subtilis sp. merupakan bakteri berbentuk batang, dengan ukuran 0,3 – 2,2 μm x 127 – 7,0 μm . Sebagian besar *Bacillus subtilis* sp. bersifat motil, bergerak dengan flagelum lateral yang khas. Dalam keadaan lingkungan yang tidak mendukung biasanya bakteri ini membentuk endospora. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif, dengan sifat kemoheterotrof.

Kemoheterotrof adalah organisme yang memperoleh sumber energinya dari senyawa kimia, sedangkan sumber nutrisi untuk metabolismenya berasal dari bahan organik. Jalur metabolisme *Bacillus subtilis* sp. adalah melalui respirasi aerob, dimana proses perombakan bahan organik menjadi ATP dibantu oleh adanya oksigen (Pelczar dan Chan, 2005).



II.6.5 *Salmonella thypi*

II.6.5.1 Klasifikasi



Gambar 6. *Salmonella thypi* (Garrity dkk, 2004)

Divisi : Gammaproteobacteria

Bangsa : Enterobacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Salmonella

Jenis : *Salmonella typhi*

II.6.5.2 Sifat dan Morfologi

Salmonella typhi merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 0,7-1,5 μm , biasanya tunggal dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, jenis yang bergerak flagel peritrik, hidup secara aerobik atau anaerobik fakultatif, artinya dapat menghasilkan energi dengan keadaan anaerob. Meragikan glukosa dengan menghasilkan asam kadang-kadang gas dari manosa. Sebagian besar isolat motil (dapat bergerak).

...silkan H₂S. Tumbuh optimal pada suhu 37°C dan berkembang biak
...nu kamar. Mati pada suhu 56°C atau pada keadaan kering. Bakteri



ini dapat ditemukan disaluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini merupakan penyebab demam tifoid karena adanya infeksi akut pada usus halus manusia dan hewan. Memiliki tiga jenis antigen O, antigen Vi atau K, dan antigen H (Pelczar dkk, 2008).

