PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELENGKENG (*Dimocarpus longan* L) TERHADAP *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE *DISK DIFFUSION* DAN *AGAR DIFFUSION*

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Mencapai Gelar Sarjana

Oleh :

Anis Aprelia Tri Wijayanti
18020200073

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
UNIVERSITAS ANWAR MEDIKA
SIDOARJO
2022

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELENGKENG (*Dimocarpus longan L*) TERHADAP *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE DISK DIFFUSION DAN AGAR DIFFUSION

SKRIPSI
Diajukan oleh:

Anis Aprelia Tri Wijayanti
18020200073

telah dipertahankan di depan tim penguji
dan dinyatakan memenuhi syarat,
Sidoarjo, 7 Juli 2022

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I,

apt. Iif Hanifa Nurrosyidah, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0731128604

Dosen Pembimbing II,

apt. Dewi Rahmawati, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0513108101

Dosen Penguji I,

apt. Arista Wahyu Ningsih, S.Farm., M.Si
NIDN. 0727038805

Dosen Penguji II,

Ivan Charles S Klau, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0706089006

Ditetapkan di : Sidoarjo
Tanggal : 7 Juli 2022

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Universitas Anwar Medika

apt. Yani Ambari, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0703018705

PERNYATAAN ORISINAL SKRIPSI

Saya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	:	Anis Aprelia Tri Wijayanti
Tempat & Tanggal Lahir	:	Sidoarjo, 5 April 2000
Alamat	:	Perum-DAM Block TA 191 RT 26 RW 07, Desa Barengkrajan, Kecamatan Krian, Kabupaten Sidoarjo
Nomor Induk Mahasiswa	:	18020200073
Program Studi	:	S1 Farmasi
Angkatan	:	2018
Nomor Telp. Rumah	:	-
Nomor HP	:	085731197245

Dengan ini saya menyatakan yang sebenarnya:

- Bahwa naskah skripsi ini benar-benar orisinal, dan baru, dibuat oleh saya sendiri;
- Bahwa saya tidak menjiplak karya ilmiah milik orang lain;
- Bahwa naskah ini sepengetahuan saya belum ada yang membuat atau telah dipublikasikan atau pernah ditulis dan / atau diterbitkan oleh orang lain;
- Bahwa setiap pendapat orang lain yang saya kutip, selalu saya cantumkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila pernyataan saya tidak benar dan dikemudian hari ternyata ada pihak lain yang mengklaim sebagai tulisannya yang saya jiplak, maka saya akan mempertanggungjawabkan sendiri tanpa melibatkan dosen pembimbing dan/ ataupun Program Studi S1 Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Anwar Medika.

Sidoarjo, 7 Juli 2022

Yang menyatakan,

METERAI TEMPEL

496A2AJX900916240

Anis Aprelia Tri Wijayanti

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat, karunia, dan Hidayah – Nya sehingga penyusunan Proposal Skripsi yang berjudul "**Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan Lour*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*"** dapat diselesaikan. Proposal Skripsi ini untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam bidang Farmasi di Universitas Anwar Medika.

Skripsi ini dapat diselesaikan atas bimbingan, pengarahan, dan bantuan banyak pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal skripsi
2. Ibu Martina Kurnia Rohmah, S.Si., M.Biomed Selaku Rektor Universitas Anwar Medika
3. Ibu apt. Yani Ambari, S.Farm., M.Farm. Selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi yang memberikan ijin kepada kami untuk dapat menyelesaikan Skripsi
4. Ibu apt. Iif Hanifa Nurrosyidah, S.Farm., M.Farm. Selaku Dekan sekaligus Dosen Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama penyusunan Skripsi
5. Ibu apt. Dewi Rahmawati, S.Farm., M.Farm., Selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama penyusunan Skripsi
6. Seluruh jajaran Dosen dan Tenaga Kependidikan Universitas Anwar Medika
7. Kedua orang tua, Ibu dan Alm. Ayah tercinta. Abang dan Kakak tersayang yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materil serta doa yang tiada henti – hentinya kepada penulis
8. Jodoh Dimasa depan yang telah banyak memberikan dukungan serta doa yang tiada henti– hentinya kepada penulis

9. Pihak Keluarga Ke 2 yang telah memberikan dukungan serta doa yang tiada henti– hentinya kepada penulis
10. Teman – teman semasa perkuliahan serta semua pihak yang telah memberikan semangat demi terselesaikannya Skripsi ini dengan baik

Penulis menyadari bahwa penulisan Skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan. Semoga Allah SWT memberikan pahala yang berlipat ganda kepada semua pihak yang membantu penulis. Selain itu semoga ilmu yang penulis peroleh dapat bermanfaat bagi penulis, masyarakat, dan ilmu pengetahuan. Amiinnn.

Sidoarjo,7 Juli 2022

Penulis

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELENGKENG (*Dimocarpus longan L*) TERHADAP *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE *DISK DIFFUSION* DAN *AGAR DIFFUSION*

Anis Aprelia Tri Wijayanti

E-mail: Brawijayawijayanti@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu tanaman tradisional Indonesia yang tersebar dengan luas di beberapa daerah di Indonesia serta berpotensi untuk dikembangkan yaitu tanaman kelengkeng (*Dimocarpus longan L*). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan hasil aktivitas antibakteri ekstrak daun kelengkeng dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion.*

Serbuk daun kelengkeng diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelengkeng menunjukkan mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid, fenol, alkaloid, steroid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng terhadap *Escherichia coli* dengan metode *Disk diffusion* pada konsentrasi 50% mempunyai nilai efektivitas (17,5 mm), pada konsentrasi 75% mempunyai nilai efektivitas (21,25 mm), dan pada konsentrasi 100% mempunyai nilai efektivitas (20,75 mm), Sedangkan metode *Agar diffusion* pada konsentrasi 50% mempunyai nilai efektivitas (16 mm), pada konsentrasi 75% mempunyai nilai efektivitas (17 mm) dan pada konsentrasi 100% mempunyai nilai efektivitas (26,5 mm).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan metode *Agar diffusion* dengan konsentrasi 100% adalah konsentrasi terbaik untuk menghambat *Escherichia coli* dengan zona hambat mencapai 26,5 mm hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun kelengkeng dapat digunakan sebagai anti bakteri berkategori kuat karena memiliki zona hambat lebih dari 18 mm.

Kata Kunci : Daun Kelengkeng, *Escherichia coli*, *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELENGKENG (*Dimocarpus longan L*) TERHADAP *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE *DISK DIFFUSION* DAN *AGAR DIFFUSION*

Anis Aprelia Tri Wijayanti

E-mail: Brawijayawijayanti@gmail.com

ABSTRACK

One of the traditional Indonesian plants that is widely spread in several regions in Indonesia and has the potential to be developed is the longan plant (Dimocarpus longan L). This study was conducted to determine the difference in the results of antibacterial activity of longan leaf extract in inhibiting the growth of Escherichia coli bacteria by Disk Diffusion and Agar Diffusion methods.

Longan leaf powder was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent and then the filtrate was concentrated using rotary evaporator. Phytochemical screening test results showed that ethanol extract of longan leaves showed to contain compounds of saponins, tannins, flavonoids, phenols, alkaloids, steroids. The results showed that there is a comparison of antibacterial activity of ethanol extract of longan leaves against Escherichia coli with Disk diffusion method at a concentration of 50% has a value of effectiveness (17.5 mm), at a concentration of 75% has a value of effectiveness (21.25 mm), and at a concentration of 100% has a value of effectiveness (20.75 mm), while Agar diffusion method at a concentration of 50% has a value of effectiveness (16 mm), at a concentration of 75% has a value of effectiveness (17 mm) and at a concentration of 100% has a value of effectiveness (26.5 mm).

Based on research conducted diffusion method with a concentration of 100% is the best concentration to inhibit Escherichia coli with inhibition zone 26.5 mm this ethanol extract of longan leaves is classified as Susceptible can be used as a anti-bacterial category because it has an inhibition zone of more than 18 mm.

Keyword **:** *Dimocarpus longan Lour, Escherichia coli, Disk Diffusion* and *Agar Diffusion*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR ..... **iv**
ABSTRAK ..... **vi**
ABSTRACK ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **viii**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR TABEL ..... **xi**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xiii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Hipotesis 4
1.4 Tujuan Penelitian 4
1.5 Manfaat Penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **5**
2.1. Tinjauan Kelengkeng 5
2.1.1 Tanaman Kelengkeng 5
2.1.2 Klasifikasi kelengkeng (*Dimocarpus longan* L.) 6
2.1.3 Kandungan kimia kelengkeng 6
2.1.4 Morfologi kelengkeng 7
2.2. Escherichia coli 8
2.2.1 Klasifikasi *Escherichia coli* 8
2.2.2 Morfologi *Escherichia coli* 8
2.2.3 Patogenesis 9
2.3. Pembuatan Simplisia 9
2.4. Ekstraksi 11
2.4.1 Metode Ekstraksi Cara Dingin 12
2.4.2 Metode Ekstraksi Cara Panas 12
2.5. Antibakteri 16
2.6. Metode Pengujian Antibakteri 16
2.6.1 Metode Difusi 17
2.6.2 Metode Dilusi 17
2.7. Klasifikasi Uji Daya Hambat 18
2.8. Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Tanaman 19
2.8.1 Flavonoid 19
2.8.2 Tanin 20
2.8.3 Saponin 20
2.8.4 Steroid 21
2.8.5 Alkaloid 22
2.9. Tinjauan Standar *Mc Farland* 23
BAB III METODE PENELITIAN **25**
3.1 Kerangka Konsep 25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian 26
3.3 Alat dan Bahan 26

3.3.1 Alat 26
3.3.2 Bahan 26
3.4 Variabel Penelitian 26
3.4.1 Variabel Bebas 26
3.4.2 Variabel Terikat 26
3.4.3 Variabel Terkendali 26
3.5 Prosedur penelitian 27
3.5.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelengkeng 27
3.5.2 Pembuatan Ekstrak 27
3.5.3 Pengenceran Ekstrak 28
3.5.4 Uji Fitokimia 28
3.6 Pembuatan Larutan Kontrol 29
3.6.1. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif 30
3.6.2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif 30
3.6.3. Pembuatan Larutan Uji 30
3.7 Pembuatan Media 30
3.7.1 Pembuatan Agar Miring 30
3.7.2 Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring 30
3.7.3 Pembuatan Agar *Muller Hinton Agar* (MHA) 31
3.7.4 Pembuatan Larutan Standar *McFarland* 31
3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji 31
3.8 Tahap Pengujian 32
3.8.1 Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Dengan *Disk Diffusion* 32
3.8.2 Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Dengan *Agar Diffusion* 32
3.9 Analisis Data 33
3.10 Uji Ducan – Tukey 33
3.11 Kerangka Kerja Penelitian 34
BAB IV DATA HASIL PENGAMATAN 35
4.1 Hasil Determinasi Daun Kelengkeng 35
4.2 Hasil Pembuatan Simplisia Daun Kelengkeng 35
4.3 Hasil Ekstraksi Daun Kelengkeng 35
4.4 Hasil Uji Skrining Fitokimia 36
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Disk Diffusion* 37
4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Agar Diffusion 38
4.7 Hasil Analisa Data 39
4.7.1. Hasil Uji Normalitas 39
4.7.2. Hasil Uji Homogenitas 39
4.8 Hasil Uji One Way ANOVA 40
4.9 Hasil Uji Tukey 40
BAB V PEMBAHASAN 41
BAB VI PENUTUP 47
DAFTAR PUSTAKA 48
LAMPIRAN 53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	**2.1**	Pohon Kelengkeng dan Daun Kelengkeng.....	6
Gambar	**2.2**	Bakteri *Escherichia coli*.....	8
Gambar	**2.8**	Struktur Flavonoid.....	19
Gambar	**2.8**	Struktur Flavonoid.....	19
Gambar	**2.8**	Struktur Flavonoid.....	19
Gambar	**3.1**	Kerangka Konsep.....	25
Gambar	**3.11**	Kerangka Kerja Penelitian.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	**2.7**	Klasifikasi Uji Daya Hambat	18
Tabel	**2.7**	Uji Kerentanan.....	19
Tabel	**2.9**	Standar *Mcfarland*.....	23
Tabel	**4.2**	Hasil karakteristik Simplisia Daun Kelengkeng.....	35
Tabel	**4.3**	Hasil Ekstraksi Daun Kelengkeng.....	36
Tabel	**4.4**	Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	37
Tabel	**4.5**	Hasil Aktivitas Antibakteri Metode *Disk diffusion*.....	38
Tabel	**4.6**	Hasil Aktivitas Antibakteri Metode *Agar diffusion*.....	38
Tabel	**4.7**	Hasil Uji Normalitas Metode *Disk diffusion*.....	39
Tabel	**4.7**	Hasil Uji Normalitas Metode *Agar diffusion*.....	39
Tabel	**4.8**	Hasil Uji *Oneway* Metode *Disk diffusion*.....	40
Tabel	**4.8**	Hasil Uji *Oneway* Metode *Agar diffusion*.....	40
Tabel	**4.9**	Hasil Uji Tukey Metode *Disk diffusion*.....	40
Tabel	**4.10**	Hasil Uji Tukey Metode *Agar diffusion*.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	**1.**	Surat Izin Penelitian.....	52
Lampiran	**2.**	Surat Keterangan Selesai Revisi.....	53
Lampiran	**3.**	Determinasi.....	54
Lampiran	**4.**	Pembuatan Serbuk dan Ekstrak.....	55
Lampiran	**5.**	Skrining Fitokimia.....	57
Lampiran	**6.**	Zona Hambat Menggunakan Metode *Disk diffusion*.....	59
Lampiran	**7.**	Zona Hambat Menggunakan Metode *Agar diffusion*.....	61
Lampiran	**8.**	Perhitungan Larutan Uji.....	63
Lampiran	**9.**	Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*).....	64
Lampiran	**10.**	Pembuatan NaCl.....	65
Lampiran	**11.**	Pembuatan Media MHA (*Muller Hinton Agar*).....	66
Lampiran	**12.**	Pembuatan Standart *Mcfarland*.....	67
Lampiran	**13.**	Pembuatan Kontrol positif *Chloramphenicol*.....	68
Lampiran	**14.**	Pembuatan Kontrol negatif DMSO.....	69
Lampiran	**15.**	Perhitungan Replikasi Pengujian.....	70
Lampiran	**16.**	Analisis Ragam atau *analysis of variance (*ANOVA).....	71

DAFTAR SINGKATAN

mL	: Mili Liter
MHA	: Muller Hinton Agar
NA	: Nutrient Agar
LAF	: Laminar Air Flow
OD	: Optical Density
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
Mm	: Mili Meter
P	: Probabilitas

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Penyakit infeksi setiap tahun, infeksi membunuh kurang lebih 3, 5 juta orang yang sebagian besar terdiri dari anak-anak miskin serta anak yang tinggal di negara- negara berpenghasilan rendah dan menengah (WHO, 2014). Data lain menyebutkan jika pada tahun 2013, terdapat 6, 3 juta anak- anak di bawah usia 5 tahun meninggal, di mana setiap harinya terjadi sekitar 17. 000 kematian. Dari data tersebut sekitar 83% kematian diakibatkan oleh penyakit infeksi, kelahiran serta kondisi gizi yang didapatkan oleh anak- anak(WHO, 2015).

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2018) perkembangan penyakit infeksi di Indonesia seperti diare memiliki insiden dan prevalensi pada semua umur di Indonesia adalah 8,0 % , sedangkan prevalensi diare menurut provinsi Riset kesehatan Dasar (2018) pada provinsi Jawa Timur memiliki angka prevalensi 7,6%. Cakupan penderita diare pada semua umur diindonesia sebesar 44,4%. Perbedaan antar provinsi untuk cakupan pelayanan penderita diare semua umur adalah antara 41,5% (Jawa Timur). (Kemenkes RI 2020).

Penyakit infeksi ialah salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus bertambah, diantaranya infeksi *Enterobacteria* dari golongan *Escherichia coli* yang banyak diderita masyarakat Indonesia sejak dulu, salah satunya infeksi usus (diare). Timbulnya penyakit diare disebabkan oleh keadaan lingkungan dan perilaku masyarakat yang tidak menguntungkan. Banyak hal yang dapat mempengaruhi kejadian diare di suatu wilayah yaitu kuman penyakit yang menyebar melalui mulut, kebersihan lingkungan, umur, letak geografi, dan juga perilaku masing-masing individu (Nita, 2016).

Escherichia coli merupakan anggota flora usus normal, pada kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi usus dengan gejala diare karena daya penetrasi yang merusak sel mukosa, kemampuan memproduksi toksin yang mempengaruhi sekresi cairan di usus, serta meningkatkan daya lekat kuman. *E.coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensi dari setiap grup menimbulkan penyakit melalui

mekanisme yang berbeda . Penyakit lain yang sering dijumpai disebabkan oleh *E.coli* adalah infeksi saluran kemih (ISK), sepsis, dan meningitis.

Secara umum penyakit infeksi dapat disembuhkan dengan mengkonsumsi antibiotik. (Utami, 2012). Akhir-akhir ini sudah banyak antibiotik yang resistensi terhadap bakteri. Sebagai alternatif, telah banyak obat-obatan herbal yang digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Contoh tanaman yang diduga dapat dijadikan obat tradisional adalah Daun kelengkeng. Untuk membuktikan adanya efek antibakteri dari tanaman ini terhadap bakteri tertentu, perlu dilakukan uji antibakteri. Dari uji antibakteri ini dapat dilihat apakah terdapat efek antibakteri dari tanaman tersebut.

Metode uji antibakteri ada dua macam yaitu difusi dan dilusi. Metode difusi dibagi menjadi metode *disk,* sumuran, dan parit. Sedangkan metode dilusi menjadi *borth dilution,* dan agar *dilution.* Metode yang sering digunakan dalam penelitian adalah menggunakan metode *disk diffusion.* Sedangkan metode sumuran jarang digunakan untuk melakukan penelitian karena sulitnya proses perlakuan, namun berdasarkan banyak teori, hasil dari metode sumuran akan lebih mudah terlihat dan menampakan hasil yang nyata. Metode *disk diffusion* dan Metode sumuran ini termasuk kedalam metode difusi karena menggunakan medium padat Tujuan dari penggunaan metode ini adalah untuk mengamati diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

Menjadi suatu hal yang menarik untuk membandingkan dua metode ini dengan melihat efek dari tanaman herbal, salah satu tanaman tradisional Indonesia yang tersebar dengan luas di beberapa daerah di Indonesia serta berpotensi untuk dikembangkan yaitu tanaman kelengkeng (*Dimocarpus longan L.*) yang merupakan salah satu tanaman dari suku *Sapindaceae* yang mengandung Menurut penelitian Fauziah (2015), Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun, kulit, biji kelengkeng terhadap pertumbuhan *Saccaharomyces* cerevisiae dan *Lactobacillus* plantarum penyebab kerusakan mira siwalan hasil menunjukkan daun kelengkeng mengandung golongan senyawa Flavonoid, polifenol dan tanin. Biji tanaman kelengkeng mengandung senyawa golongan Flavonoid, Polifenol, Tanin dan Minyak Atsiri. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk

senyawa komplek terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu intregritas membran sel bakteri.

Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman kelengkeng khususnya daun telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya dimana daun kelengkeng mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan tanin. Pada penelitian sebelumnya oleh Anisa (2018) telah dilakukan penentuan aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total dari daun kelengkeng, dimana ekstrak metanol, fraksi etil asetat, butanol dan air memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat. Rashed dan Gerda (2013) melaporkan bahwa ekstrak petroleum eter dari daun kelengkeng memiliki aktivitas antikanker yang signifikan terhadap sel kanker UACC62 (melanoma). Aprianto (2016) melaporkan fraksi n-heksana, etil asetat dan n-butanol daun kelengkeng memiliki aktivitas antiviral terhadap virus Hepatitis C. Penelitian Ripa *et al.*, (2010) juga melaporkan ekstrak etil asetat daun lengkeng memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae, Sarcina lutea, Vibrio parahaemolyticus, Vibrio mimicus, Salmonella typhi dan Escherichia coli.*

Saat ini masyarakat mulai sadar bahwa obat modern yang umumnya zat kimia memiliki kelemahan-kelemahan yang signifikan sementara pada sisi lain terdapat kelebihan obat herbal (Winarto, 2007). Hal ini didukung adanya penelitian-penelitian lain yang merekomendasikan penggunaan obat herbal untuk memenuhi berbagai kebutuhan pengobatan terhadap penyakit yang saat ini sedang berkembang. Penggunaan obat herbal secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern dengan aturan penggunaannya. Hal ini karena obat herbal dianggap memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern asalkan jumlah yang tepat dalam penggunaannya (WHO, 2015).

Berdasarkan latar belakang diatas, tanaman kelengkeng terbukti mempunyai senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan, terutama pada bagian kulit dan bijinya. Namun saat ini, daun kelengkeng belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dan hanya berakhir sebagai limbah. Sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tersebut dengan membandingkan metode *disk diffusion* dan metode sumuran, karena kedua metode ini termasuk kategori difusi dan memiliki hasil yang sama yaitu dengan cara menghitung zona hambat bakteri terhadap

antibakteri yang di uji, hanya saja cara kerja yang memiliki perbedaan serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang terkandung dalam daun kelengkeng yang berfungsi untuk menghambat atau mencegah tumbuhnya bakteri, dengan melihat potensi kandungan daun kelengkeng dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Apakah ada perbedaan hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng terhadap *Escherichia coli* dengan metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*?

1.3 HIPOTESIS

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Tidak ada perbedaan hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng terhadap *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*

H1 : Terdapat perbedaan hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng terhadap *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*

1.4 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Mengetahui perbedaan hasil aktivitas antibakteri ekstrak daun kelengkeng dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*

1.5 MANFAAT PENELITIAN

Adapun manfaat penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Bagi Penulis

   Dapat digunakan sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan studi S1 Program Studi Farmasi di Universitas Anwar Medika

2. Bagi Pihak Lain

   Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran dan kontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan dan memperkaya hasil penelitian sebelumnya serta untuk dijadikan pijakan pengembangan pada penelitian selanjutnya.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Kelengkeng

2.1.1 Tanaman Kelengkeng

Kelengkeng memiliki nama Ilmiah *Dimocarpus longan*, suku Sapindaceae. Kelengkeng ialah tumbuhan buah-buahan yang berasal dari daratan Asia Tenggara. Tidak hanya buahnya saja yang bermanfaat namun kulit, biji, dan daunnya pun dapat dimanfaatkan. (Susilo, 2009). tumbuhan kelengkeng memiliki senyawa biokatif "Senyawa yang mempunyai pengaruh fisiologis dalam tubuh" yang dapat dimanfaatkan terutama pada bagian daunnya. (Hernani & Rahardjo, M, 2005).

Kelengkeng *(Dimocarpus longan Lour*) merupakan tanaman subtropis yang telah dikenal 2000 tahun yang lalu, berasal dari daerah Cina Selatan. Fungsinya lebih kepada khasiatnya sebagai obat baik kandungan dalam buah maupun biji yang sudah dilakukan ekstraksi, bukan menjadi buah untuk dikonsumsi saja (Triwinata, 2006). tanaman ini telah menyebar ke Thailand, Taiwan, Laos, Vietnam, Cambodia, Malaysia, India, dan khususnya Indonesia (Usman, 2006)

Tanaman Kelengkeng adalah tanaman berbentuk pohon dengan tinggi bisa mencapai 40 meter dan diameter batang mencapai 1 meter. Jenis akar pada tanaman klengkeng adalah akar tunggang dengan akar samping yang berjumlah banyak, panjang, kuat.

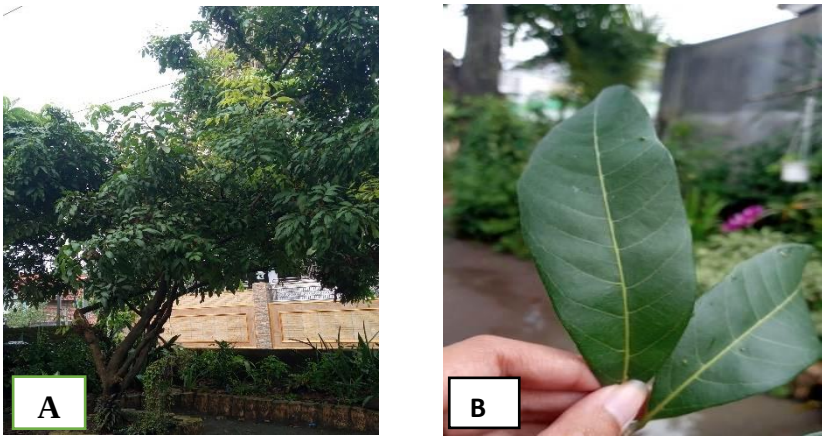
Tanaman ini diperkirakan berasal dari daratan Cina. Hal ini dikaitkan dengan adanya tradisi masyarakat cina yang menggunakan kelengkeng sebagai persembahan kepada arwah leluhur. Dari asalnya, tanaman kelengkeng kemudian menyebar diberbagai negara didunia. Saat ini negara-negara yang mengembangkan kelengkeng antara lain; Thailand, Taiwan, Malaysia, Vietnam, Cina dan Indonesia. Di Thailand, tanaman kelengkeng diperkirakan masuk pertama kali pada tahun 1896. Sementara itu, tanaman kelengkeng diperkirakan masuk di Indonesia masuk pada abad 18. Budidaya tanaman kelengkeng telah lama dilakukan petani dibeberapa wilayah nusantara. Tanaman tersebut tumbuh subur dikebun-kebun rakyat. Jenis-jenis kelengkeng liar seperti *isau* yang berkulit hijau dan kakusyang

berkulit cokelat, banyak ditemukan di Kalimantan Timur dan Sumatera Utara (Usman, 2006).

2.1.2 Klasifikasi kelengkeng (*Dimocarpus longan* L.)

Kelengkeng *(Dimocarpus longan)* termasuk kedalam tanaman tahunan yang mempunyai batang kayu yang kokoh, dengan tinggi tanaman dapat mencapai 12 meter. Secara taksonomi, tanaman kelengkeng dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (Rahmah, 2013):

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheophyta
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Dimocarpus
Famili	: Sapindaceae
Genus	: Dimiocarpus
Spesies	: *Dimocarpus longan*



Gambar 2.2.1 (a) Pohon kelengkeng dan (b) Daun Kelengkeng
(Dokumen Pribadi 2021)

2.1.3 Kandungan kimia kelengkeng

Salamah & Widyasari (2015), mengidentifikasi ekstrak metanol daun kelengkeng dengan menggunakan metode penangkapan radikal 2,2’- difenil-1-pikrilhidrazil hasil menunjukkan pada ekstrak metanol daun kelengkeng terdapat

senyawa, flavonoid, pelifenol dan kuersetin sebagai aktivitas antioksidan. Menurut penelitian Fauziah (2015), Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun, kulit, biji kelengkeng terhadap pertumbuhan *Saccaharomyces* cerevisiae dan *Lactobacillus* plantarum penyebab kerusakan mira siwalan hasil menunjukkan Daun kelengkeng mengandung golongan senyawa Flavonoid, polifenol dan tanin. Biji tanaman kelengkeng mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol, tanin, dan minyak atsiri. Senyawa fenol dapat bersifat sebagai koagulator protein. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Kulit kelengkeng mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol, dan tanin. Biji tanaman kelengkeng mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol, tanin, dan minyak atsiri.

2.1.4 Morfologi kelengkeng

Daun kelengkeng termasuk daun majemuk tiap tangkai memiliki tiga sampai enam pasang helai daun. Bentuknya bulat panjang, ujungnya agak runcing tidak berbulu, tepinya rata dan permukaannya mempunyai lapisan lilin. Kuncup daunnya berwarna kuning kehijauan, tetapi ada pula yang berwarna merah (Baiq & A.sugiyatno, 2013). Daun tanaman merupakan daun majemuk yang tersusun dalam tangkai, terletak berhadap-hadapan, dan jumlah 7-8 helai. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau. Daun berukuran panjang 10 cm dan lebar kurang lebih 3 ½ cm, dengan tepi atas dan ujung daun runcing (Rukmana, 2014). Berdasarkan jenis kelamin bunga, tanaman kelengkeng dibedakan menjadi tiga, yaitu pohon kelengkeng yang hanya berbunga jantan, pohon yang hanya berbunga betina, dan pohon yang berbunga sempurna atau mempunyai kelamin jantan dan betina (heraprodit). Pohon kelengkeng jantan jarang atau tidak menghasilkan buah, pembungaan kelengkeng biasanya terjadi pada bulan September-Oktober dan periode pembuahan berlangsung pada bulan Januari Maret (Rukmana, 2014). Buah kelengkeng berbentuk bulat bundar sampai bulat pendek, terdiri atas kulit buah, daging buah, dan biji. Kulit buah tipis berwarna hijau kecoklatan sampai coklat. Daging buah tebal, berwarna putih bening, beraroma harum khas kelengkeng, dan berasa manis. Biji berbentuk bulat kecil dan berwarna cokelat dan hitam mengkilat (Rukmana, 2014).

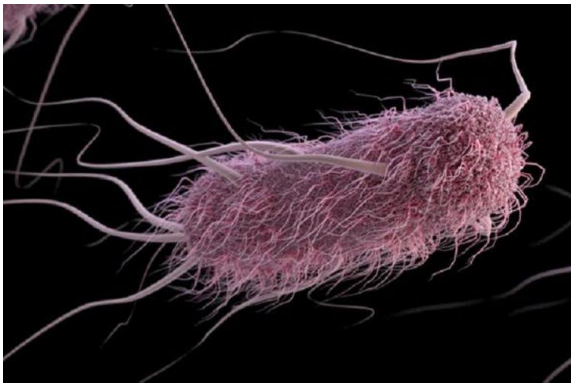
2.2. Escherichia coli

Escherichia coli merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berspora, motil berbentuk flagel peritrik, berdiameter ± 1,1 – 1,5 µm x 0,2 – 0,6 µm. *E.coli* dapat bertahan hidup dimedium sederhana menghasilkan gas dan asam dari glukosa dan memfermentasi laktosa. Pergerakan bakteri ini motil, tidak motil, dan peritrikus, ada yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif (Elfidasari *et al.*, 2011).

2.2.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli.*

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Classis	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: *Escherichia coli*



Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli* (Wibowo *et al.*, 2008)

2.2.2 Morfologi *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif fakultatif anaerobic yang mempunyai alat gerak berupa flagel dan tersusun dari sub unit protein yang disebut flagelin, yang mempunyai berat molekul rendah dengan ukuran diameter 12-18 nm dan dengan panjang 12 nm, kaku dan berdiameter lebih kecil dan tersusun dari protein, pili dapat berfungsi sebagai jalan pemindahan DNA

saat konjugasi. Selain itu, mempunyai kapsul atau lapisan lendir yang merupakan polisakarida tebal dan air yang melapisi permukaan luar sel (Ikmalia 2008).

Bakteri *Escherichia coli* mempunyai tiga jenis antigen, yaitu antigen O, antigen K dan antigen H. Antigen-O yang merupakan inti dari lipopolisakarida dan unit-unit polisakarida, biasnya antigen-O berhubungan dengan penyakit khusus pada manusia, misalnya tipe spesifik O dari *Escherichia coli* ditemukan pada diare. Antigen-K yang merupakan kapsul dari polisakarida, sedangkan antigen-H merupakan antigen flagella (Wibowo *et al.*, 2008).

2.2.3 Patogenesis

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi feces dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, menghasilkan enterotoksin sehingga menyebabkan terjadinya beberapa infeksi yang berasosiasi dengan enteropatogenik kemudian menghasilkan enterotoksin pada sel epitel. Manifestasi klinik infeksi oleh *Escherichia coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Ismail 2012).

2.3. Pembuatan Simplisia

Tanaman obat yang menjadi sumber simplisia nabati, merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi mutu simplisia. Sebagai sumber simplisia, tanaman obat dapat berupa tumbuhan liar atau berupa tanaman budidaya. Tumbuhan umumnya kurang baik untuk dijadikan sumber simplisia jika dibandingkan dengan tanaman budidaya, karena simplisia yang dihasilkan mutunya tidak tetap.

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui sebagai berikut : pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering.

1. Pengumpulan bahan

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat

bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang tersebar.

2. **Sortasi basah**

   Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotor lainnya harus dibuang.

3. **Pencucian**

   Pencuc.ian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin.

4. **Perajangan**

   Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari.

5. **Pengeringan**

   Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dapat dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.

Menurut BPOM (2013) metode pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan berbagai macam cara diantaranya pengeringan di bawah sinar matahari, diangin - angin dibawah tempat teduh terhindar dari sinar matahari langsung, dan pengeringan dengan menggunakan alat seperti oven, blower, dan fresh dryer. Dari hasil penelitian diketahui bahwa reaksi enzimatik tidak akan berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10 % . Dengan demikian proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% . Pada dasarnya dikenal dua cara pengeringan yaitu pengeringan secara alamiah dan buatan. Tergantung dari senyawa aktif yang dikandung dalam

bagian tanaman yang dikeringkan, maka pengeringan alamiah dapat dilakukan dengan dua cara yaitu :

1) Pertama dengan panas matahari langsung. Cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, kulit kayu, biji dan sebagainya dan mengandung senyawa aktif yang relatif stabil. Kedua diangin-anginkan dan tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung.
2) Pengeringan secara buatan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diatur. Dengan menggunakan cara pengeringan buatan dapat diperoleh simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringan akan merata dan waktu pengeringan lebih cepat tanpa dipengaruhi keadaan cuaca.

6. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus dan kemudian disimpan. Seperti halnya sortasi awal, sortasi di sini dapat dilakukan dengan cara mekanik. Pada simplisia bentuk rimpang, sering jumlah akar yang melekat pada rimpang terlampau besar dan harus dibuang. Demikian pula adanya partikel-partikel pasir, besi, dan benda-benda tanah lain yang tertinggal harus dibuang sebelum simplisia dibungkus.

2.4. Ekstraksi

Salah satu cara untuk menemukan obat tradisional adalah dengan cara ekstraksi. Ekstraksi adalah kegiatan menghilangkan kandungan kimia terlarut dari serbuk simplisia untuk memisahkannya dari bahan yang tidak larut (Depkes RI, 2006).

Menurut bentuknya bahan ekstraksi dibagi menjadi 2 bentuk yaitu :

1. Ekstraksi padatan cair, tujuannya adalah untuk melarutkan zat yang larut dalam air dari campurannya dengan padatan yang tidak larut.
2. Ekstraksi cair-cair, yaitu memisahkan 2 zat cair yang bercampur dengan menggunakan pelarut yang mampu melarutkan salah satu zat (Fajeriyati, 2017).

2.4.1 Metode Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi dingin memiliki keunggulan sepanjang proses ekstraksi, yaitu meminimalkan kemungkinan kerusakan senyawa termolabil yang terkandung dalam sampel. Sebagian besar senyawa dapat diekstraksi dengan ekstraksi dingin, meskipun beberapa senyawa yang memiliki kelarutan yang terbatas dalam pelarut pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi sederhana yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013). Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya memakan waktu lama. Ekstraksi lengkap juga dapat menghabiskan sejumlah besar pelarut, yang dapat mengakibatkan hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak efisien diekstraksi jika kelarutannya buruk pada suhu kamar (27ºC). Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27ºC), agar metabolit yang tahan panas tidak terurai (Fadhilaturrahmi, 2015).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses untuk mengekstrak senyawa terlarut dari jaringan sel simplisia dengan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cocok untuk pra-ekstraksi maupun dalam jumlah banyak (Fadhilaturrahmi, 2015). Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna, yang umumnya dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia dalam wadah silinder dengan sekat berpori di bagian bawah. Proses tersebut terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi aktual (penyimpanan tetes/ ekstrak) yaitu 1-5 kali jumlah bahan. Perkolasi cocok untuk pra-ekstraksi dan ekstraksi massal (Istiqomah, 2013).

2.4.2 Metode Ekstraksi Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Istiqomah, 2013). Berdasarkan literatur lain, ekstraksi refluks

adalah suatu metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut, selama waktu tertentu dan sejumlah pelarut dengan adanya zat pendingin (kondensor). Cairan penyari menguap, uap mengembun dalam pendingin vertikal dan kembali ke zat aktif di simplisia. Ekstraksi ini umumnya dilakukan 3 kali dan diekstraksi setiap 4 jam sekali (Fadhilaturrahmi, 2015)

2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, yang biasanya dilakukan dengan alat khusus, sehingga ekstraksi kontinyu dilakukan dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Istiqomah, 2013). Sokletasi adalah suatu metode atau proses untuk memisahkan suatu komponen yang terdapat pada suatu padatan dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan pelarut tertentu sehingga semua komponen yang diinginkan dapat diisolasi (Fadhilaturrahmi, 2015).

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah metode ekstraksi yang menggunakan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal ini menyebabkan dinding sel dan membran rusak karena perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel. Akibatnya, metabolit sekunder sitoplasma larut dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang terkumpul lagi. Ketika larutan melewati batas lubang pipa samping *soxhlet,* terjadi sirkulasi. Sirkulasi berulang menghasilkan ekstrak yang baik (Fadhilaturrahmi, 2015).

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan terus menerus) pada suhu diatas suhu kamar, yang umumnya dilakukan pada suhu 40-50ºC. Proses ini dilakukan dengan memasukkan sejumlah bahan tertentu ke dalam wadah tertutup, ditambah pelarut dengan perbandingan sekitar 1:7, atau paling tidak bisa merendam seluruh sampel. Metode maserasi ini hanya dapat digunakan untuk simplisia tahan panas (Fadhilaturrahmi, 2015).

4. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan air sebagai pelarut pada suhu penangas air (wadah infus direndam dalam penangas air mendidih, suhu yang diukur adalah 96-98ºC) selama waktu tertentu (15-20 menit). Berat bahan dan air adalah 1:10 yang

artinya jika berat bahan 100 gram maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml (Atun, 2014).

5. Dekokta

Dekokta merupakan proses ekstraksi yang mirip dengan penyeduhan, perbedaannya adalah waktu pemanasan yang dibutuhkan adalah 30 menit dan suhu pelarut sama dengan titik didih air (Atun, 2014). Metode ini jarang digunakan karena selain ketidaksempurnaan proses ekstraksi juga tidak dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa yang labil terhadap panas (Marjoni, 2016).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah Maserasi dapat disebut juga perendaman bahan dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan. Tujuan dari ekstraksi yaitu agar didapat zat berkhasiat dari simplisia dengan kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Anief, 2004)

Ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam ekstraksi. Senyawa yang polar hanya akan larut pada pelarut polar sedangkan senyawa non polar hanya akan larut pada pelarut non polar. Jenis pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkan.

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk mencari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Simplisia ini direndam dalam penyari sampai meresap dan melemahkan susunan sel sehingga zat-zat akan larut. Serbuk simplisia yang akan disari, dimasukkan pada wadah bejana yang bermulut besar, ditutup rapat kemudian diaduk berulang-ulang, sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia. Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut *(Like Dissolved Like)*, penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena

adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan.

Keuntungan dari maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, dapat digunakan untuk zat yang tahan dan tidak tahan pemanasan, zat warna yang mengandung gugus-gugus yang tidak stabil (mudah menguap seperti ester dan eter) tidak akan rusak atau menguap karena berlangsung pada kondisi dingin sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak, penyarian kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin. Dalam maserasi (untuk ekstrak cairan), serbuk halus atau kasar dari tumbuhan obat yang kontak dengan pelarut disimpan dalam wadah tertutup untuk periode tertentu dengan pengadukan yang sering, sampai zat tertentu dapat terlarut. Metode ini paling cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Nahdliyah, 2019). Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain yaitu ukuran bahan baku, pemilihan pelarut, waktu proses ekstraksi suhu ekstraksi. Ukuran bahan baku yang kecil akan menghasilkan hasil rendah. Pemilihan pelarut akan mempengaruhi suhu ekstraksi dan waktu proses ekstraksi (Anam, 2010). Beberapa faktor pertimbangan untuk pemilihan pelarut dalam ekstraksi antara lain murah, mudah didapatkan, stabil secara fisika dan kimia, netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat dikehendaki serta tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol.

Etanol adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari – sehari. Etanol termasuk kedalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O, mempunyai berat molekul 46. Berat jenis etanol 0,7856/Ml pada suhu 15^0 C dan 0,8055 pada suhu 20^0 C. titik didihnya 78^0 C. Organoleptis etanol tidak berwarna jernih, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas, rasa panas mudah larut dalam air, eter dan kloroform. Pada

penelitian ini digunakan pelarut etanol, etanol merupakan pelarut terbaik dalam ekstraksi senyawa fenolik bila dibandingkan dengan pelarut lainnya dan etanol juga mampu menyari senyawa kimia lebih banyak dibandingkan dengan air dan methanol. (Pramudita *et al.*, 2020)

2.5. Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang dapat menghambat atau membasmi bakteri patogen. Antibakteri ada yang *spectrum* luas dan *spectrum* sempit. *spectrum* luas artinya antibakteri yang efektif digunakan bagi banyak spesies bakteri, baik kokus, basil maupun spiril. Sedangkan antibakteri *spectrum* sempit hanya relatif digunakan pada spesies tertentu saja. Menurut (Utami, 2011) berdasarkan cara kerja terhadap bakteri, antibakteri dapat digolongkan menjadi :

1. Bakteriostatik

Dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuh, efek ini menghambat sintesis protein ataupun protein ataupun mengikat ribosom. Yang memiliki sifat bakteriostatik, dimana penggunaannya tergantung status imunologi pasien, antara lain sulfonamuida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, timetropim, linkomisin, klindamisin, asam paraaminosalisilat, dan lain-lain. (Kuswiyanto, 2015)

2. Bakterisidal

Dapat membunuh sel bakteri tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecah. Yang termasuk golongan bakterisidal antara lain penisilin, sefalosporin, aminoglikosida (dosis besar), kotriksazol, rifampisin, isoniazid, dan lain-lain. (Kuswiyanto, 2015)

2.6. Metode Pengujian Antibakteri

Pada uji ini, yang akan diukur adalah respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen agen antibakteri. Salah satu manfaat dari uji antibakteri adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efesien.

Penentuan setiap kepekaan bakteri terhadap suatu obat adalah dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *in vitro*. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut :

2.6.1 Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antibakteri dalam lempeng agar yang telah diinokulasi kan dengan bakteri uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk di sekeliling zat antibakteri pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu :

1) Cara Cakram (*Disc*)

   Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*Paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37^0 C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

2) Cara Sumuran (*Hole/cup*)

   Pada lempeng agar yang telah di inokulasi dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang.

3) Cara Parit (*Ditch*)

   Suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antibakteri, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit.

2.6.2 Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dan media agar, yang kemudian di inokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat

antibakteri ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat minimal (KHM) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antibakteri uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri atas dua cara yaitu :

1) Pengenceran Serial dalam Tabung

   Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum bakteri dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian di inokulasi kan dengan bakteri dan di inkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambat minimal (KHM).

2) Penipisan Lempeng Agar

   Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, di inokulasikan bakteri kemudian di inkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM)

2.7. Klasifikasi Uji Daya Hambat

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel. Denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme didalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler.

Tabel 2.7 Klasifikasi Uji Daya Hambat Menurut *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2018)

Antibiotic	**Disk Content**	**Interpretive Categories and MIC Breakpoints, µg/mL**				**Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints, nearst whole mm**			
		S	**SDD**	**I**	**R**	**S**	**SDD**	**I**	**R**
Chloramphenicol	30 µg/mL	≤ 8	-	16	≥ 32	≥ 18	-	13-17	≤ 12

Tabel 2.7 Uji Kerentanan Menurut *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2018)

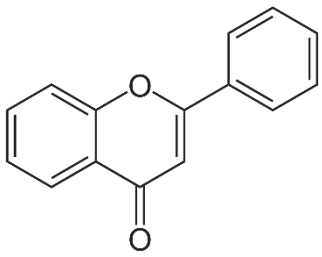
Interpretive Category	Breakpoints	
	MIC , µg/mL	**Zone Diameter , mm**
Susceptible	≤ 8	≥ 18
Susceptible Dose Dependent	-	-
Intermediate	16	13-17
Resistant	≥ 32	≤ 12

2.8. Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Tanaman

2.8.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit yang dihasilkan oleh tanaman. Flavonoid dapat ditemukan pada daun, akar, kulit kayu, bunga dan biji. Pada tumbuhan, flavonoid mengikat gula sebagai glikosida, dan aglikon flavonoid dapat hadir dalam tumbuhan sebagai kombinasi glikosida. Aglikon flavonoid (Yaitu flavonoid tanpa gula terikat) ada dalam berbagai bentuk struktural (Lutfiana, 2013).

Menurut Sardiman (2014), Flavonoid memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan cara mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Hal ini menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan membran sel tidak berfungsi lagi, termasuk untuk mengikat substrat. Hasil interaksi ini merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Ion hidroksil kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transportasi nutrisi, sehingga menyebabkan efek toksik pada sel bakteri.



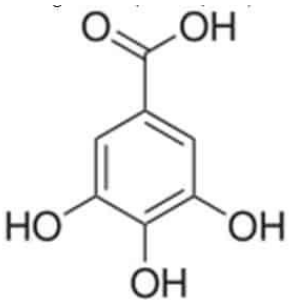
Gambar 2.8 Struktur Flavonoid (Sangi *et al.*, 2013)

2.8.2 Tanin

Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok fungsional ikatan yang kuat dengan molekul protein dan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Terdapat tiga mekanisme reaksi antara tanin dengan protein sehingga terjadi ikatan yang cukup kuat antara keduanya yaitu ikatan hidrogen, ikatan ion dan ikatan kovalen antara protein dengan tanin (Wibowo, 2008).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanismenya adalah dengan merusak membran sel bakteri, senyawa astringet tanin dapat menginduksi pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Wibowo, 2008).

Tanin terbentuk amorf dan tidak dapat dikristalkan, dalam larutan air membentuk larutan koloidal bereaksi dengan asam, dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan binpolimer. Prinsip tanin adalah tanin akan terhidrolisis mengandung ikatan ester yang jika dididihkan dalam asam klorida encer (Nahdliyah, 2019).



Gambar 2.8 Struktur Tanin (Sangi *et al.,* 2013)

2.8.3 Saponin

Saponin merupakan glikosida triterpen yang memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya (Sangi *et al.,* 2013). Saponin memiliki merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Saponin pada saat digojok terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan

hidrofob akan berikatan dengan udara. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non-polar menghadap ke dalam. Keadaan ini yang membentuk busa pada umumnya jika hasil positif maka penambahan HCl 2N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil.

Mekanisme Kerja Saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar selain itu, senyawa saponin dapat menghancurkan sifat kebocoran dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel (Noer, 2006).

Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui mungkin sebagai penyimpan karbohidrat atau merupakan weste product dan metabolisme tumbuh-tumbuhan kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga.

Sifat-sifat Saponin Mempunyai rasa pahit, dalam larutan air membentuk busa stabil, Menghemolisa eritrosit, Merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi, Membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksiteroid lainya, Sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi. Prinsip saponin pada tumbuhan adalah dengan ditunjukan adanya busa yang sewaktu mengekstraksi tumbuhan (Nahdliyah, 2019).

2.8.4 Steroid

Steroid adalah senyawa organik bahan alam yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolit sekunder, senyawa ini banyak ditemukan pada jaringan hewan dan tumbuhan. Steroid memiliki kerangka dasar berupa cincin siklopentana perhidrofenantren, biasanya senyawa ini terdapat dalam bentuk bebas dan sebagai glikosida sederhana. Steroid banyak terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan tingkat rendah. Cara untuk mendeteksi senyawa ini yaitu dengan menggunakan pereaksi *Lieberman-Burchard* yang disemprotkan asam sulfat pekat, anhidrida dan kloroform (Sumardjo, 2009).

Struktur kimia steroid memiliki empat buah lingkaran dan terdapat atom atom karbon. Beberapa steroid mengandung satu, dua atau tiga ikatan rangkap dua dan banyak diantaranya mempunyai satu atau lebih gugus hidroksil. Cincin atau

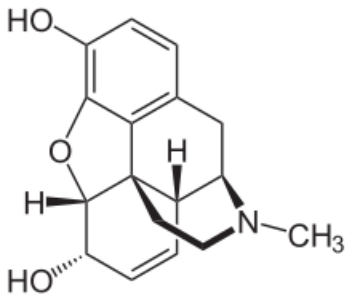
lingkaran pada sbagaian besar steroid bukanlah 19 lingkar aromatik (Sumardjo, 2009).

2.8.5 Alkaloid

Alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkoloid bersifat semi polar (Dewi *et al.,* 2013).

Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan. Golongan alkaloid diantaranya alkaloid piridin, alkaloid piperidin, alkaloid pirolizidin, alkaloid fenilakliamin, alkaloid isokuinolin, alkaloid kuinolin, alkaloid indol, alkaloid tropan, alkaloid xantin dan alkaloid imidazol (Heinrich *et al.,* 2010).

Sifat alkaloid umumnya Kristal padat (ada juga yang cair), memutar bidang polarisasi elevo, larut dalam air tetapi ada juga yang tidak larut, bersifat basa N, pahit, membentuk endapan bila ditambahkan dengan asam tamat dan fosfomolibdat. Fungsi alkaloid pada tumbuhan sebagai zat beracun untuk melawan serangga atau hewan dan dapat untuk subtansi cadangan memenuhi kebutuhan nitrogen dan elemen-elemen lain yang penting pada tumbuhan. Sedangkan sebagai pengobatan memberikan efek fisiologi pada susunan syaraf pusat. Prinsip uji alkaloid adalah dengan adanya pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Alkaloid adalah senyawa tanpa warna sering kali bersifat optic aktif yang berbentuk Kristal.



Gambar 2.8 Struktur Alkaloid (Sangi *et al.*, 2013)

2.8.6 Fenol

Senyawa ini memiliki struktur benzen yang tersubtitusi dengan 3 gugus –OH dan satu gugus Karboksilat. Contohnya seperti jenis hydrolyzabletannins yang merupakan jenis tanin yang dapat larut di dalam air membentuk asam gallic dan asam protocatechuic dan gula. Contoh jenisini adalah gallotanin (Anonim, 2009).

2.9. Tinjauan Standar *Mc Farland*

Standar *McFarland* digunakan sebagai standar perkiraan jumlah bakteri dalam cairan suspensi dengan membandingkan kekeruhan uji suspensi dengan standar *McFarland*. Standar *Mc Farland* merupakan larutan kimia yang terdiri dari barium klorida dan asam sulfat, reaksi antara dua bahan kimia ini menghasilkan endapan halus barium sulfat. Ketika dikocok pelan, kekeruhan standar *McFarland* visual sebanding dengan konsentrasi suspensi bakteri seperti yang ditunjukkan pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.9 Standar Kekeruhan Menurut *McFarland*

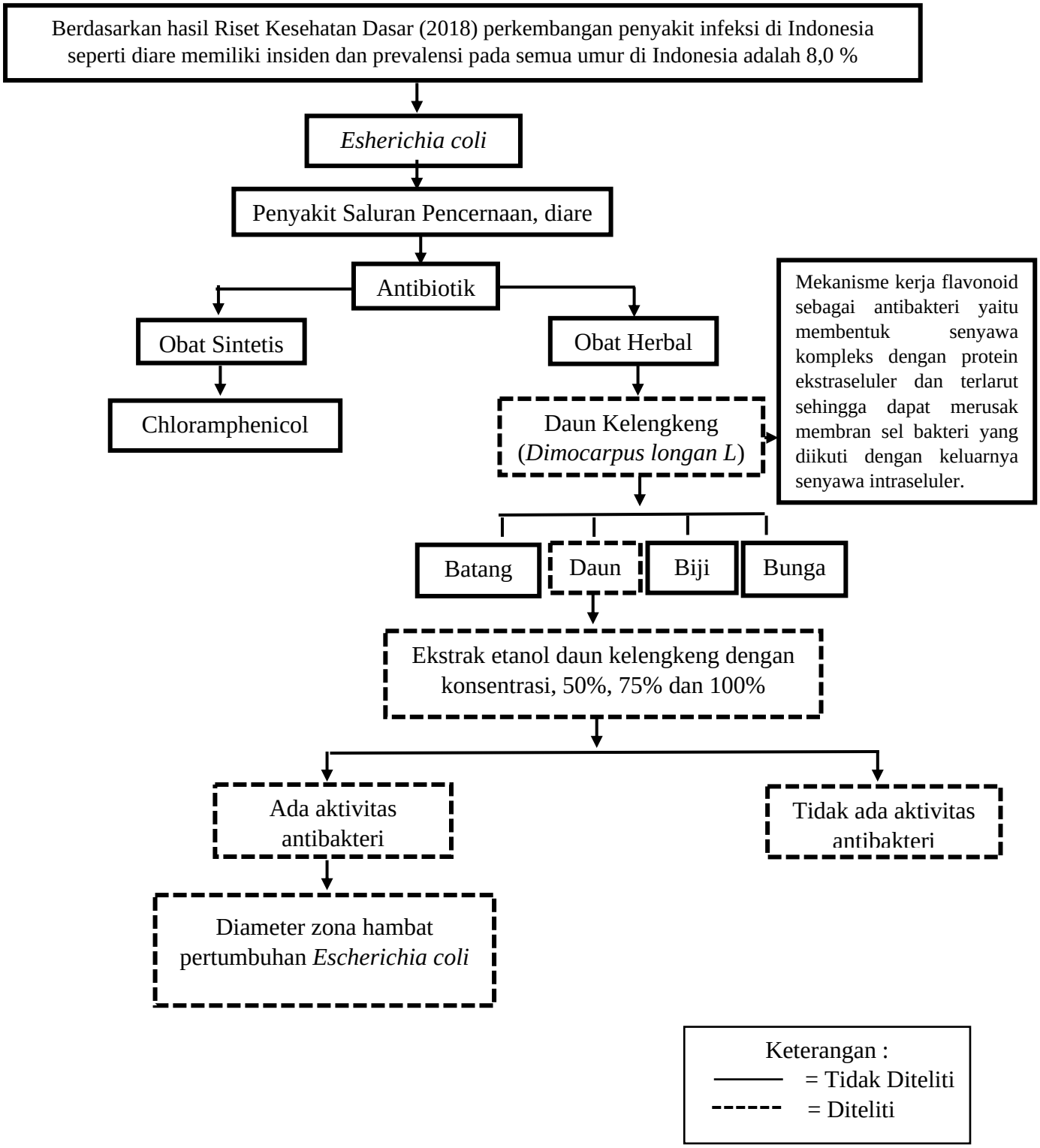
Cat No.	***McFarland Standart***	**1% $BaCl_2$ (mL)**	**1% H_2SO_4 (mL)**	***Aprroximate Bacterial Suspension/mL***
TM50	0,5	0,05	9,95	$1,5 \times 10^8$
TM51	1,0	0,10	9,90	$3,0 \times 10^8$
TM52	2,0	0,20	9,80	$6,0 \times 10^8$
TM53	3,0	0,3	9,7	$9,0 \times 10^8$
TM54	4,0	0,4	9,6	$1,2 \times 10^9$
TM55	5,0	0,5	9,5	$1,5 \times 10^9$
TM56	6,0	0,6	9,4	$1,8 \times 10^9$
TM57	7,0	0,7	9,3	$2,1 \times 10^9$
TM58	8,0	0,8	9,2	$2,4 \times 10^9$
TM59	9,0	0,9	9,1	$2,7 \times 10^9$
TM60	10,0	1,0	9,0	$3,0 \times 10^9$

Sebelum digunakan standar *McFarland* harus dikocok dengan baik. Tabung harus tertutup rapat untuk mencegah penguapan terjadi. Sebelum setiap penggunaan, kocok dengan baik untuk memastikan bahwa barium sulfat didistribusikan secara merata diseluruh larutan. Standar paling umum digunakan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik adalah Standr *McFarland* 0,5 setara dengan jumlah perkiraan suspensi bakteri yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU mL dimana standart tersebut merupakan dasar untuk percobaan kerentanan antimikroba dan percobaan hasil

biakan bakteri. Standar *McFarland* harus disimpan dalam posisi tegak pada suhu 4^0 C sampai 25^0 C dan terhindar dari cahaya. Pada kondisi ini, standar *McFarlan*d memiliki waktu paruh sampai 12 minggu dimulai dari tanggal pembuatan.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia Organik Universitas Anwar Medika untuk perlakuan sampel serta pengamatan hasil. Sedangkan untuk Uji Determinasi kami mengirim sampel uji ke UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang. Waktu Penelitian dilaksanakan bulan Februari-Maret 2022 yakni 30 hari dimulai dengan melakukan pengeringan simplisia sampai didapatkan hasil.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain :

Timbangan analitik, Seperangkat alat Maserasi (Toples Kaca), *autoclave*, *Laminar Air Flow*, *micropipet*, oven inkubator, *rotatory evaporator (Scilogex)*, cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, erlenmayer *(Pyrex*), gelas ukur, beaker glass, batang pengaduk *(Pyrex*), kertas cakram, bunsen, *aluminium foil*, kertas coklat, *yellow tube*, pipet ukur, *cotton bud*, pinset, plastik wrapp.

3.3.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan yaitu Daun Kelengkeng yang diperoleh dari Desa Jeruk Gamping, Krian Kabupaten Sidoarjo. Daun kelengkeng yang dipetik dalam keadaan segar. Bahan Kimia yang digunakan antara lain Etanol 96%,NaCl 10%, FeCl3 10%, HCL Pekat, Asam sulfat, Reagen mayer,, Reagen dragendorf, Reagen wagner, Ammonia, Kloroform, H2SO4, KOH 4N, DMSO 5%, Media *Mueller Hinton Agar*, *Nutrient Agar,* Aquadest steril, Nacl Steril.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Konsentrasi yang digunakan (100%, 75%, 50%)

3.4.2 Variabel Terikat

Dalam penelitian ini adalah besarnya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

3.4.3 Variabel Terkendali

Suhu inkubasi, waktu inkubasi, media inkubasi, media kultur dan kepadatan mikroba uji

3.5 Prosedur penelitian

3.5.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelengkeng

Daun Kelengkeng yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Jeruk Gamping, Krian Kabupaten Sidoarjo. Daun kelengkeng yang dipetik dalam keadaan segar. Daun kelengkeng segar berwarna hijau dikumpulkan kemudian dilakukan sortasi basah, guna memisahkan antara daun kelengkeng yang masih segar dengan yang layu atau berwarna kuning, berbintik putih, masih muda atau rusak dipisahkan dan dibuang. Proses selanjutnya pencucian daun kelengkeng yang dilakukan dengan air yang mengalir, guna untuk memisahkan kotoran pada daun kelengkeng yang menempel. Daun kelengkeng yang sudah dicuci kemudian ditiriskan antara daun dan ranting.

Pengeringan daun kelengkeng dilakukan dengan cara meangin anginkan daun kelengkeng hingga diperoleh daun kelengkeng yang kering. Pengeringan ini dilakukan agar mengurangi kadar air didalam sample, sehingga sampel bisa bertahan lebih lama dan tidak ditumbuhi jamur. Daun kelengkeng yang sudah kering kemudian dilakukan sortasi kering, guna memisahkan pengotor yang tertinggal dengan daun kelengkeng yang sudah kering. Daun kelengkeng yang telah disortasi kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Kemudian diayak menggunakan akan mesh 60. Hingga diperoleh serbuk yang halus dan homogen.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak

Ekstrak daun kelengkeng diperoleh dengan metode maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun kelengkeng yang dibusat dimasukkan kedalam toples kaca besar, kemudian direndam menggunakan larutan etanol 96% sebanyak 2500 ml. Sampel ditutup menggunakan aluminium foil dan dibiarkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental daun kelengkeng (Dima *et al.*, 2016).

3.5.3 Pengenceran Ekstrak

Perhitungan ekstrak etanol daun kelengkeng dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% diperoleh dengan pengenceran dengan rumus yang ditunjukkan pada Lampiran 1 :

$$V1.M1 = V2.M2$$

Keterangan :

V1 : Volume sebelum pengenceran

V2 : Volume sesudah Pengenceran

M1 : Konsentrasi sebelum pengenceran

M2 : Konsentrasi sesudah pengenceran

3.5.4 Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Ekstrak 1 mL ditambahkan beberapa tetes pereaksi Wagner, reaksi positif jika terbentuk endapan coklat dan negatif jika terjadi perubahan warna (Ikalinus, 2015). Kemudian mengambil ekstrak sampel 1 mL ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff, reaksi positif terbentuknya endapan jingga (Ikalinus, 2015). Ekstrak 1 gram, ditambahkan 1 mL kloroform dan 5 mL ammonia 10% Lalu tambahkan 10 tetes asam sulfat 2 N untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang berbeda. Fase bagian atas diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer adanya alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan merah (Isnani & Frenly, 2014).

2. Uji Tanin

Sampel dididihkan dengan 20 mL air lalu disaring, ditambahkan beberapa tetes FeCl3 1%, reaksi positif dengan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Ikalinus, 2015). Ekstrak 0,5 gram ditambahkan 2 mL gelatin, reaksi positif endapan putih. Ekstrak 2 mL ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi menggunakan besi (III) klorida, reaksi positif ditandai warna hijau kehitaman (Isnani & Frenly, 2014).

3. Uji Saponin

Ekstrak 1 mL ditambahkan 1 mL Vanilin-asam sulfat. Reaksi positif dengan adanya warna biru hingga ungu-biru (Hanani, 2017). 1 mL larutan ekstrak ditambahkan

pereakksi Liberman-Buchard. Reaksi positif dengan terbentuknya warna hijau hingga biru (Hanani, 2017). Ekstrak 1 gram ditambah air hangat,dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, ditambahkan HCl 2N 1 tetes busa tidak hilang

4. Steroid

Ekstrak diambil 2 gram dan ditambahkan 1 mL kloroform, setelah itu campuran dikocok lalu tambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat masing-masing 2 tetes. Reaksi positif pertama kali merah kemudian biru dan hijau (Isnani & Frenly, 2014). Larutan uji sebanyak 0,5 gram diuapkan dalam cawan penguap residu dilarutkan dengan 0,5 ml Kloroform, kemudian ditambahkan0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya cincin biru kehijauan adanya steroid (Mahatriny *et al.*, 2014). 0,5 gram sampel ditambah dengan pereaksi Liberman-Buchard 1 mL. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah ungu menunjukkan adanya triterpenoid.

5. Uji Flavonoid

uji flavonoid dilakukan dengan menimbang 0,5 g serbuk simplisia, ditambah 20ml air panas, di didihkan selama 10menit dan disaring dalam keadaan panas, tambahkan 0,1gram serbuk magnesium dan 1ml asam klorida pekat dan 2ml amil alkohol kedalam 5ml filtrat, kocok dan dibiarkan memisah, simplisia positif mengandung flavonoid jika terjadi warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.

6. Uji Fenol

Menurut Hanani (2015), uji polifenol dapat dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 50 mg didihkan selama 3 menit dalam air suling 10 ml setelah itu di dinginkan lalu disaring. Filtrat diencerkan hingga hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi $FeCl_3$. Hasil positif polifenol ditandai dengan terbentuknya warna hijau sampai biru hitam.

3.6 Pembuatan Larutan Kontrol

Pembuatan larutan kontrol meliputi kontrol negatif, kontrol positif, dan larutan uji ekstrak etanol daun kelengkeng

3.6.1. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dengan menggunakan kertas cakram *disk* yang telah direndam menggunakan DMSO 5% (Dima *et al., 2016*)

3.6.2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan kertas cakram *disk* berisi *Chloramphenicol* 30 µg

3.6.3. Pembuatan Larutan Uji

Variasi konsentrasi yang digunakan 100%, 75%, 50%. Pada masing-masing ekstrak etanol daun kelengkeng. Dengan mengambil ekstrak sebanyak 5 gram untuk konsentrasi 100% dan dilarutkan pada 5 mL pelarut yang sesuai. Untuk konsentrasi 75% mengambil 3,75 mL dari larutan 100% dan dilarutkan dengan pelarut yang sama sebanyak 5 mL. Untuk konsentrasi 50% mengambil 3,33 mL dari larutan 75% dan dilarutkan dengan pelarut yang sama sebanyak 5 mL.

3.7 Pembuatan Media

Pembuatan media meliputi pembuatan agar miring, pembuatan *Muller Hinton Agar (MHA),* inokulasi bakteri agar miring, pembuatan standart kekeruhan larutan dan pembuatan suspensi bakteri uji.

3.7.1 Pembuatan Agar Miring

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) dilakukan dengan cara sebanyak 0,1 gram *Nutrient Agar* dilarutkan dalam 5 mL aquadesT 20 gram/1000 mL menggunakan Erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan dengan setir di atas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 5 mL dituangkan pada tabung reaksi steril dan ditutup menggunakan sumbat. Media tersebut disterilkan di dalam *autoklaf* pada suhu 121^0 C selama 15 menit. Kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama kurang lebih 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 45^0. Media agar miring ini digunakan untuk inokulasi bakteri

3.7.2 Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring

Masing-masing bakteri uji diambil dengan jarum ose yang telah disterilkan, lalu ditanam pada media agar miring dengan cara menggores secara aseptis dilemari *Laminar Air Flow* (LAF). Selanjutnya di inkubasi dalam inkubator pada suhu 37^0 C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan setiap jenis bakteri uji (Dima *et al.,* 2016).

3.7.3 Pembuatan Agar *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media padat *Muller Hinton Agar* (MHA) diambil sebanyak 4,56 gram dilarutkan dalam aquades steril 120 mL setelah itu dihomogenkan dengan stirer di atas penangas air sampai mendidih. Kemudian disterilkan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121^0 C selama 15 menit. Tuang media yang telah dibuat pada cawan petri steril masing-masing 10 mL dan tunggu hingga memadat. Sisa media yang digunakan untuk mencampurkan dengan suspensi bakteri

3.7.4 Pembuatan Larutan Standar *McFarland*

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 0,1 mL dilarutkan dalam aquadest 10 mL. Membuat larutan $BaCl_2$ 1 % dengan cara menimbang 0,1 gram $BaCl_2$ dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Dibuat larutan standar *McFarland* dengan cara mengambil 0,05 mL larutan $BaCl_2$ dan 9,95 mL larutan H_2SO_4 kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Metode ini dilakukan dengan pembuatan suspensi bakteri uji pada media NaCl steril dengan OD (*Optical Density*) sebesar 0,1. Masing-masing suspensi bakteri dibuat dengan cara memindahkan beberapa ose bakteri kedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NacL steril, campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian dimasukkan kedalam kuvet beberapa mL untuk diukur absorbansinya menggunakan spectrofotometer sesuai sesuai dengan standar *Mc Farland* 0,5 (Setara dengan ± 10^8 CFU/ mL bakteri λ625 nm = 0,08-0,1). Penambahan bakteri atau aquadest terus dilakukan hingga tingkat kekeruhan *Optical* Density yang terbaca melalui absorbansi yang dihasilkan mencapai 0,1. Pembuatan kultur uji dilakukan dengan cara menambahkan 1 ose bakteri uji pada tabung reaksi yang telah berisi 1 mL ekstrak dengan perbandingan volume 1:1. Untuk kontrol negatif, digunakan 1 mL suspensi mikroba dengan 1 ml aquadest steril tanpa penambahan larutan ekstrak.

3.8 Tahap Pengujian

3.8.1 Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Dengan *Disk Diffusion*

Suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah dibuat setara dengan standar *McFarland* 0,5 diambil sebanyak 0,1 mL menggunakan *micropipet.* Kemudian Sebanyak 0,1 mL dari inokulum dimasukkan dalam cawan petri steril kemudian dituang media *Mueller Hinton Agar* sebanyak 15 mL dengan suhu 30^0C. cawan petri digoyangkan membentuk angka delapan diatas permukaan meja agar media dan suspensi bakteri tercampur rata dan dibiarkan hingga memadat. Selanjutnya kertas cakram direndam pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun kelengkeng (100%, 75%, 50%) selama 1-5 menit. Untuk kontrol positif kertas cakram direndam dalam larutan *Chloramphenicol* dan kontrol negatif kertas cakram direndam dalam DMSO 5% selama 1-2 menit. Setelah itu, masing-masing kertas cakram diambil menggunakan pinset dan diletakkan pada permukaan area yang sudah diberi tanda. Lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37^0 C. Kemudian amati dan ukur diameter zona bening (*Clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan penggaris.

3.8.2 Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Dengan *Agar Diffusion*

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) diinokulasi dengan suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah dibuat setara dengan standar *McFarland* 0,5 yang akan diuji menggunakan cotton bud steril dimasukkan kedalam campuran bakteri dan NaCl 0,9%. Cotton bud steril yang sudah di tiriskan kemudian digores pada media MHA sebanyak tiga kali dengan sudut kurang lebih 60^0 agar bakteri tergores merata pada seluruh permukaan media MHA padat yang telah diinokulasi dengan bakteri dibuat lubang sumuran dengan *yellow-tipe* berdiameter 6 mm. Tiap cawan petri dibuat 5 lubang sumuran. 50 µl ekstrak dari masing-masing konsentrasi (100%, 75%, 50%) diinjeksikan ke lubang *Agar diffusion* pada cawan petri. DMSO 5% digunakan sebagai kontrol negatif dan larutan *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0 C. Kemudian amati dan ukur diameter zona bening (*Clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan penggaris.

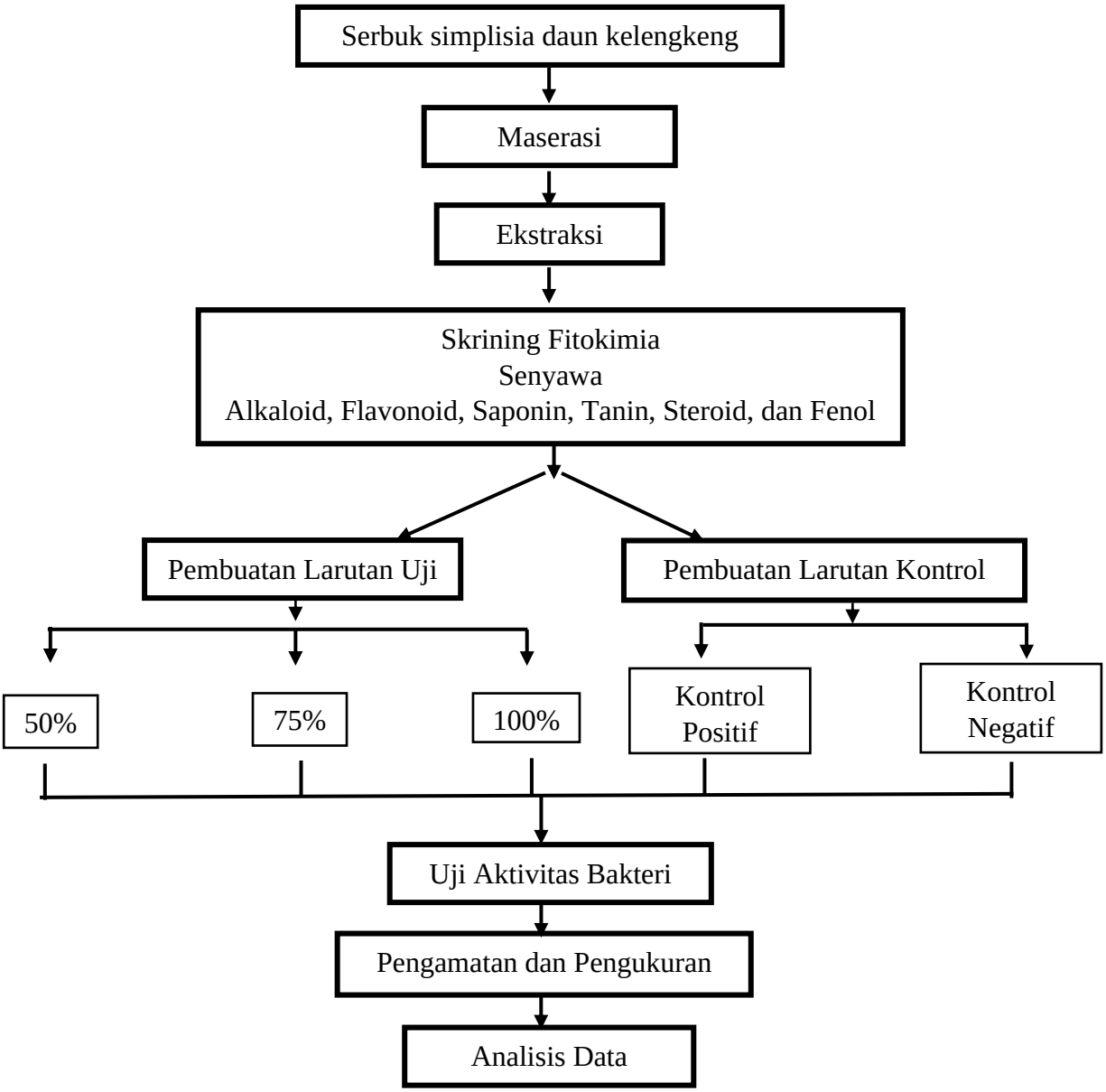
3.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri daun kelengkeng yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis statistik parametrik dengan distribusi yang normal yaitu *One way* ANOVA untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada setiap konsentrasi. Sedangkan untuk data yang tidak terdistrubusi dengan normal menggunakan analisis statistik non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan signifikan setia konsentrasi.

3.10 Uji Ducan – Tukey

Uji Ducan adalah uji lanjutan untuk mengetahui nilai tengah mana saja yang sama dan nilai tengah mana saja yang tidak sama ketika pengujian kehomogenan beberapa nilai tengah memberikan hasil menolak hipotesis nol dan menerima hasil hipotesis alternatif. Sedangkan uji tukey sama halnya dengan uji Ducan hanya saja lebih komperatif dalam menentukan nilai. Uji Ducan juga menentukan nilai tengah *Treatment* yang mana saja yang berbeda signifikan menggunakan uji tukey dengan taraf 0,05.

3.11 Kerangka Kerja Penelitian



Gambar 3.11 Kerangka Kerja Penelitian

BAB IV
DATA HASIL PENGAMATAN

4.1 Hasil Determinasi Daun Kelengkeng

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Jeruk Gamping, Kecamatan Krian, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. Daun yang dipilih adalah daun yang berumur tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang. Hasil dari determinasi menunjukkan apabila tanaman daun kelengkeng yang digunakan dalam penelitian dapat dipastikan merupakan jenis *Dimocarpus longan L.*. Hasil identifikasi determinasi daun kelengkeng dilihat pada **Lampiran 2.**

4.2 Hasil Pembuatan Simplisia Daun Kelengkeng

Hasil preparasi sampel Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) yang di dapatkan dari Desa Jeruk Gamping, Kecamatan Krian, Kabupaten Sidoarjo Jawa Timur yaitu berupa Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) segar sebanyak 1,7 kg. Kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50^0 C sehingga diperoleh Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) kering sebanyak 1,5 kg dan dapat dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk sebanyak 1,3 kg dengan rendemen simplisia 13,3%.

Tabel 4.2 Hasil Karakteristik serbuk simplisia Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*).

Metode Pengeringan	Sampel Segar	Simplisia	Kadar Air	Rendemen Simplisia	Organoleptis
Oven Suhu 50^0 C	1,7kg	1,5kg	0,49 %	13,3 %	Bau:Khas aromatik Bentuk : Serbuk Warna : Hijau

4.3 Hasil Ekstraksi Daun Kelengkeng

Simplisia daun kelengkeng di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yaitu proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang, sehingga zat-zat yang terkandung didalam simplisia relatif lebih aman jika dibandingkan dengan penggunaan ekstraksi panas.

Hasil ekstraksi kental daun kelengkeng yang diperoleh sebanyak 5790 mL dengan rendemen 17%

T**abel 4.3** Hasil Ekstraksi Daun Kelengkeng

Spesifikasi	**Hasil Pengamatan**
Bobot Simplisia	1,5 kg
Berat ekstrak kental	170 gram
Berat rendemen ekstrak	17%
Organoleptis	Bau : Khas Bentuk : Kental Warna : Hijau Pekat Rasa : Pahit

4.4 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Penelitian uji skrining fitokimia, pengujian ini dilakukan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat dalam daun kelengkeng yang akan digunakan untuk uji antibakteri. Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode pengujian skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Widayanti *et al.*, 2009).

Tabel 4.4 Hasil Uji Skrining Fitokimia

No.	Uji Skrining Fitokimia	Pengamatan	Hasil
1	Senyawa Alkaloid	Terbentuk endapan merah hingga endapan merah kecoklatan	+
2	Senyawa Flavonoid	Terbentuk warna merah lembayung	+
3	Senyawa Saponin	Terbentuk busa 1 cm selama 30 detik	+
4	Senyawa Tanin	Terbentuk warna merah terdapat endapan putih	+
5	Senyawa Steroid	Terbentuk perubahan merah menjadi kuning dan terdapat cincin berwarna merah	+
6	Senyawa Fenol	Terjadi perubahan warna menjadi hitam kehijauan	+

Keterangan :

(+) Positif

(-) Negatif

Dari hasil tabel diatas diketahui bahwa dalam uji skrining fitokimia yang terdapat dalam tanaman daun kelengkeng yaitu terkandung Senyawa Alkaloid, Senyawa Flavonoid, Senyawa Saponin, Senyawa Tanin, Senyawa Steroid, Senyawa Fenol, yang hasilnya terdapat kandungan dari masing-masing yaitu ditandai dengan positif.

4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Disk Diffusion*

Pada pengamatan yang dilakukan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng pada bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Disk Diffusion* ditandai dengan adanya diameter zona hambat di sekeliling kertas cakram yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) pada *Escherichia coli* dengan Metode *Disk Diffusion.*

No.	Konsentrasi	Diameter				Rata-Rata (mm) ± SD	Kategori
		R1	R2	R3	R4		
1	Kontrol Positif (*Chloramphenicol*)	15	16	16	18	16,25 ± 1,25	Rentan
2	Kontrol Negatif (DMSO 5%)	-	-	-	-	0	-
3	Konsentrasi 100%	18	20	21	24	20,75 ± 2,50	Sensitif
4	Konsentrasi 75%	17	21	22	25	21,25 ± 3,30	Sensitif
5	Konsentrasi 50%	14	17	19	20	17,5 ± 2,64	Rentan

Keterangan :

Sensitif : ≥ 18

Rentan : 13-17

4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Agar Diffusion

Pada pengamatan yang dilakukan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng pada bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Agar Diffusion* ditandai dengan adanya diameter zona hambat di sekeliling lubang sumuran yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) pada *Escherichia coli* dengan Metode *Agar Diffusion.*

No.	Konsentrasi	Diameter				Rata-Rata (mm) ± SD	Kategori
		R1	R2	R3	R4		
1	Kontrol Positif (*Chloramphenicol*)	20	24	26	26	24 ± 2,82	Sensitif
2	Kontrol Negatif (DMSO 5%)	-	-	-	-	0	-
3	Konsentrasi 100%	20	25	26	35	26,5 ± 6,24	Sensitif
4	Konsentrasi 75%	16	18	18	19	17 ± 1,25	Rentan
5	Konsentrasi 50%	15	16	16	18	16 ± 3,40	Rentan

Keterangan :
Sensitif : ≥ 18

Rentan : 13-17

4.7 Hasil Analisa Data

4.7.1. Hasil Uji Normalitas

Uji Normalitas pada penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui data yang digunakan terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-wilk* karena populasi dalam sample yang digunakan untuk penelitian kurang dari 50 populasi (<50). Pada pengamatan yang dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.7 Hasil Uji Normalitas Metode *Disk Diffusion* dan Metode *Agar Diffusion* dengan *Shapiro-wilk*

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Disk_Diffusion	K+	,329	4	.	,895	4	,406
	100%	,210	4	.	,982	4	,911
	75%	,220	4	.	,980	4	,900
	50%	,215	4	.	,946	4	,689
Agar_Diffusion	K+	,260	4	.	,827	4	,161
	100%	,282	4	.	,938	4	,641
	75%	,329	4	.	,895	4	,406
	50%	,279	4	.	,923	4	,556

Tabel diatas menyatakan bahwa uji normalitas yang dilakukan pada penelitian dengan sampel ekstrak etanol daun kelengkeng adalah signifikan karena data berdistribusi normal jika nilai signifikansi lebih besar (>0,05)

4.7.2. Hasil Uji Homogenitas

Uji homogenitas pada penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui varian populasi yang digunakan sudah sama atau tidak. Hasil uji homogenitas terlihat bahwa nilai probabilitas pada metode *Disk diffusion* (p)= 0,145 sedangkan pada metode *Agar diffusion* memiliki nilai probabilitas (p)= 0,102 dimana nilai (p> 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang di dapat memiliki variansi yang sama atau homogen.

4.8 Hasil Uji One Way ANOVA

Uji *One way* ANOVA pada penelitian ini memiliki tujuan untuk hipotesis pada sampel ekstrak etanol daun kelengkeng. Pada pengamatan yang dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.8 Hasil Uji *One way* ANOVA Metode *Disk Diffusion* dan Metode *Agar Diffusion*

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Disk_Diffusion	Between Groups	12,193	4	3,048	59,189	,000
	Within Groups	,773	15	,052		
	Total	12,966	19			
Agar_Diffusion	Between Groups	17,323	4	4,331	35,990	,000
	Within Groups	1,805	15	,120		
	Total	19,128	19			

Tabel diatas menyatakan bahwa uji *One way* ANOVA yang dilakukan pada penelitian dengan sampel ekstrak etanol daun kelengkeng adalah adanya perbedaan hasil diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang signifikan antara perbedaan konsentrasi dengan hasil nilai diketahui nilai signifikansi lebih kecil dari (<0,05).

4.9 Hasil Uji Tukey

Uji Tukey digunakan untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan setelah uji analisis varian dilakukan. Pada pengamatan yang dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 4.9 Hasil Uji Tukey Menggunakan Metode *Disk diffusion* dan *Agar Diffusion*

NO	**Sampel**	***Disk Diffusion***		***Agar Diffusion***	
		Zona Hambat ± SD	**Kategori**	**Zona Hambat ± SD**	**Kategori**
1	Kontrol Positif	$16,25^{a}$ ± 1,25	Rentan	24^{a} ± 2,82	Sensitif
2	Kontrol Negatif	-	-	-	-
3	Konsentrasi 100%	$20,75^{b}$ ± 2,50	Sensitif	$26,5^{a}$ ± 6,24	Sensitif
4	Konsentrasi 75%	$21,25^{b}$ ± 3,30	Sensitif	17^{b} ± 1,25	Rentan
5	Konsentrasi 50%	$17,5^{a}$ ± 2,64	Rentan	16^{b} ± 3,40	Rentan

BAB V
PEMBAHASAN

Bahan utama penelitian ini menggunakan daun kelengkeng yang diperoleh dari Desa Jeruk Gamping, Kecamatan Krian, Kabupaten Sidoarjo. Sebelumnya telah dilakukan determinasi terlebih dahulu untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang akan diteliti serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian.

Karakteristik serbuk simplisia daun kelengkeng berdasarkan Tabel 4.2 didapatkan hasil daun segar sebanyak 1,7 Kg dan kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50^0 C sehingga diperoleh Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) kering sebanyak 1,5 Kg dan dapat dihaluskan dengan blender sehingga didapatkan serbuk sebanyak 1,3 Kg dengan mempunyai bau khas aromatik, dan berwarna hijau.

Ekstraksi daun kelengkeng dapat dilihat pada Tabel 4.3 didapatkan berat serbuk 1 kg kemudian dimasukkan kedalam wadah. Ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 7,500 sehingga serbuk terendam sempurna. Dari hasil maserasi yang telah dilakukan didapatkan filtrat sebanyak 5790 mL yang selanjutnya dilakukan pemekatan menggunakan *Rotary evaporator* selama ± 6 jam hingga diperoleh ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*), Berwarna hijau pekat sebanyak 170 mL dengan rendemen 17%.

Skrining fitokimia berdasarkan Tabel 4.4 didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) positif mengandung senyawa alkaloid ketika ditambahkan reagen wagner dan reagen dragendrof ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat kemerahan. Mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah tua dan jingga setelah diberikan perlakuan. Mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Mengandung saponin dengan terbentuknya buih yang dapat bertahan lebih dari 10 menit. Mengandung senyawa steroid ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning dan terdapat cincin merah. Mengandung senyawa fenol yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) menunjukkan bahwa positif mengandung senyawa beberapa senyawa seperti flavonoid saponin, tanin, glikosida (fenol), alkaloid, steroid. Flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen titik flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri enzim yang merupakan protein. Saponin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang mana saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga menurunkan tegangan permukaan sel yang pada akhirnya menyebabkan kehancuran pada bakteri.

Tanin merupakan senyawa fenolik yang mengandung gugus hidroksil yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri mekanisme tanin sama dengan flavonoid yaitu merusak sel bakteri dengan memanfaatkan perbedaan ke polaran lipid penyusunan sel bakteri dan gugus alkohol pada rantai polifenol dari tanin (Estri, 2015). Kandungan alkaloid yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun kelengkeng dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel (Taufiq, 2015). Mekanisme steroid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein trans membran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin.

Pada penelitian ini diketahui tinggi rendahnya konsentrasi ekstrak etanol daun kelengkeng tidak berbanding lurus dengan diameter zona hambat yang dihasilkan. Pada metode *Disk diffusion* konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 17,5 mm, pada konsentrasi 75% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 21,25 mm. Sedangkan pada perlakuan metode *Agar diffusion* konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 16 mm dan pada konsentrasi 75% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 17 mm. Jika dilihat dalam respon hambat pertumbuhan bakteri ke 4 konsentrasi ini termasuk memiliki respon sedang hingga

kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Uji Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng dengan metode *Disk diffusion* pada konsentrasi 100% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 20,75 mm sedangkan pada metode *Agar diffusion* konsentrasi 100% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat mencapai 26,5 mm. Berdasarkan diameter zona hambatan yang diperoleh bila dibandingkan dengan tabel CLSI maka zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 100% berkategori sensitif yang berarti efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* karena diameter yang terbentuk melebihi 18 mm.

Penggunaan metode yang berbeda menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda pula. Penelitian menggunakan daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) pada konsentrasi 50% dan 75% memiliki diameter zona hambat semakin besar. Sedangkan pada konsentrasi 75% dengan 100% mengalami penurunan. Hal ini sejalan dengan penelitian Rastina *et al.,* (2015) konsentrasi 75% menunjukkan kenaikkan diameter zona hambat. Akan tetapi, pada konsentrasi 100% mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena konsentrasi 100% tidak meresap secara sempurna kedalam *paper disk* dan sulit berdifusi dalam media sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil daripada konsentrasi 75%. Pada ekstrak daun kelengkeng dengan metode *Agar diffusion* pada konsentrasi 100% mempunyai daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan pada metode *Disk diffusion*. Hal ini diperkuat oleh penelitian (Prayoga 2013) yang menyatakan bahwa dengan menggunakan metode *Agar diffusion* dapat menghasilkan diameter zona hambat yang besar. Hal ini diakibatkan karena pada metode *Agar diffusion* terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari metode *Disk diffusion*. Metode *Agar diffusion* setiap lubangnya diisi dengan konsentrasi ekstrak sehingga osmolaritas terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi dan lebih kuat untuk menghambat.

Salah satu faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat yaitu konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi, suatu bahan semakin banyak mikroorganisme yang dihambat. Pada titik tertentu, peningkatan konsentrasi tidak meningkatkan kecepatan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. (Dewi 2010) menambahkan bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik

sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu.

Bakteri gram positif memiliki struktur gram dinding sel yang lebih banyak peptidoglikan sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida asam teikoat. Asam tikoat merupakan polimer yang larut dalam air yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Karena sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang bersifat nonpolar. Hal tersebut menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Bakteri *Escherichia coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini juga diperkuat oleh pernyataan Jawetz *et al*., (2007) *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang resisten terhadap beberapa antibakteri hal ini disebabkan karena tiga lapisan dinding sel pada bakteri ini, sehingga beberapa senyawa tidak mampu merusak jaringan dari dinding sel bakteri *Escherichia coli* titik dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga polimer yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah Lipolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membran luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik).

Uji normalitas berdasarkan Tabel 4.7 dapat diketahui hasil pada metode *Disk diffusion* dengan *Shapiro-wilk* nilai probabilitas data yang didapatkan yaitu *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif memiliki nilai probabilitas (p)= 0,406, konsentrasi 50 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,911, konsentrasi 75 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,900, konsentrasi 100 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,689. Kontrol negatif tidak dimasukkan dalam pengolahan data, karena hasil statis yaitu 0 sehingga dihilangkan secara otomatis oleh sistem. Nilai probabilitas dapat dikatakan signifikan atau terdistribusi normal apabila p> 0,05.

Uji normalitas metode *Agar diffusion* dengan *Shapiro-wilk* dapat dilihat pada Tabel 4.7 dapat diketahui nilai probabilitas data yang didapatkan yaitu *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif memiliki nilai probabilitas (p)= 0,161, konsentrasi 50 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,641, konsentrasi 75 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,406, konsentrasi 100 % memiliki nilai probabilitas (p)= 0,556. Kontrol negatif tidak dimasukkan dalam pengolahan data, karena hasil statis yaitu 0 sehingga dihilangkan secara otomatis oleh sistem. Nilai probabilitas dapat dikatakan signifikan atau terdistribusi normal apabila (p> 0,05).

Uji homogenitas berdasarkan Tabel 4.7 terlihat bahwa nilai probabilitas pada metode *Disk diffusion* (p)= 0,145 sedangkan pada metode *Agar diffusion* memiliki nilai probabilitas (p)= 0,102 dimana nilai (p> 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang di dapat memiliki variansi yang sama atau homogen. Dengan demikian syarat-syarat untuk melakukan pengujian data dengan menggunakan uji *One Way* ANOVA sudah terpenuhi dan dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu uji *One Way* ANOVA.

Uji *One Way* ANOVA berdasarkan Tabel 4.8 didapatkan hasil pada metode *Disk diffusion* dimana nilai probabilitas (p)= 0,000 sedangkan pada metode *Agar diffusion* memiliki nilai probabilitas (p)= 0,000 atau nilai (p)= <0,05 sehingga H_0 ditolak H_1 diterima yaitu terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) terhadap *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Disk diffusion* dan *Agar diffusion.*

Berdasarkan Tabel 4.9 Uji Tukey dengan menggunakan metode *Disk diffusion* digunakan untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata (mean) dari satu kelompok perlakuan sampel dengan rata-rata (mean|) dari satu kelompok perlakuan lainnya. Hasil uji Tukey yang didapat pada kontrol positif adalah 16,25 ± 1,25. Hasil uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 100% adalah 20,75 ± 2,50. Hasil uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 75% adalah 21,25 ± 3,30. Hasil uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 50% adalah 17,5 ± 2,64.

Berdasarkan Tabel 4.10 Uji Tukey dengan menggunakan metode *Agar diffusion* digunakan untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata (mean) dari satu kelompok perlakuan sampel dengan rata-rata (mean|) dari satu kelompok perlakuan lainnya. Hasil uji Tukey yang didapat pada kontrol positif adalah 24 ± 2,82. Hasil

uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 100% adalah 26,5 ± 6,24. Hasil uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 75% adalah 17 ± 1,25. Hasil uji Tukey yang didapat pada konsentrasi 50% adalah 16 ± 3,40.

BAB VI
PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Terdapat perbandingan hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) terhadap *Escherichia coli* pada metode *Disk diffusion* dan *Agar diffusion* berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun kelengkeng berkategori kuat karena memiliki zona hambat lebih dari 18 mm. Berdasarkan penelitian yang dilakukan metode *Agar diffusion* dengan konsentrasi 100% adalah konsentrasi terbaik untuk menghambat *Escherichia coli* dengan zona hambat mencapai 26,5 mm hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun kelengkeng dapat digunakan sebagai anti bakteri.

6.2 Saran

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan menggunakan metode lain, selain menggunakan metode *Disk diffusion* dan *Agar diffusion.* Dengan melakukan perbandingkan metode Difusi dan metode Dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

Atun, S. 2014. *Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam*. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur* (8) :53-61.

Anief. 2004. *Ilmu Meracik Obat Teori Dan Praktik*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Anisa, P. 2018. *Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penentuan Kandungan Fenolik Total Dari Daun Lengkeng (Dimocarpus longan Lour)* (Doctoral dissertation, Universitas Andalas)

Anam, C. 2010. *Ekstraksi Oleresin Jahe Kajian dari ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu*. Jurnal pertanian MAPETA.

Ari K., Yuriska S., Annisa Y., dan Kurnia R. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media TampungAntibiotik dengan Escherichia coli sebagai bakteri uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2):151-155

Apriyanto, D. R. 2016. *Aktivitas antivirus hepatitis c fraksi n-heksana, etil asetat, dan n-butanol daun lengkeng (Dimocarpus longan LOUR).* In *Prosiding*. Seminar Nasional Hasil-Hasil PPM IPB (Vol. 11).

Baiq, D. M. & A.sugiyatno. 2013. *Keragaman Morfologi Dan Genetik Lengkeng di Jawa Tengah dan Jawa Timur*. Informatika Pertanian, Vol.22 No.2, 95- 102.

BPOM. 2013. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia : Jakarta.

CLSI. 2018. *Performance Standart for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. 13th ed.* CLSI standart M02. Wayne, PA : *Clinical and Laboratory Standart Institude.*

Depkes, RI. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (VI)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tawangmangu : Jakarta

Dewi.I.. Astuti, K.W.,Warditiani, N.K. 2013. *Skrining fitokimia Ekstrak Etanol 95% kulit buah manggis (Garcinia Mangostana L.)*. Jurnal Farmasi Udayana

Dima, L.R.H., Fatmawati., Lolo, W.A. 2016 *Uji aktivitas antibakteri daun kelor (Moringa oleifera) terhadap bakteri escheria coli dan staphylococcos aureus.* Manado: Pharmacon

Elfidasari, Dewi Elfidasari Anita Mira Saraswati Grariani NufadiantiRugayah Samiah, Viki Setiowati. 2011. *Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan*

Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran Fast Food di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah Escherichia coli Terlarut. Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi, Vol.1(No.1).

Fadhilaturrahmi, S. 2015. *Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Terong Lalap Ungu (Solanum melongena L.). Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Fauziah, W. N. 2015. *"Uji aktivitas Antimikroba Ekstrak etanol Daun,Kuit dan Biji Kelengkeng terhadap pertumbuhan Saccharomyces cerevisiae DAN Lactobacillus Plantarum penyebab kerusakamm mira siwalan"*. Skripsi, malang program pasca Sarjana Sains.

Fajeriyati, N., & Andika. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L.) pada Bakteri Bacillus subtilis dan Escherichia coli (Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Kencur Rhizome (Kaempferia galanga L.) in Bacillus subtilis and Escherichia c*. *Journal Current Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 36–41.

Hernani & Rahardjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadaya*.

Heinrich,M., Barnes, J., Gibbons, S. Williamson, E., M. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Buku Kedokteran :Jakarta

Hanani, M.S.E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus). Skripsi*. Jakarta : Jurusan Farmasi UIN Syarif Hidayatullah.

Ikmalia. 2008. *Analisa Profil Protein Isolat Escherichia coli S1 Hasil Iradiasi Sinar Gamma[Skripsi]*. Jakarta : Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Ikalinus, R., Widyastuti, S.K. 2015. *Indonesia Medicus Veterinus. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (Moringa oleifera)*. Volume 4 (1) : 71-79

Ismail, D. 2012. *Uji Bakteri Escherichia coli Pada Minuman Susu Kedelai Bermerek dan Tanpa merek di kota surakarta*. Naskah publikasi, Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Surakarta

Isnani., Fatimawali., dan Frenly W. 2014, *Aktivitas diuretik dan Skrining Fitokimia ekstrak Etanol Biji Pepaya (Carica papaya L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus)*, Jurnal Ilmiah Farmasi, Unsrat Manado..

Kemenkes, RI. 2020. *Jakarta: Health Statistics. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.

Kuswiyanto, 2015. *Bakteriologi 1 : Buku Ajar Analis Kesehatan*. Jakarta; Buku Kedokteran

Lutfiana N. 2013. *Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Gizi Buruk pada Lingkungan Tahan Pangan Dan Gizi.M. Semarang*: Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Negeri Semarang

Marjoni, R. 2016, *Dasar-Dasar Fitokimia.* CV. Trans Info Media: Jakarta Timur

Mahatriny, N. N., Payani, N. P. S., Oka, I. B. M., & Astuti, K. W. 2014, *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica papaya L.) Yang Diperoleh dari Daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian, 12

Nita, Sartika. 2016. *Asuhan Kebidanan Fisiologis di BPM Bidan Elis Lismayani SST.SKM.MM, di Kabupaten Ciamis*. Skripsi Ciamis D III Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Ciamis.

Noer, I. 2006**.** *Bioaktivitas Ulva Reticulata F.asal Gili Kondo Lombok Timur Terhadap Bakteri* . Jurnal Bioaktif, 5(1): 45-60.

Nahdliyah, V. A. 2019. *Skrining Fitokimia Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol bunga pepaya jantan (Carica papaya L) dari daerah Kecamatan Warungpring kabupaten Pemalang Jawa Tengah*. Jurnal Ilmiah Farmasi, Pekalongan program gelar Ahli Madya.

Pramudita Riwanti, Fariza izazih, Amaliyah. 2020. Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid total ekstrak etanol 50, 60, 96% Sargossum polycystum dari madura. *Journal of Pharmacuetical Anwar Medika*

Riset Kesehatan Dasar. 2018. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI* tahun 2018. http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi_rakorpop_2 0 18/Hasil%20Riskesdas%202018.pdf

Rahmah, Q. 2013. *Ciri Morfologis Tanaman Lengkeng* (*Dimocarpus Longan*). http://rahmahqisti.co.id/2013/01/cirimorfologistanamanlengkeng_3.html.

Rukmana, R. M., & Mulyowati, T. 2014. *Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanolik Daun Kumis Kucing (Orthosiphon stamineus) pada Bakteri Streptococcus pyogenes dan Salmonella thypi*. *Biomedika*, *8*(2), 15-18.

Ripa FA, Haque M, Bulbul I J. 2010. *In Vitro Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Activities of plant Nephelium longan*. J Biol Sci. 2010;13(1):22-27.

Rashed, K. N., & Fouche, G. 2013. Anticancer activity of Carica papaya extracts in vitro and phytochemical analysis. *Greener Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *1*(1), 1-5

Salamah, N., & Widyasari, E. 2015. *Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (Euphoria longan (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil*. *Pharmaciana*, *5*(1), 25-34.

Sumardjo, D. 2009. *Pengantar kimia : buku panduan kuliah mahasiswa kedokteran dan program strata I fakultas bioeksakta*. Jakarta: Kedokteran EGC

Sardiman. 2014. *Interaksi dan Motivasi Belajar Mengajar*. Jakarta: Rajawali Press

Sri, D. H., Sri, D., dan Wildiani W. 2017. *Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa dengan Metode Disk dan Metode Sumuran*. Seminar Nasional *Publikasi Hasil-hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat 2017*. Universitas Muhammadiyah Semarang. 348.

Susilo, J. 2009. *Sukses bertanam Kelengkeng Varietas Unggul.cetakan pertama. Yogyakarta*: Pustaka Baru Press.

Sangi, M. S. *et al.* 2013. *Uji Toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelapah aren (Arange Pinnata).* Universitas Sam Ratutalangi.

Utami, P., 2012. *Antibiotik alami untuk mengatasi aneka penyakit*. AgroMedia

Utami, F. R. & Utomo, B., Sucahya, P. K. 2011. *Priorities and realities: addressing the rich-poor gaps in health status and service access in Indonesia*. International *Journal for Equity in Health*, *10*(1), 1-14

Usman, M. 2006. *Sukses Membuahkan Lengkeng Dalam Pot. Jakarta*: Pt.Agromedia Pustaka.hlm 74

Winarto, W. P. 2007. *Tanaman obat Indonesia untuk pengobatan herbal*. *Karyasari Herba Media*, *124*.

Widayanti, S. M., A. W. Permana, H. D. Kusumaningrum. 2009. *Kapasitas Kadar Antosianin Ekstrak Tepung Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) Pada Berbagai Pelarut Dengan Metode Maserasi*. J. Pascapanen, 6 (2): 61-68

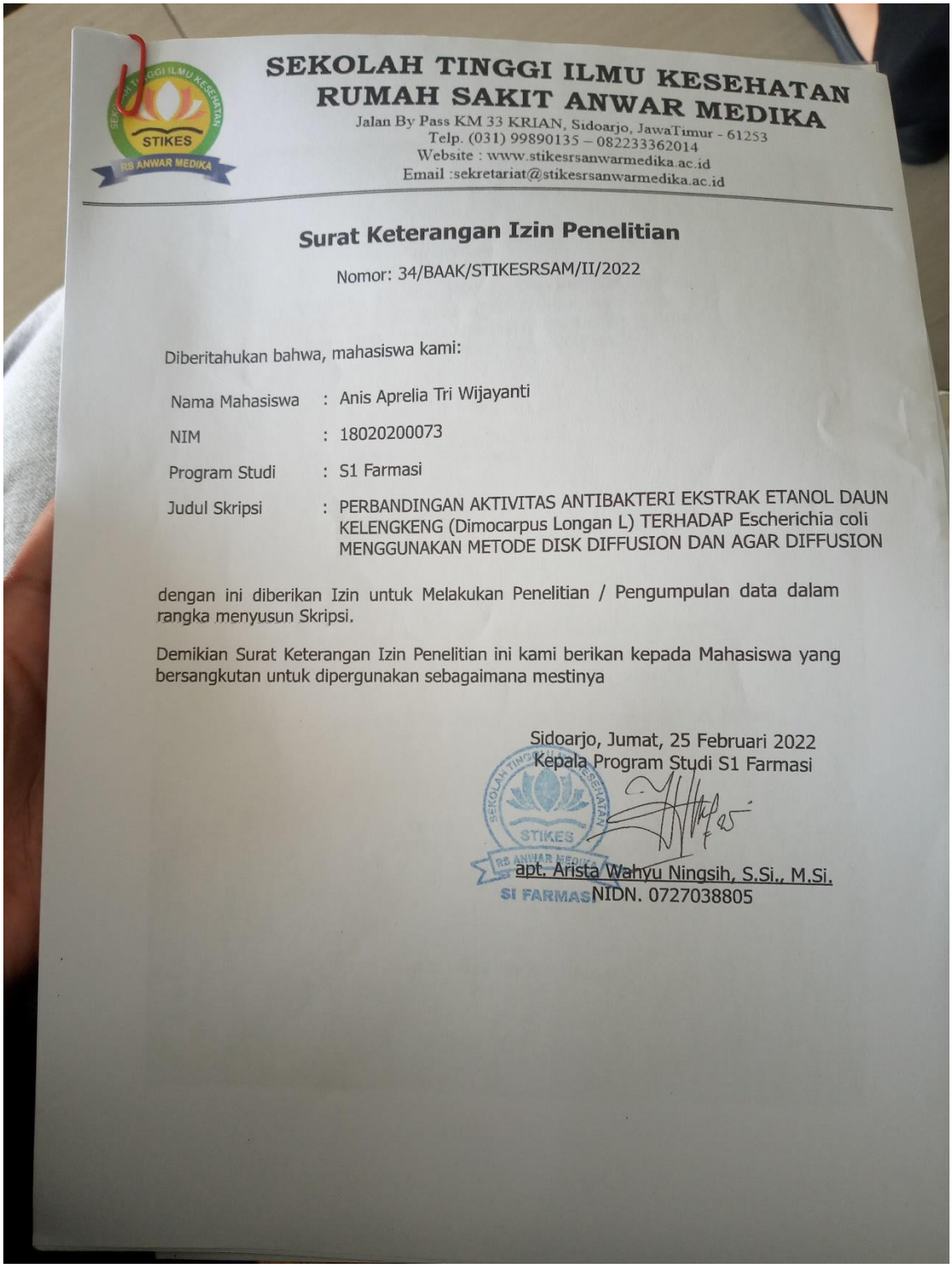
Wibowo, R M. haryadi & Wahyui, agnesia endang trihapsari. 2008. *Studi Patogenisitas Eschericia coli Isolat Unggas pada Ayam Pedaging Umur 15 Hari*. Jurnal Veteriner, Vol.9 No.2, pp.87–93.

World Health Organization. 2014. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. World Health Organization.

World Health Organization, *World Health Statistic Report 2015*. Geneva: World Health Organization; 2015.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Izin Penelitian



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA
Jalan By Pass KM 33 KRIAN, Sidoarjo, JawaTimur - 61253
Telp. (031) 99890135 – 082233362014
Website : www.stikesrsanwarmedika.ac.id
Email :sekretariat@stikesrsanwarmedika.ac.id

Surat Keterangan Izin Penelitian

Nomor: 34/BAAK/STIKESRSAM/II/2022

Diberitahukan bahwa, mahasiswa kami:

Nama Mahasiswa	:	Anis Aprelia Tri Wijayanti
NIM	:	18020200073
Program Studi	:	S1 Farmasi
Judul Skripsi	:	PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELENGKENG (Dimocarpus Longan L) TERHADAP Escherichia coli MENGGUNAKAN METODE DISK DIFFUSION DAN AGAR DIFFUSION

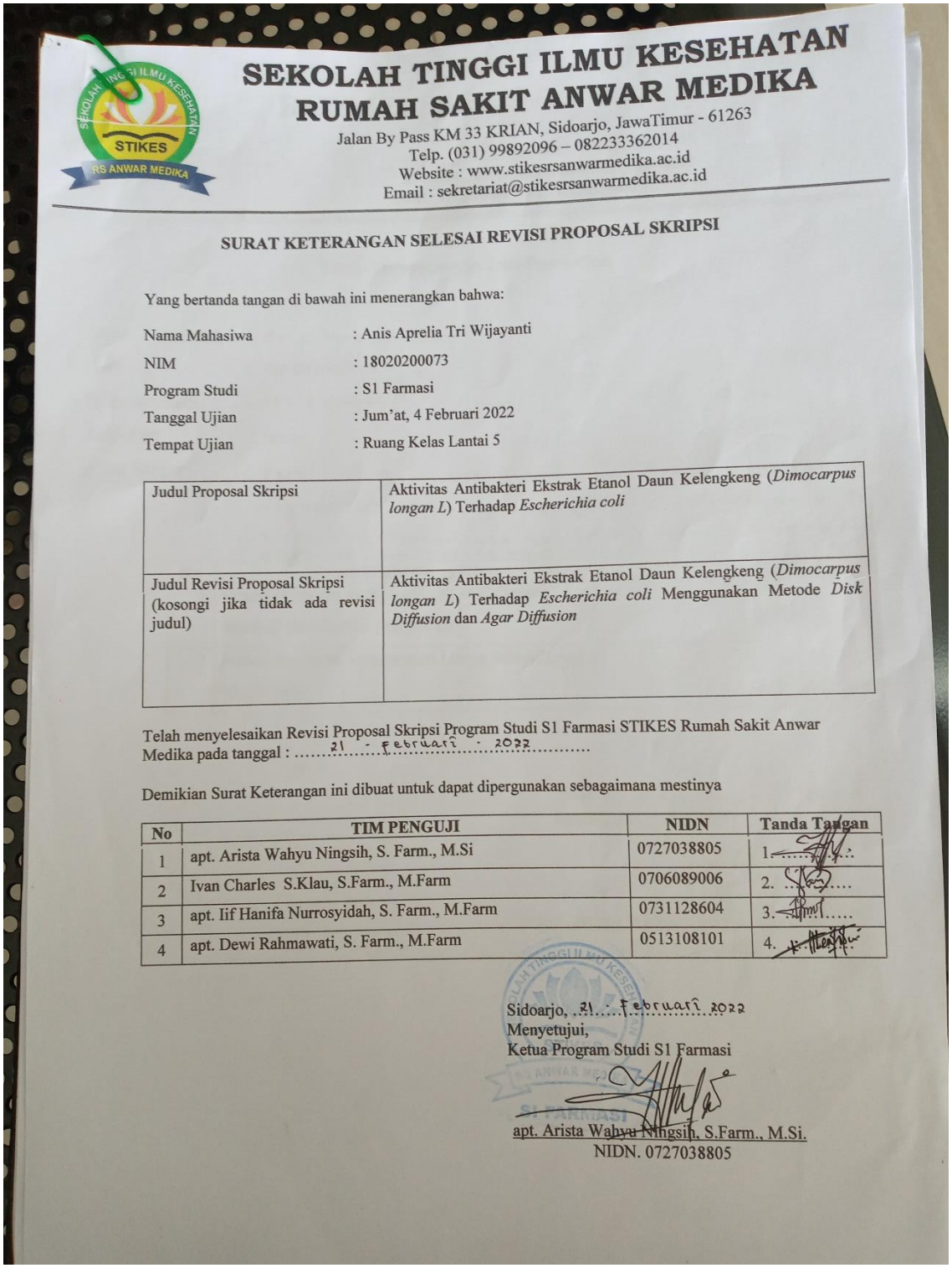
dengan ini diberikan Izin untuk Melakukan Penelitian / Pengumpulan data dalam rangka menyusun Skripsi.

Demikian Surat Keterangan Izin Penelitian ini kami berikan kepada Mahasiswa yang bersangkutan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

Sidoarjo, Jumat, 25 Februari 2022
Kepala Program Studi S1 Farmasi

apt. Arista Wahyu Ningsih, S.Si., M.Si.
NIDN. 0727038805

Lampiran 2. Surat Keterangan Selesai Revisi Sidang Proposal Skripsi



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA

Jalan By Pass KM 33 KRIAN, Sidoarjo, JawaTimur - 61263
Telp. (031) 99892096 – 082233362014
Website : www.stikesrsanwarmedika.ac.id
Email : sekretariat@stikesrsanwarmedika.ac.id

SURAT KETERANGAN SELESAI REVISI PROPOSAL SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan bahwa:

Nama Mahasiswa : Anis Aprelia Tri Wijayanti
NIM : 18020200073
Program Studi : S1 Farmasi
Tanggal Ujian : Jum'at, 4 Februari 2022
Tempat Ujian : Ruang Kelas Lantai 5

Judul Proposal Skripsi	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Terhadap *Escherichia coli*
Judul Revisi Proposal Skripsi (kosongi jika tidak ada revisi judul)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Terhadap *Escherichia coli* Menggunakan Metode *Disk Diffusion* dan *Agar Diffusion*

Telah menyelesaikan Revisi Proposal Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKES Rumah Sakit Anwar Medika pada tanggal : 21 - Februari - 2022

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

No	TIM PENGUJI	NIDN	Tanda Tangan
1	apt. Arista Wahyu Ningsih, S. Farm., M.Si	0727038805	1.
2	Ivan Charles S.Klau, S.Farm., M.Farm	0706089006	2.
3	apt. Iif Hanifa Nurrosyidah, S. Farm., M.Farm	0731128604	3.
4	apt. Dewi Rahmawati, S. Farm., M.Farm	0513108101	4.

Sidoarjo, 21 Februari 2022
Menyetujui,
Ketua Program Studi S1 Farmasi

apt. Arista Wahyu Ningsih, S.Farm., M.Si.
NIDN. 0727038805

Lampiran 3. Determinasi

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id

Nomor : 074/ 190/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kelengkeng**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ANIS APRELIA TRI WIJAYANTI
NIM : 18020200073
Fakultas : FARMASI, STIKES RS ANWAR MEDIKA

1. Perihal determinasi tanaman kelengkeng
   Kingdom : Plantae(Tumbuhan)
   Divisi : Magnoliophyta(Tumbuhan berbunga)
   Sub divisi : Angiospermae.
   Kelas : Dicotyledonae
   Bangsa : Sapindales
   Suku : Sapindaceae
   Marga : Euphoria
   Jenis : *Dimocarpus longan* Lour.
   Sinonim : *Euphoria longan* (Lour.) Steud. = *Euphoria longana* Lam.
   Nama Umum : Lengkeng, kelengkeng, longan.
   Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-227b-229b-230a-231a-232a:Sapindaceae- 1b-2b-4a-5b-7b-8b-9a-10a-11a-12b-19b-20b-21b:Euphoria-11:*E.longan.*
2. Deskripsi : Habitus: Pohon, tinggi 10-15 m. Batang: Tegak, berkayu, bulat, percabangan simpodial, permukaan kasar, coklat. Daun: Majemuk menyirip, berseling, anak daun bentuk lonjong, tepi rata, ujung runcing, pangkal runcing, panjang 4-9 cm, lebar 2-4 cm, pertulangan menyirip, permukaan licin, hijau. Bunga: Majemuk, berumah satu, bentuk malai, diujung cabang, bunga betina bakal buah tampak jelas, hijau, benang sari tersusun dalam lingkaran, kelopak hijau, mahkota lepas, kuning pucat. Buah: Buni, bentuk bola, garis tengah 1 -2 cm, permukaan kasar, coklat. Biji: Bola, keras, licin, hitam. Akar: Tunggang, coklat.
3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka
   - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only), Vol I.* N.V.P. Noordhoff, Groningen
   - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia.* Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 04 Maret 2022
KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 4. Pembuatan serbuk dan Ekstraksi Tanaman Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*)

a. Pengeringan Daun Kelengkeng

b. Penimbangan Serbuk Daun Kelengkeng

c. Maserasi Daun Kelengkeng

d. Penyaringan Filtrat

e. Hasil Ekstrak Daun Kelengkeng

Lampiran 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*)

a. Hasil Uji Senyawa Alkaloid

b. Hasil Uji Senyawa Flavonoid

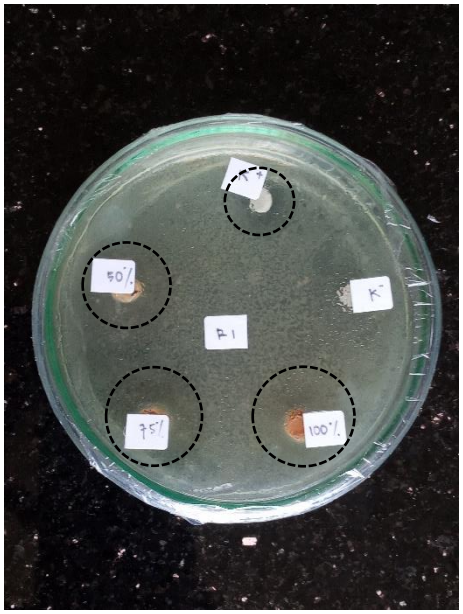
c. Hasil Uji Senyawa Saponin

d. Hasil Uji Senyawa Tanin

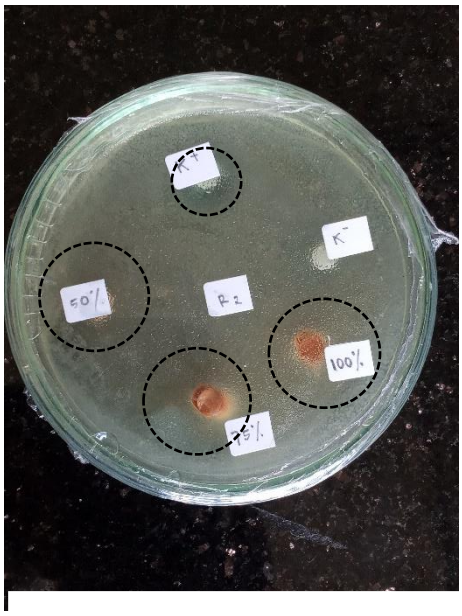
e. Hasil Uji Senyawa Steroid

f. Hasil Uji Senyawa Fenol

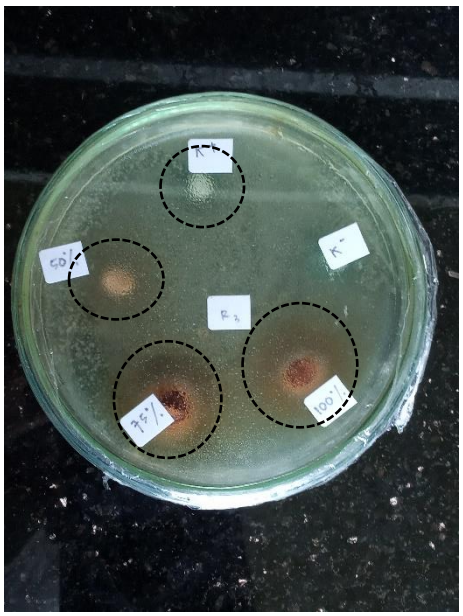
Lampiran 6. Gambar Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Menggunakan Metode *Disk Diffusion.*



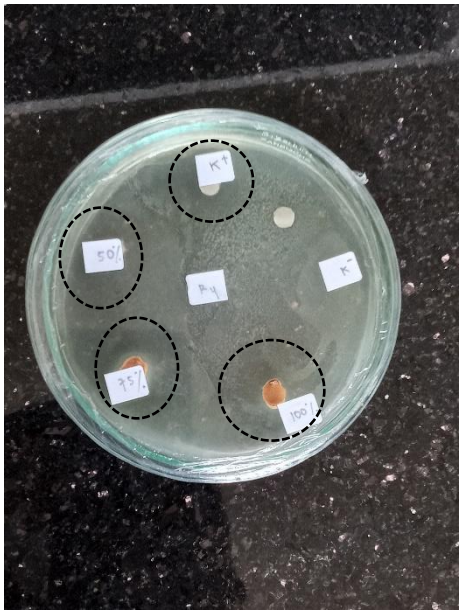
a. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 1 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



b. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 2 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

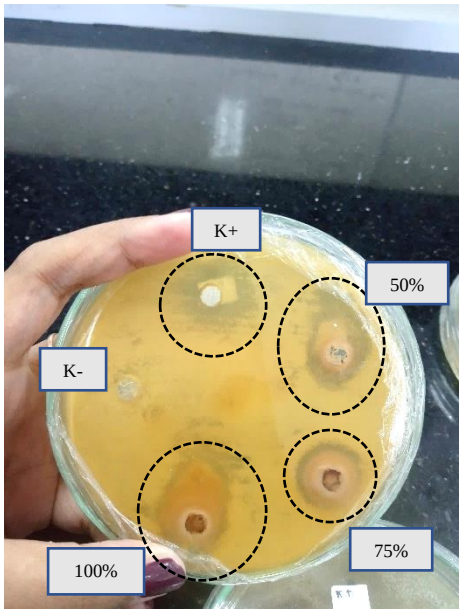


c. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 3 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

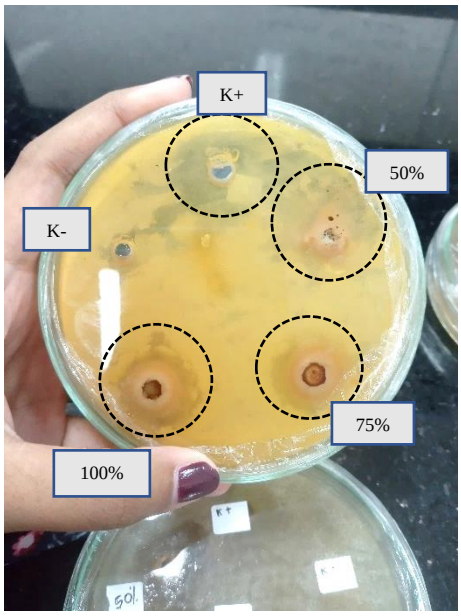


d. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 4 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

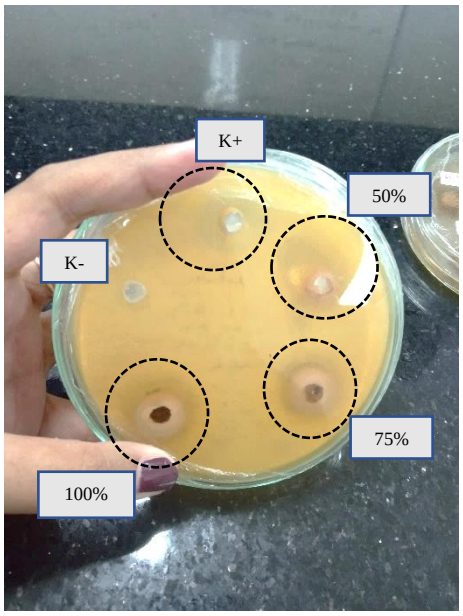
Lampiran 7. Gambar Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Menggunakan Metode *Agar Diffusion***.**



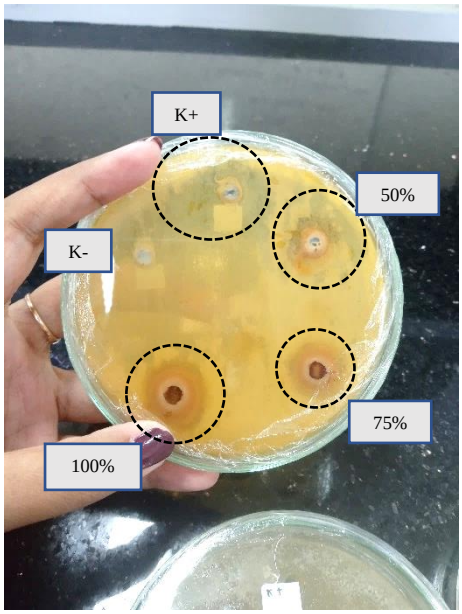
a. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 1 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



b. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 2 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



c. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 3 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



d. Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan L*) Replikasi 4 dengan Konsentrasi 100%, 75%, 50% dam Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Lampiran 8. Perhitungan Larutan Uji

100% → M1 . V1 = M2 . V2

100% = 100% . X

X = 5 mL

Jadi untuk mendapatkan konsentrasi 100% dilakukan dengan cara mengambil 5 g untuk konsentrasi 100% dan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai sebanyak 5 mL

75% → M1 . V1 = M2 . V2

75% = 75% . X

X = 3,75 mL

Jadi untuk mendapatkan konsentrasi 75% dilakukan dengan cara mengambil 3,75 mL lalu dilarutkan dalam pelarut yang sesuai sebanyak 5 mL

50% → M1 . V1 = M2 . V2

50% = 50% . X

X = 3,33 mL

Jadi untuk mendapatkan konsentrasi 50% dilakukan dengan cara mengambil 3,33 mL lalu dilarutkan dalam pelarut yang sesuai sebanyak 5 mL

Lampiran 9. Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*)

Prosedur :

1. Ditimbang media dengan kebutuhan 5 mL tiap tabung reaksi (20 gram dalam 1000 mL)

   Perhitungan :

   $\frac{20}{1000}\ x\ 5\ \text{mL} = 0{,}1\ \text{gram} \rightarrow$ Untuk 1 tabung reaksi

2. Dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 5 mL
3. Dipanaskan sampai mendidih diatas hot plate
4. Dituang pada tabung reaksi
5. Di *autoklaf* selama 15 menit menggunakan suhu 121^0C
6. Media dimiringkan dan ditunggu hingga membeku

Lampiran 10. Pembuatan NaCl

Perhitungan :

$\frac{0,9}{100}$ x 10 mL = 0,09

0,09 gram x 2 = 0,18 gram

Prosedur

1. Ditimbang media dengan kebutuhan 10 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi (8 gram dalam 1000 mL)
2. $\frac{8}{1000}$ x 10 mL = 0,08 gram
3. Dilarytkan menggunakan aquadest sebanyak 10 mL
4. Dipanaskan sampai mendidih diatas hotplate
5. Diautoklaf selama 15 menit menggunakan suhu 121^0 C

Lampiran 11. Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

1. Ditimbang media dengan kebutuhan 15 mL tiap cawan petri (38 gram dalam 1000 mL)

   Perhitungan :

   $\frac{38}{1000}\ x\ 15\ \text{mL} = 0{,}57\ \text{gram}$ ⟶ Untuk 1 cawan petri

   0,57 gram $x\ 8 = 4{,}56$ gram ⟶ Untuk 4 cawan petri

2. Dilarutkan menggunakan aquadest sebanyak 120 mL
3. Dipanaskan sampai mendidih diatas hot plate
4. Di *autoklaf* selama 15 menit menggunakan suhu 121^0C
5. Media dituang pada cawan petri masing-masing15 mL

Lampiran 12. Pembuatan Standar *McFarland* 0,5

Untuk membuat larutan standar *Mcfarland*, larutan asam sulfat (H_2SO_4) 1% dan $BaCl_2$ 1% dicampur dalam tabung reaksi hingga mencapai volume 10 mL. Kemudian tabung ditutup dan dihomogenkan.

Perhitungan :

H_2SO_4 1% = $\frac{1}{100}\ x\ 10\text{mL} = 0{,}1$ ml → Dilarutkan dalam 10 mL aquadest steril

$BaCl_2$ 1% = $\frac{1}{100}\ x\ 10$ mL $= 0{,}1$ g → Dilarutkan dalam 10 mL aquadest steril

Prosedur :

1. Diambil H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL
2. Diambil $BaCl_2$ 1% sebanyak 0,05 mL
3. Campurkan semua bahan dalam tabung reaksi steril
4. Larutan tersebut dihomogenkan

Lampiran 13. Pembuatan Kontrol Positif *Chloramphenicol*

Pembuatan kontrol positif *Chloramphenicol* dengan dosis 30 µg

$\frac{30\mu g}{ml}$ x 10 mL = 300 µg

= 0,0003 g ⟶ Ditimbang Chloramphenicol 0,0003 gram dilarutkan dalam 10 mL aquadest

Lampiran 14. Pembuatan kontrol Negatif DMSO 5%

M1 . V1 = M2 . V2

99,9 . ? = 5% . 30

99,9 = 150

V1 = 150 / 99,9

= 1,5 mL

Lampiran 15. Perhitungan Replikasi

Menghitung pengulangan menggunakan rumus Federer

$(n-1)\ (t-1) \geq 15$

$(n-1)\ (6-1) \geq 15$

$6n - n - 6 + 1 \geq 15$

$5n - 5 \geq 15$

$5n \geq 20$

$n \geq 4$

Lampiran 16. Analisis ragam atau *analysis of variance* (ANOVA)

Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Disk_Diffusion	K+	,329	4	.	,895	4	,406
	100%	,210	4	.	,982	4	,911
	75%	,220	4	.	,980	4	,900
	50%	,215	4	.	,946	4	,689
Agar_Diffusion	K+	,260	4	.	,827	4	,161
	100%	,282	4	.	,938	4	,641
	75%	,329	4	.	,895	4	,406
	50%	,279	4	.	,923	4	,556

a. Lilliefors Significance Correction

b. *Disk_Diffusion* is constant when Konsentrasi = K-. It has been omitted.

c. *Agar_Diffusion* is constant when Konsentrasi = K-. It has been omitted.

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Disk_Diffusion	2,007	4	15	,145
Agar_Diffusion	2,346	4	15	,102

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Disk_Diffusion	Between Groups	12,193	4	3,048	59,189	,000
	Within Groups	,773	15	,052		
	Total	12,966	19			
Agar_Diffusion	Between Groups	17,323	4	4,331	35,990	,000
	Within Groups	1,805	15	,120		
	Total	19,128	19			

Disk_Diffusion

Tukey B

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol -	4	,000		
kontrol +	4		1,625	
50%	4		1,750	1,750
100%	4		2,075	2,075
75%	4			2,125

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Agar_Diffusion

Tukey B

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol -	4	,000			
50%	4		1,475		
75%	4		1,775	1,775	
kontrol +	4			2,400	2,400
100%	4				2,650

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.