

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN
BEBERAPA FRAKSI DARI AKAR BAWANG DAUN
(*Allium fistulosum* L.) TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT
AND SOME FRACTIONS OF LEEK ROOT
(*Allium fistulosum* L.) AGAINST
*Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh

NURFADILA

N011 18 1364



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN BEBERAPA FRAKSI
DARI AKAR BAWANG DAUN (*Allium fistulosum* L.) TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT AND SOME
FRACTIONS OF LEEK ROOT (*Allium fistulosum* L.) AGAINST
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

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

**NURFADILA
N011 18 1364**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

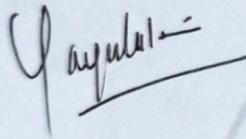
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN BEBERAPA FRAKSI
DARI AKAR BAWANG DAUN (*Allium fistulosum* L.) TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

NURFADILA

N011 18 1364

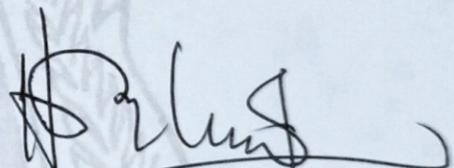
Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,



Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt.
NIP. 19850417 201504 2 001

Pembimbing Pendamping,



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

Pada Tanggal, 04 Januari 2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN BEBERAPA FRAKSI
DARI AKAR BAWANG DAUN (*Allium fistulosum* L.) TERHADAP
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT AND SOME
FRACTIONS OF LEEK ROOT (*Allium fistulosum* L.) AGAINST
*Staphylococcus aureus***

Disusun dan diajukan oleh:

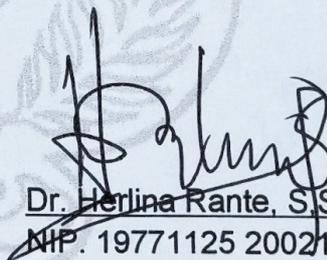
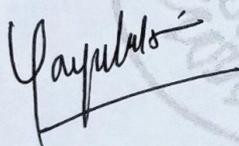
**NURFADILA
N011 18 1364**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 04 Januari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

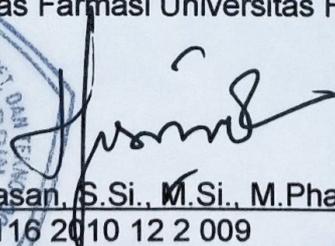
Pembimbing Pendamping,



Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt.
NIP. 19850417 201504 2 001

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

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 2010 12 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Nurfadila
Nim : N011 18 1364
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Beberapa Fraksi dari Akar Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 04 Januari 2023

Yang menyatakan,



Nurfadila

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil 'alamiin segala puji bagi Allah atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang diajukan untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini melalui banyak kesulitan dan rintangan, namun berkat bimbingan dan dukungan secara moral maupun material dari berbagai pihak dan berkah dari Allah SWT sehingga kesulitan tersebut dapat diatasi. Dengan segala kerendahan hati, ucapan rasa syukur dan terima kasih tak terhingga dari penulis kepada:

1. Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku pembimbing utama dan Dr. Herlina Rante, S.Si.,M.Si.,Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya dan memberikan bimbingan, saran, kritik, dan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan saran untuk perbaikan penelitian ini.
3. Seluruh Bapak/Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya yang berharga dan membimbing penulis serta seluruh staf akademik atas fasilitas dan pelayanan yang

telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

4. Ibu A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan banyak nasehat kepada penulis selama menempuh studi.
5. Ucapan terima kasih untuk orang tua dan saudara-saudara penulis yang tercinta, yang sangat-sangat berjasa di dalam hidup penulis, yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis baik secara moril maupun materil.
6. Sari, Syafira, Yeri, Ridhayani teman dekat penulis yang selalu menemani dikala susah dan senang.
7. Terima kasih untuk Aisyah yang menemani saat penelitian khususnya di mikrobiologi.
8. Terima kasih untuk Sarkia serta teman-teman yang membantu mengumpulkan sampel di Malino.
9. Rekan-rekan Korps. Asisten Fitokimia yang senantiasa memberikan dukungan.
10. Teman-teman Angkatan "GEMF18ROZIL" untuk ikatan persaudaraan, canda tawa, dan uluran tangan dikala susah dari awal perkuliahan hingga saat ini.
11. Semua yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu semoga amal baik akan kembali kepada kalian dan mendapat balasan yang berlipat ganda.

Penulis menyadari bahwa ada banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran senantiasa penulis harapkan demi perbaikan skripsi ini, semoga skripsi ini dapat membawa manfaat dalam bidang Farmasi kedepannya.

Makassar, 2023

Nurfadila

ABSTRAK

NURFADILA. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Beberapa Fraksi dari Akar Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*

Allium fistulosum L. merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur. *A. fistulosum* mengandung isoquercitrin, quercitrin, allicin dan memiliki senyawa golongan terpenoid, flavonoid, dan polifenol, senyawa tersebut merupakan golongan senyawa yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia dan aktivitas ekstrak dan fraksi-fraksi akar bawang daun (*A. fistulosum*) dalam menghambat bakteri *S. aureus*. *A. fistulosum* diekstraksi dengan etanol 96%, menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam dan diuapkan pada alat *rotary evaporator*, kemudian hasil ekstrak di partisi dengan menggunakan pelarut heksan dan etil asetat sehingga diperoleh fraksi larut heksan, fraksi larut etil asetat dan fraksi larut air. Ekstrak etanol, fraksi larut heksan, fraksi larut etil asetat, dan fraksi larut air masing-masing dengan konsentrasi 10% dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan media MHA dengan metode disk difusi agar dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, kemudian dilanjutkan dengan metode KLT bioautografi dan skrining fitokimia. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh ekstrak larut air dengan aktivitas yang paling baik dengan diameter daya hambat 10,54 mm, pada uji KLT bioautografi menggunakan fraksi larut etil asetat dan diperoleh hasil yaitu tidak menghasilkan daerah hambat terhadap *S.aureus* dikarenakan konsentrasi ekstrak yang digunakan kurang dan diidentifikasi dengan pereaksi H₂SO₄, AlCl₃, FeCl₃, dragendroff termasuk golongan senyawa terpenoid, flavonoid, dan polifenol. Dapat disimpulkan fraksi larut air ekstrak akar bawang daun (*A. fistulosum*) memiliki aktivitas antibakteri yang terbaik terhadap *S. aureus* dengan diameter daya hambat 10,54 mm, dan fraksi larut etil asetat memiliki golongan senyawa terpenoid, flavonoid, dan polifenol.

Kata Kunci: *Allium fistulosum.*, *S. aureus.*, *allicin*, terpenoid, flavonoid, polifenol

ABSTRACT

NURFADILA. Antibacterial Activity Test of Extract and Some Fractions of Leek Root (*Allium fistulosum* L.) Against the Growth of *Staphylococcus aureus*

Allium fistulosum L. is one of the plants that has antibacterial and antifungal activity. It contains terpenoid, polyphenols, and flavonoids especially isoquercitrin, quercitrin, and allicin. Those compounds generally possess an antibacterial activity. This study aims to determine the activity of extracts and fractions of leaf onion roots (*A. fistulosum*) in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria and active fractions of secondary metabolites of leaf onion roots. *A. fistulosum* was extracted with 96% ethanol, using the maceration method for 3x24 hours and evaporated on a rotary evaporator, then the extract was partitioned using hexane and ethyl acetate solvents to obtain hexane soluble fractions, ethyl acetate soluble fractions and water soluble fractions. The ethanol extract, hexane soluble fraction, ethyl acetate soluble fraction, and water soluble fraction each with a concentration of 10% were tested for antibacterial activity using MHA media with the agar diffusion method disk and incubated for 24 hours at 37°C, then continued with KLT bioautography and phytochemical screening methods. From the results, highest antibacterial activity showed by water soluble fraction with diameter of inhibition zone of 10.54 mm, in the bioautography KLT test using ethyl acetate soluble fraction and obtained results that do not produce inhibition area against *S. aureus* because the concentration of extracts used is less and identified with H₂SO₄, AlCl₃, FeCl₃, dragendroff reagents including terpenoid compounds, flavonoids, and polyphenols. It can be concluded that the water soluble fraction of leek root extract (*A. fistulosum*) has the best antibacterial activity against *S. aureus* with a diameter of inhibition of 10.54 mm, and the ethyl acetate soluble fraction belonging of terpenoid, flavonoid, and polyphenol compounds.

Keywords: *Allium fistulosum.*, *S. aureus.*, *allicin*, terpenoid, flavonoid, polyphenol

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
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	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Tanaman Bawang Daun (<i>A. Fistulosum</i>)	5
II.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
II.1.2 Morfologi Tanaman	5
II.1.3 Kandungan Kimia	6
II.1.4 Manfaat Tanaman	6
II.2 Ekstraksi	7
II.2.1 Pengertian Ekstraksi	7
II.2.2 Jenis-jenis Ekstrak	7
II.2.3 Metode Ekstraksi	8

II.3 Partisi	12
II.3.1 Definisi Partisi	12
II.3.2 Prinsip Partisi	12
II.3.3 Tujuan Partisi	12
II.3.4 Metode Partisi	13
II.4 Kromatografi Lapis Tipis	15
II.4.1 Pengertian KLT	15
II.4.2 Prinsip KLT	15
II.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
II.6 Antimikroba	17
II.7 Metode Uji Bakteri	20
II.7.1 Metode Difusi	20
II.7.1.1 Metode disk difusi agar	20
II.7.1.2 Metode difusi agar sumuran	21
II.7.2 Metode Dilusi	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
III.1 Alat dan Bahan	23
III.2 Penyiapan Sampel	23
III.3 Penyiapan Ekstrak	23
III.4 Partisi Ekstrak	24
III.5 Pembuatan Ekstrak	24
III.6 Sterilisasi Alat	24
III.7 Pembuatan Medium NA	25

III.8 Peremajaan <i>Staphylococcus aureus</i>	25
III.9 Pembuatan Medium MHA	25
III.10 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
III.11 Uji Aktivitas Antibakteri	26
III.12 Skrining Fitokimia	26
III.13 Uji Bioautografi	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
BAB V PENUTUP	34
V.1 Kesimpulan	34
V.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil % rendamen partisi ekstrak dan fraksi akar bawang daun (<i>Allium fistulosum</i>)	28
2. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan hasil partisi ekstrak dan fraksi akar bawang daun (<i>Allium fistulosum</i>) terhadap <i>S. aureus</i>	30
3. Hasil identifikasi senyawa fraksi larut etil asetat ekstrak akar bawang daun (<i>Allium fistulosum</i>) larut etil asetat	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Bawang Daun (<i>Allium fistulosum</i>)	5
2. Hasil partisi ekstrak dan fraksi akar bawang daun	28
3. Hasil KLT partisi ekstrak dan fraksi akar bawang daun	29
4. Simplisia	43
5. Penimbangan simplisia	43
6. Proses sonikasi	43
7. Proses maserasi	43
8. Ekstrak cair akar bawang daun	44
9. Ekstrak dipekatkan dengan <i>Rotary Evaporator</i>	44
10. Ekstrak kental akar bawang daun	44
11. Penimbangan Ekstrak Kental	44
12. Proses partisi	45
13. Partisi ekstrak cair-cair	45
14. Hasil partisi ekstrak cair-cair	45
15. Pembuatan ekstrak 10%	45
16. Hasil KLT partisi ekstrak akar bawang daun	46
17. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri	46
18. Hasil KLT bioautografi akar bawang daun	47
19. Hasil skrining fitokimia dengan metode KLT	47
20. Hasil skrining fitokimia dengan penetesan reagen	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Pembuatan Pembuatan Bakteri	39
2. Skema Kerja Umum	40
3. Perhitungan	41
4. Tabel Hasil Perhitungan Diameter Daerah Hambatan	42
5. Dokumentasi Penelitian	43

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Genus *Allium* L. mencakup lebih dari 400 spesies yang tersebar luas di seluruh dunia. Yang memiliki sifat antibakteri dan antijamur dari *Allium* sp. salah satu contohnya yaitu *Allium fistulosum* yang mengandung *isoquercitrin*, *quercitrin* dan hasil yang diperoleh untuk kuantifikasi yaitu *allicin* (Vlase L. *et.al.*, 2012). Menurut (Sung *et al.*, 2018) menyatakan bahwa *A. fistulosum* juga memiliki kegunaan tradisional sebagai obat herbal untuk pengobatan masuk angin, influenza, sakit perut, sakit kepala, sembelit, disentri, luka, bisul, radang sendi, dan penyakit jantung. Selain itu, *A. fistulosum* telah terbukti memiliki sifat antijamur, antioksidan, antiplatelet, dan antihipertensi yang memiliki kandungan P-asam kumarat, *isoquercitrin*, *quercitrin*, *stigmasterol*, *-sitosterol*, *campesterol*, dan *allicin*. Senyawa *allicin* ini dikenal memiliki kemampuan antimikroba yang luas (Deberdt *et al.*, 2012). Dan bawang daun (*A. fistulosum*) ini juga memiliki kandungan senyawa golongan flavonoid dan dua jenis flavonoidnya, *kaemferol* dan *quersetin* (Yamamoto, 2009).

Dalam pengobatan tradisional bawang daun dipercaya sebagai anti jamur dan infeksi bakteri, untuk mengeluarkan keringat, berfungsi sebagai stimulan metabolisme dan pada bagian akar direkomendasikan untuk

mengobati pilek, sakit kepala, sakit tenggorokan dan luka-luka (Udjaili S. dkk., 2015).

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen, dan salah satu dari penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri patogen pada manusia, salah satu contohnya adalah *Staphylococcus aureus*. *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, bergerombol seperti buah anggur, bersifat anaerob dan aerob, tidak berspora dan tidak motil. Bakteri ini termasuk flora normal terbesar yang terdapat pada manusia, suhu optimal pertumbuhan yaitu 37°C dan batas-batas pertumbuhannya antara 15°C-40°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam (Setiarto, H.B., 2020). Infeksi dapat ditularkan melalui tangan yang kotor atau terkontaminasi (Prasad P. *et.al.* 2008). Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit infeksi yaitu infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik (Herlina dkk., 2015). Infeksi yang terjadi misalnya keracunan makanan karena *S. aureus* dan gejalanya adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang di ikuti oleh diare (Le Loir *et al.*, 2003).

Adapun kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak akar daun bawang, yaitu fenolik, flavonoid dan tanin. Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif pada tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Akhmad dkk., 2019). Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri (Dwyana, 2013).

Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow dkk., 2013).

Pemanfaatan akar bawang daun tersebut masih berkurang dan diduga limbah akar bawang daun tersebut mengandung senyawa-senyawa kimia yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri yang terdapat pada akar bawang daun. Dan tujuan penelitian ini untuk mengetahui bagaimana aktivitas ekstrak dan fraksi akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.) terhadap bakteri uji *S.aureus*. dan mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung dalam fraksi aktif dari akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.).

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah yang dapat ditarik yaitu:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.) terhadap pertumbuhan *S.aureus*.
2. Golongan senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung dalam fraksi aktif dari akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.).

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, adapun tujuan penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.) terhadap bakteri uji *S.aureus*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi aktif dari akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.)

Bawang daun merupakan salah satu jenis sayuran dari kelompok bawang yang banyak digunakan dalam masakan. Aroma dan rasanya yang khas membuat sayuran ini banyak digunakan sebagai bumbu penyedap masakan. Dalam seni masak Indonesia, bawang daun bisa ditemukan misalnya dalam martabak telur, sebagai bagian dari sup atau soto (AgroMedi R, 2011).

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bagian	: Asparagales
Suku	: Amaryllidaceae
Marga	: <i>Allium</i>
Jenis	: <i>Allium fistulosum</i> L.



Gambar 1. Tanaman Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman bawang daun beradaptasi pada kisaran iklim yang lebar, dapat ditanam di daerah beriklim dingin, beriklim panas dan lembap. Curah hujan yang tepat untuk pertumbuhan bawang daun sekitar 1.500-2000

mm pertahun. Idealnya, daerah budi daya memiliki suhu udara harian 18-25°C (AgroMedi R, 2011).

Tanaman bawang daun bisa tumbuh didataran rendah maupun tinggi. Namun, dataran rendah yang dekat dengan pantai bukan lokasi yang tepat. Tanaman ini tumbuh baik pada ketinggian 250-1.500 m dpl (AgroMedi R. 2011).

II.1.3 Kandungan Kimia

A. fistulosum mengandung *isoquercitrin*, *quercitrin* dan hasil yang diperoleh untuk kuantifikasi yaitu *allicin* (Vlase L, et.al. 2012). *A. fistulosum* memiliki kandungan P-asam kumarat, *isoquercitrin*, *quercitrin*, *stigmasterol*, *sitosterol*, *campesterol*, dan *allicin*. Senyawa *allicin* ini dikenal memiliki kemampuan antimikroba yang luas (Deberdt et al, 2012). Dan bawang daun (*A. fistulosum*) ini juga memiliki kandungan senyawa golongan flavonoid dan dua jenis flavonoidnya, *kaemferol* dan *quersetin* (Yamamoto, 2009).

II.1.4 Manfaat tanaman

A. fistulosum juga memiliki kegunaan tradisional sebagai obat herbal untuk pengobatan masuk angin, influenza, sakit perut, sakit kepala, sembelit, disentri, luka, bisul, infestasi parasit, radang sendi, dan penyakit jantung. Selain itu, *A. fistulosum* telah terbukti memiliki sifat antijamur, antioksidan, antiplatelet, dan antihipertensi (Sung et al. 2018).

II.2 Ekstraksi

II.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan 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. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan baku obat secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan menggunakan tekanan (Depkes, 1995).

Tujuan ekstraksi ialah menarik atau memisahkan sebanyak mungkin komponen kimia yang memiliki khasiat pengobatan dari komponen yang tidak bermanfaat agar lebih mudah dipergunakan (Permatasari MI, 2013).

II.2.2 Jenis-Jenis Ekstrak

Berdasarkan kelarutannya, ekstrak terbagi atas (Mukhriani, 2014) :

- a. Ekstrak kering, yaitu ekstrak berupa sediaan berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan pelarutnya dan tidak lagi mengandung pelarut. Susut pengeringannya tidak lebih dari 5%.
- b. Ekstrak cair, yaitu ekstrak berupa sediaan cair yang secara umum campuran 1 bagian berat atau volume setara dengan 1 bagian obat herbal kering atau bahan asal hewan. Ekstrak ini masih mengandung pelarut.

- c. Ekstrak kental, yaitu ekstrak berupa sediaan setengah padat atau kental yang dibuat dari hasil penyarian simplisia kemudian pelarutnya diuapkan. Ekstrak ini sudah tidak mengandung pelarut tapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.

II.2.3 Metode Ekstraksi

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah :

- 1) Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini 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. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014).

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).

2) Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

3) Soklet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

4) Refluks

Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu alas bulat (Mukhriani, 2014).

5) *Ultrasound - Assisted Solvent Extraction*

Ultrasound - Assisted Solvent Extraction metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultrasonik dan ultrasound. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa (Mukhriani, 2014).

6) *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Supercritical Fluid Extraction (SFE) adalah proses memisahkan satu komponen (ekstraktan) dari yang lain (matriks) dengan menggunakan cairan superkritis sebagai pelarut ekstraksi. Ekstraksi biasanya dari matriks padat, tetapi juga bisa dari cairan. SFE dapat digunakan sebagai persiapan langkah sampel untuk tujuan analisis atau pada skala yang lebih besar baik jalur bahan yang tidak diinginkan dari sebuah produk (misalnya dekafeinasi) atau mengumpulkan produk yang diinginkan (misalnya minyak esensial) (Mukhriani, 2014).

7) *Microwave Assisted Extraction*

Dalam metode ini energi gelombang mikro (microwave) membantu pemisahan senyawa aktif dari sampel tumbuhan ke dalam pelarut. Gelombang mikro memiliki medan listrik dan magnet yang tegak lurus satu sama lain. Listrik yang dialirkan menghasilkan panas melalui rotasi dipolar dan konduksi ionik. Meningkatnya konstanta dielektrik pelarut, pemanasan yang dihasilkan semakin cepat. Berbeda dengan metode klasik, ekstraksi dengan bantuan microwave memanaskan seluruh sampel secara bersamaan. Selama ekstraksi, panas mengganggu ikatan hidrogen yang lemah karena rotasi dipol molekul dan migrasi ion terlarut meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sampel atau matriks (Mukhriani, 2014).

8) *Acelarated Assisted Extraction*

Dalam teknik ekstraksi pelarut dipercepat, pelarut digunakan pada suhu tinggi dan tekanan untuk menjaga pelarut dalam bentuk cair selama proses ekstraksi. Karena suhu tinggi kapasitas pelarut untuk melarutkan analit meningkat dan dengan demikian tingkat difusi meningkat. Selanjutnya, suhu yang lebih tinggi mengurangi viskositas dan pelarut dapat dengan mudah menembus pori-pori matriks. Pelarut bertekanan memungkinkan kontak lebih dekat dengan analit dan pelarut. Namun, metode ini menggunakan lebih sedikit waktu dan lebih sedikit jumlah pelarut untuk ekstraksi bahan aktif. Keuntungan dari metode ini adalah ekstraksi untuk ukuran sampel 1-100g dalam menit, pengurangan pelarut

dramatis dan berbagai aplikasi dan penanganan matriks asam dan basa (Mukhriani, 2014).

II.3 Partisi

II.3.1 Definisi Partisi

Partisi adalah proses pemisahan untuk memperoleh komponen zat terlarut dari campurannya dalam bentuk padat dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Partisi juga dapat didefinisikan sebagai dispersi komponen kimia dari ekstrak yang telah dikeringkan dalam suatu pelarut yang sesuai berdasarkan kelarutan dari komponen kimia dan zat-zat yang tidak diinginkan seperti garam-garam tidak dapat larut. Penggunaan ekstrak ini dapat dilakukan dengan cara mengaduk suspensi padatan di dalam wadah dengan atau tanpa pemanasan (Depkes, 1995).

II.3.2 Prinsip Partisi

Prinsip partisi ekstraksi merupakan pemisahan komponen zat yang terlarut dari campuran dalam padat dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Partisi ekstrak memisahkan senyawa polar dan non polar dimana senyawa polar akan larut pada pelarut polar dan senyawa non polar akan larut pada pelarut non polar (Depkes, 1995).

II.3.3 Tujuan Partisi

Menurut Najib (2018), tujuan partisi adalah memisahkan komponen kimia dari ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya.

II.3.4 Metode Partisi

Metode partisi ada 2, yaitu Ekstraksi Cair – Cair (ECC) dan Ekstraksi Cair – Padat (ECP) :

a. Ekstraksi Cair – Cair

Ekstraksi cair-cair atau ekstraksi pelarut merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada fenomena distribusi atau partisi suatu analit diantara dua pelarut yang tidak saling campur. Ekstraksi ini dilakukan untuk mendapatkan suatu senyawa dari campuran berfase cair dengan pelarut lain yang juga berfase cair. Prinsip dasar dari pemisahan ini adalah adanya perbedaan kelarutan suatu senyawa dalam dua pelarut yang berbeda. Proses ekstraksi ini melibatkan ekstraksi analit dari fase air ke dalam pelarut organik yang bersifat non polar atau agak polar, seperti heksan, metilbenzene, atau diklorometan. Analit-analiti ini yang mudah terekstraksi dalam pelarut organik adalah molekul-molekul netral yang dapat berinteraksi dengan pelarut yang bersifat non polar atau agak polar, sedangkan senyawa yang mudah mengalami ionisasi akan tertahan pada fase cair. Pada metode ini, alat yang digunakan yaitu corong pisah dimana corong pisah adalah alat yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran antara dua fasa pelarut dengan densitas atau massa jenis yang berbeda yang tidak saling campur (Leba dan Maria, 2016). Keuntungan metode ini yaitu sederhana, tidak

membutuhkan waktu yang lama dan mudah untuk dilakukan (Prihatiningsih dkk, 2016).

Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan pelarut yang banyak dan residunya berbahaya bagi lingkungan (Armid, 2016).

b. Ekstraksi Cair – Padat

Metode Ekstraksi Cair – Padat (ECP) merupakan proses pemisahan suatu zat terlarut dalam suatu padatan dengan mengontakkan padatan tersebut dengan pelarut (solvent) sehingga padatan dan cairan bercampur dan zat terlarut tersebut terpisah dari padatan karena larut dalam pelarut. Pada ekstraksi ini terdapat dua fase yaitu overflow (ekstrak) dan fase underflow (rafinat/ampas) (Nasir dkk, 2009). Mekanisme ekstraksi ini dimulai dengan adsorpsi pelarut oleh permukaan sampel yang diikuti difusi pelarut ke dalam sampel dan pelarut analit oleh pelarut (Interaksi analit dengan pelarut). Selanjutnya, terjadi difusi analit-pelarut ke permukaan sampel dan desorpsi analit-pelarut dari permukaan sampel berlangsung sangat cepat ketika terjadi kontak antara sampel dengan pelarut. Kecepatan difusi bergantung pada beberapa faktor yaitu temperatur, luas permukaan partikel (sampel), jenis pelarut, perbandingan analit dengan pelarut, serta kecepatan dan lama pengadukan (Leba dan Maria, 2017). Keuntungan metode ini adalah dapat mengurangi penggunaan pelarut yang berbahaya, memerlukan waktu yang lebih sedikit, dan

dapat dilakukan otomatisasi serta digunakan untuk pemisahan dan pemurnian, sedangkan kekurangannya yaitu membutuhkan peralatan tambahan berupa alat centrifuge (Armid, 2011).

II.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

II.4.1 Pengertian KLT

Kromatografi Lapis Tipis yang biasanya disingkat dengan KLT adalah metode kromatografi yang banyak digunakan untuk melakukan pemisahan dan analisis sampel dengan alat dan bahan yang sederhana (Wulandari, 2011). KLT merupakan bentuk kromatografi planar selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Pelaksanaan KLT cenderung lebih mudah dan lebih murah dibandingkan kromatografi kolom karena menggunakan peralatan yang sederhana dan dapat dilakukan oleh semua laboratorium setiap saat dengan cepat (Gandjar dan Rohman, 2015).

II.4.2 Prinsip KLT

Prinsip dari KLT adalah adsorpsi, desorpsi, dan elusi dimana adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler sehingga komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fase diam. Desorpsi merupakan peristiwa saat komponen yang teradsorpsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen) sehingga terjadi persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fase diam. Elusi merupakan peristiwa yang terjadi ketika komponen ikut terbawa oleh eluan (Husna dan Soraya, 2020).

II.5 *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut
(Staf dan Pengajar Fakultas Kedokteran UI) :

Kingdom : Bacteria

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bagian : Bacillales

Suku : *Staphylococcaceae*

Marga : *Staphylococcus*

Jenis : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus berasal dari kata *stapyle* berarti kelompok buah anggur dan *kokus* berarti bakteri yang memiliki morfologi berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 mikron. *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, bergerombol seperti buah anggur, bersifat anaerob dan aerob serta tidak berspora. Bakteri ini termasuk flora normal terbesar yang terdapat pada manusia, suhu optimal pertumbuhan yaitu 37°C dan batas-batas pertumbuhannya antara 15°C-40°C dengan suhu optimum 35°C (Staf Pengajar Fakultas Kedokteran UI).

Staphylococcus aureus biasanya terdapat pada saluran pernapasan atas dan kulit. Keberadaan bakteri ini pada saluran pernapasan dan kulit pada individu jarang menyebabkan penyakit, individu sehat biasanya hanya berperan sebagai karier. Infeksi serius akan terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan hormon; adanya penyakit, luka,

atau perlakuan menggunakan steroid atau obat lain yang memengaruhi imunitas sehingga terjadi pelemahan inang. Salah satu penyebab paling sering akan terjadinya infeksi bakteri ini didapat dirumah sakit, dan sering kali menjadi penyebab luka pasca operasi (Setiarto, H.B, 2020).

II.6 Antimikroba

Antimikroba merupakan bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme penyebab infeksi pada manusia, hewan ataupun tumbuhan, harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide dan Sartini, 2016). Antimikroba memiliki mekanisme kerja sebagai berikut (Djide dan Sartini, 2016);

a. Bersifat antimetabolit

Antimikroba bekerja dengan memblok tahap metabolik spesifik mikroorganisme, seperti Trimetoprin dan Sulfonamida. Trimetoprin secara struktur merupakan analog pteridin yang dibagi oleh dihidrofolat reduktase dan memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat kompetitif enzim tersebut dan dapat mengurangi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Sedangkan sulfonamida memiliki mekanisme kerja dengan menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Secara struktur sulfonamid bebas mirip dengan asam folat, para-amino asam benzoate (PABA), dan bekerja sebagai penghambat kompetitif untuk

enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat.

b. Pengaktifan enzim tertentu

Antimikroba dengan mekanisme kerja pengaktifan enzim tertentu merupakan mekanisme umum dari senyawa antiseptik dan disinfektan, seperti aldehida, amida, karbanilida, etilen oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa amonium kuarterner.

c. Denaturasi Protein

Antimikroba dengan mekanisme kerja denaturasi protein yaitu turunan alkohol, halogen, senyawa merkuri, turunan fenol, peroksida dan senyawa kuartener yang bekerja sebagai antiseptik dan disinfektan dengan cara denaturasi dan konjugasi protein sel bakteri.

d. Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Antimikroba yang memiliki mekanisme kerja ini yaitu turunan amin, guanidine, senyawa amonium kuartener dan turunan fenol dengan mekanisme kerja mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri, senyawasenyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial sehingga bakteri mengalami kematian.

e. Intekalasi ke dalam DNA

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini yaitu beberapa zat warna seperti turunan trifenilmetan dan turunan akridin, yang bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat,

menghambat sintesis DNANYa dan akan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

f. Pembentukan Khelat

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini diantaranya dari beberapa turunan fenol, seperti heksoklorofen dan oksikuinolon yang dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu, yang kemudian bentuk khelat tersebut akan masuk ke dalam sel bakteri. Kadar ion-ion logam yang tinggi di dalam sel akan menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim sehingga mikroorganisme mengalami kematian.

g. Penghambatan sintesis dinding sel

Antimikroba akan bekerja dengan mengaktivasi enzim yang dapat merusak dinding sel bakteri atau menghambat sintesis dinding sel bakteri.

h. Penghambatan fungsi membran sel

Antimikroba akan bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan akan menyebabkan senyawa intraseluler bakteri keluar. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol membran sel pada jamur, contohnya amfoterisin B dan nistatin atau merusak membran sel bakteri gram negatif, contohnya polimiksin dan kolistin.

i. Penghambatan sintesis protein

Antimikroba dalam kelompok mekanisme ini akan mempengaruhi fungsi ribosom yang terdapat pada mikroorganisme dan akan

menyebabkan sintesis protein pada mikroorganisme terhambat. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan ribosom 30S beberapa contohnya aminoglikosida dan tetrasiklin, maupun berinteraksi dengan ribosom 50S misalnya pada kloramfenikol, linkomisin, klindamisin dan eritromisin.

j. Penghambatan asam nukleat

Antimikroba dengan mekanisme penghambatan asam nukleat contohnya pada rifampisin dengan mekanisme mengikat dan menghambat DNA-dependent RNA polymerase yang ada pada bakteri, kemudian pada metronidazole menghambat sintesis DNA.

II.7 Metode Uji Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri terdiri atas dua yaitu metode difusi dan metode dilusi (Balouiri, 2016).

II.7.1 Metode difusi

II.7.1.1 Metode disk difusi Agar

Metode difusi cakram adalah salah satu teknik mikrobiologi klasik dan masih sangat umum digunakan. Metode ini memiliki keunggulan diantaranya, kemudahan dalam mengenali biakan, kemudahan menafsirkan hasil yang ditemukan. Adapun kelemahan dari metode ini yaitu tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan efek bakteristatik (Husain dan Wardhani, 2021).

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi agar yaitu jenis media yang digunakan, kondisi dan waktu inkubasi, kepadatan

inokulum yang akurat, penempatan paper disc yang harus diletakkan dengan kuat pada permukaan agar serta ketebalan agar dalam cawan petri. Ketebalan agar dalam cawan petri dapat mempengaruhi ukuran zona hambat yang terbentuk (Husain dan Wardhani, 2021). Zona bening yang terbentuk diukur dan diklasifikasikan berdasarkan diameter zona beningnya. Aktivitas antibakteri senyawa dikatakan lemah jika memiliki zona bening 12 mm. laju difusi antimikroba melalui agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan senyawa pada agar serta berat molekul senyawa antimikroba. Molekul yang lebih besar akan berdifusi pada laju yang lebih lambat daripada senyawa dengan berat molekul yang lebih rendah. Perkiraan waktu bakteri uji untuk tumbuh dan mencapai massa kritis adalah 4-10 jam tergantung bakteri patogen yang digunakan, kondisi tersebut juga dipengaruhi oleh media dan suhu inkubasi. Standar 0,5 McFarland yang digunakan setara dengan suspensi bakteri yang mengandung antara 1×10^8 dan 2×10^8 CFU/mL (Husain dan Wardhani, 2021).

II.7.1.2 Metode Difusi Agar Sumuran

Metode difusi agar sumuran banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba tanaman atau ekstrak mikroba. Serupa dengan prosedur yang digunakan dalam metode cakram, permukaan plat agar diinokulasikan dengan menyebarkan volume inokulum mikroba ke seluruh permukaan agaragar. Kemudian lubang dengan diameter 6-8 mm dibuat secara aseptik dengan alat steril, dan volume (20-100 mL) agen

antimikroba atau larutan ekstrak pada konsentrasi yang diinginkan dimasukkan ke dalam sumur. Kemudian pelat agar diinkubasi, agen antimikroba berdifusi dalam media agar dan menghambat pertumbuhan mikroba uji (Husain dan Wardhani, 2021).

II.7.2 Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang tepat dalam menentukan nilai KHM. Dalam metode ini, konsentrasi senyawa antimikroba pada media agar maupun media cair dapat ditentukan, sehingga terdapat beberapa variasi konsentrasi yang dapat diujikan. Metode dilusi secara garis besar terdiri atas metode dilusi cair dan dilusi padat (Balouiri *et al.*, 2016).