

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL & FRAKSI BUAH JAMBU

WER (*Prunus persica* Zieb & Zucc) PADA BAKTERI *Escherichia coli* ATCC

25922

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

Nur Aisyah Widya Ningrum

NIM 145070501111021

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

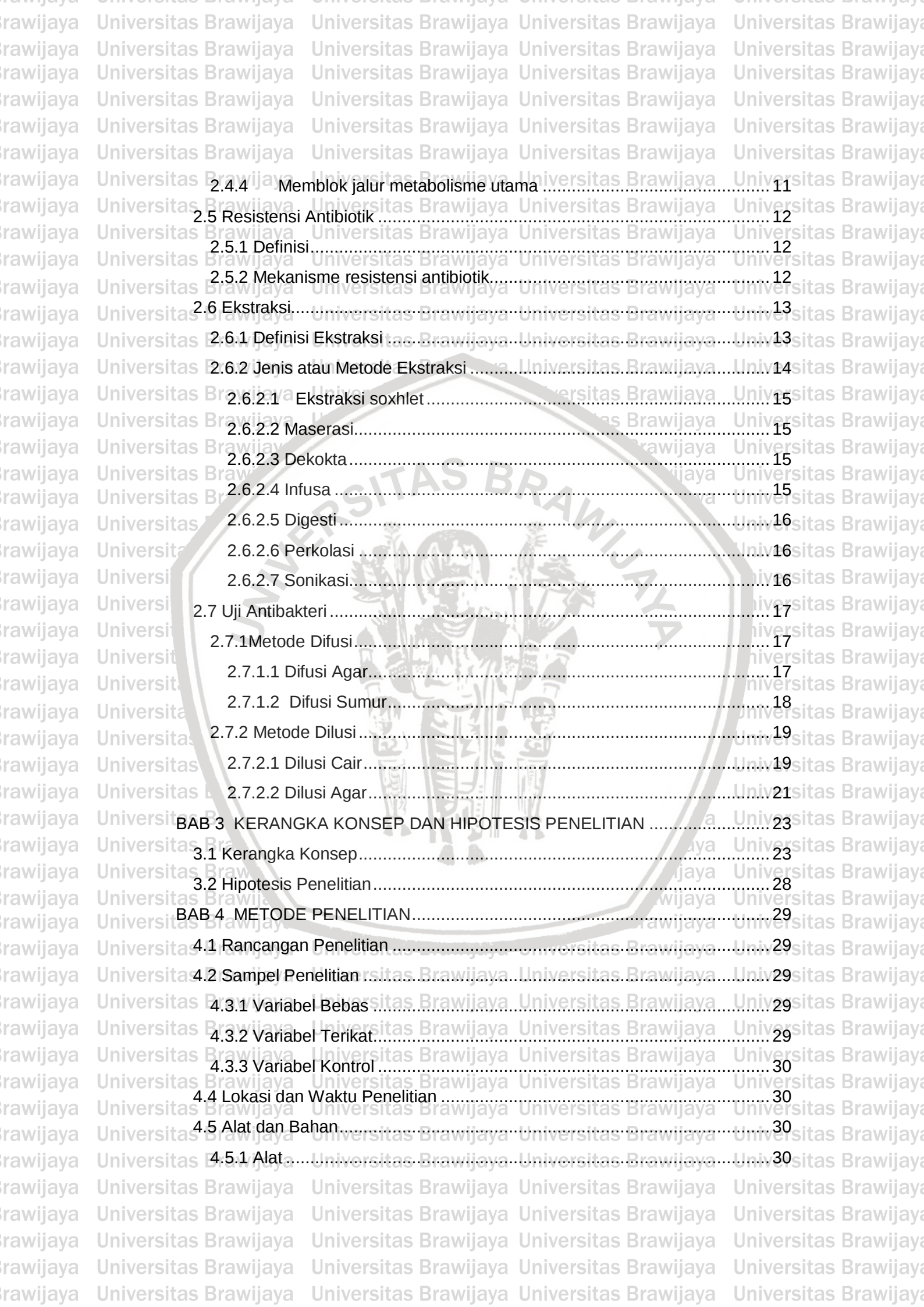
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Cover	1
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat	6
1.4.1 Manfaat akademik	6
1.4.2 Manfaat praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Diare	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Etiologi	7
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	8
2.2.1 Kalsifikasi dan morfologi <i>Escherichia coli</i>	8
2.3 <i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc.	8
2.4 Antibakteri	9
2.4.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel	9
2.4.2 Menghambat sintesis asam nukleat	10
2.4.3 Menghambat sintesis protein	11



2.4.4 Memblok jalur metabolisme utama	11
2.5 Resistensi Antibiotik	12
2.5.1 Definisi	12
2.5.2 Mekanisme resistensi antibiotik	12
2.6 Ekstraksi	13
2.6.1 Definisi Ekstraksi	13
2.6.2 Jenis atau Metode Ekstraksi	14
2.6.2.1 Ekstraksi soxhlet	15
2.6.2.2 Maserasi	15
2.6.2.3 Dekokta	15
2.6.2.4 Infusa	15
2.6.2.5 Digesti	16
2.6.2.6 Perkolasi	16
2.6.2.7 Sonikasi	16
2.7 Uji Antibakteri	17
2.7.1 Metode Difusi	17
2.7.1.1 Difusi Agar	17
2.7.1.2 Difusi Sumur	18
2.7.2 Metode Dilusi	19
2.7.2.1 Dilusi Cair	19
2.7.2.2 Dilusi Agar	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	23
3.1 Kerangka Konsep	23
3.2 Hipotesis Penelitian	28
BAB 4 METODE PENELITIAN	29
4.1 Rancangan Penelitian	29
4.2 Sampel Penelitian	29
4.3.1 Variabel Bebas	29
4.3.2 Variabel Terikat	29
4.3.3 Variabel Kontrol	30
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	30
4.5 Alat dan Bahan	30
4.5.1 Alat	30

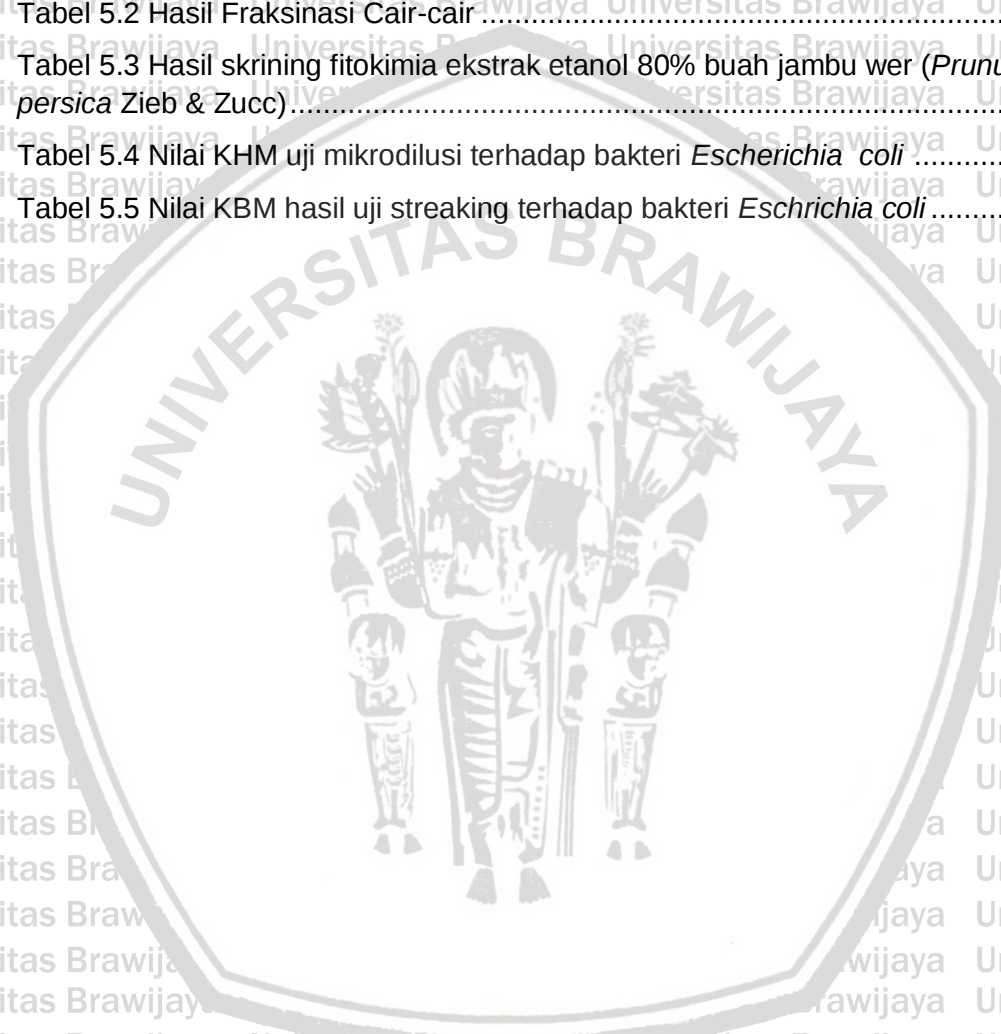
4.5.2 Bahan	31
4.7 Alur Penelitian	33
4.8 Prosedur Penelitian	34
4.8.1 Maserasi Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Sieb.&Zucc)	34
4.8.2 Fraksinasi Ekstrak Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Sieb.&Zucc).....	35
4.8.3 Screening Fitokimia.....	36
4.8.3.1 Golongan Antraquinon.....	36
4.8.3.2 Senyawa Amilum.....	37
4.8.3.3 Golongan Sapogenin Steroid.....	37
4.8.3.4 Golongan Flavonoid	38
4.8.3.5 Golongan Terpenoid.....	40
4.8.3.6 Golongan Tanin dan Polifenol	41
4.8.3.7 Golongan Alkaloid	42
4.8.4 Preparasi Sampel Ekstrak dan Fraksi	44
4.8.5 Uji Antibakteri dengan Mengukur Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum.....	44
4.8.5.1 Preparasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	44
4.8.5.2 Mikrodilusi dan Streaking	45
4.9 Analisis Data	46
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	46
5.1 Hasil Penelitian.....	46
5.1.1 Ekstraksi Buah Jambu Wer.....	46
5.1.2 Fraksinasi Ekstrak Buah Jambu Wer	46
5.1.3 Skiring Fitokimia Ekstrak Jambu Wer.....	47
5.1.3.1 Identifikasi Flavonoid	47
5.1.3.2 Identifikasi Amilum	49
5.1.3.3 Hasil Uji Sapogenin Steroid.....	50
5.1.3.4 Identifikasi Antraquinon	51
5.1.3.5 Identifikasi Terpenoid	51
5.1.3.6 Golongan Alkaloid	52
5.1.3.7 Identifikasi Tanin dan Polifenol.....	53
5.1.4 Uji Antimikroba.....	55
5.1.5 Uji Antibakteri Kadar Bunuh Minimal	55

BAB 6 PEMBAHASAN.....	59
6.1 Ekstraksi Buah dan Fraksinasi <i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc	59
6.2 Skrining Fitokimia	61
6.3 Uji Aktivitas Antibakteri	63
BAB 7 PENUTUP	68
7.1 Kesimpulan	68
7.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN	76



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Mekanisme Kerja Antibiotik.....	Error! Bookmark not defined.	10
Tabel 2.2. Mekanisme Resistensi Antibiotik.....		13
Tabel 2.3. Pelarut dan metabolit sekunder yang tertarik dalam proses ekstraksi		14
Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi buah <i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc		46
Tabel 5.2 Hasil Fraksinasi Cair-cair		47
Tabel 5.3 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 80% buah jambu wer (<i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc).....		54
Tabel 5.4 Nilai KHM uji mikrodilusi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>		55
Tabel 5.5 Nilai KBM hasil uji streaking terhadap bakteri <i>Eschrichia coli</i>		56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Metode difusi disk dengan zona hambat menggunakan sampel ekstrak pada bakteri <i>Candida albicans</i>	18
Gambar 2.2 Metode sumuran dengan menggunakan sampel minyak essensial pada bakteri <i>Aspergillus niger</i>	19
Gambar 2.3 Preparasi inokulum bakteri menggunakan 0.5 McFarland	20
Gambar 4.1 (a) Peta Mikrodilusi Sampel Uji (b) Peta Mikrodilusi Blanko Sampel (c) Peta Mikrodilusi Seftriakson (d) Peta Mikrodilusi Blanko Seftriakson.	44
Gambar 5.1 Profil KLT identifikasi flavonoid	48
Gambar 5.2 Profil KLT identifikasi flavonoid ekstrak buah jambu wer	49
Gambar 5.3 Hasil Uji Amilum dengan Pemberian Reagen IKI	50
Gambar 5.4 Profil KLT identifikasi sapogenin steroid ekstrak buah jambu wer ..	50
Gambar 5.5 Profil KLT identifikasi antraquinon pada ekstrak buah jambu wer ..	51
Gambar 5.6 Profil KLT identifikasi terpenoid pada ekstrak buah jambu wer	52
Gambar 5.7 Profil KLT Identifikasi alkaloid non preparasi ekstral buah jambu wer	53
Gambar 5.8 Profil KLT identifikasi terpenoid pada ekstrak buah jambu wer	53
Gambar 5.9 Identifikasi senyawa tannin	54

DAFTAR SINGKATAN

WHO : *World Health Organization*

KLB : *Kejadian Luar Biasa*

KHM : *Kadar Hambat Minimum*

KBM : *Kadar Bunuh Minimum*

MIC : *Minimum Inhibitory Concentration*

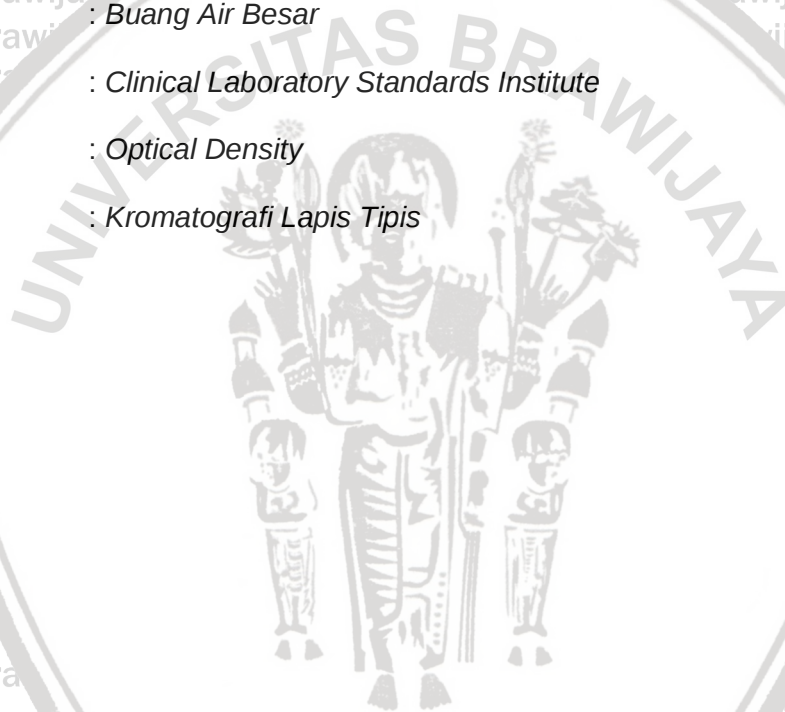
MBC : *Minimum Bacterisidal Concentration*

BAB : *Buang Air Besar*

CLSI : *Clinical Laboratory Standards Institute*

OD : *Optical Density*

KLT : *Kromatografi Lapis Tipis*



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan proses ekstraksi	76
L 1.1 Perhitungan Jumlah Pelarut Yang Dibutuhkan Untuk Proses Maserasi	76
L 1.2 Pembuatan pelarut etanol 80%	76
L 1.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak	76
Lampiran 2 Perhitungan proses fraksinasi	77
L 2.1 Perhitungan Rendemen Fraksi Kloroform	77
L 2.2 Perhitungan Rendemen Fraksi Etil Asetat	77
L 2.3 Perhitungan Rendemen Fraksi n-butanol	77
L 2.4 Perhitungan Rendemen Fraksi Air	77
Lampiran 3 Skrining Fitokimia	78
Lampiran 4 : Uji Aktivitas Antibakteri pada Bakteri <i>Escherichia coli</i>	79
L 4.1 Sertifikat Bakteri <i>Escherichia coli</i>	79
L 4.2 Perhitungan Pengenceran Bakteri	80
L 4.3 Perhitungan Konsentrasi Mikrodilusi	82
L 4.4 Uji Mikrodilusi	83
Lampiran 5 : Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode streaking	92

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL & FRAKSI BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* Zieb & Zucc) PADA BAKTERI *Escherichia coli* ATCC

25922

Oleh:

Nur Aisyah Widya Ningrum
145070501111021

Telah diuji pada

Hari, Senin

Tanggal : 16 Juli 2018

dan dinyatakan lulus oleh :



Ika Putri Nurhayati, M. Sc., Apt
NIP. 201304890815001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/Penguji-III,

Alvan Febrian Shalas, M.Farm, Apt
NIP. 2011068502181001

Uswatun Khasanah, S.Farm., M.Farm, Apt
NIP. 2012058709291001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,



Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si
NIP. 195408231981032001

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol & Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) Pada Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Alvan Febrian Shalas, Uswatun Khasanah, Rudy Salam, Nur Aisyah Widya Ningrum. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Telp (0341)569117, Surel: nur.aisyahwn@gmail.com

ABSTRAK

Peningkatan penggunaan antibiotik misalnya pada kasus diare infeksius menyebabkan terjadinya resistensi terhadap beberapa antibiotik. Hal tersebut mendorong peneliti untuk menemukan senyawa obat baru yang memiliki aktivitas antibakteri, salah satunya melalui bahan alam. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder, profil aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah jambu wer terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan membandingkannya dengan antibiotik ceftriaxone. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi yang dilanjutkan dengan fraksinasi. Uji antibakteri dengan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM). Buah *Prunus persica* Zieb & Zucc mengandung tannin, flavonoid, terpenoid, dan amilum. Hasil yang diperoleh nilai KHM dari setiap sampel yaitu ekstrak etanol 80% sebesar 50000 ppm, fraksi kloroform sebesar 6250 ppm, fraksi etil asetat sebesar 12500 ppm, fraksi n-butanol sebesar 25000 ppm, fraksi air sebesar 50000 ppm dan seftriakson sebesar 50000 ppm. Nilai KBM yang diperoleh untuk setiap sampel yaitu fraksi kloroform 25000 ppm, fraksi etil asetat 12500 ppm, fraksi n-butanol 50000 ppm. Nilai KBM ekstrak etanol 80%, fraksi air dan seftriakson tidak teramati pada konsentrasi 50000 ppm. berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan n-butanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari seftriakson.

Kata Kunci : *Escherichia coli*, *Prunus persica* Zieb & Zucc, Mikrodilusi, Antibakteri, Seftriakson.

Antimicrobial Testing Ethanolic Extract & Fractions Of Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) against *Escherichia coli* ATCC 25922

Alvan Febrian Shalas , Uswatun Khasanah, Rudy Salam, Nur Aisyah Widya

Ningrum. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya Malang. Telp (0341)569117, Surel: nur.aisyahwn@gmail.com

ABSTRACT

Increased of using antibiotics for example in cases of infectious diarrhea can causes resistance to some antibiotics. This encourages researchers to find new drug compounds that have antibacterial activity, natural materials can be the one of sources to find out the new drug. This study aims to find out the secondary metabolit compounds, antibacterial activity profile to against *Escherichia coli* bacteria and to compare the ethanolic extract and fractions of *Prunus persica* fruit with ceftriaxone. The extraction was used maceration method and was followed by fractionation. Antibacterial testing was used microdilution method to determine Minimum Inhibitory value (KHM) and Minimum Kill Content (KBM). *Prunus persica* Zieb & Zucc fruit contains tannins, flavonoids, terpenoids, and starch. The results obtained that MIC value from each sample were 80% ethanolic extract at 50000 ppm, chloroform fraction at 6250 ppm, ethyl acetate fraction at 12500 ppm, n-butanol fraction at 25000 ppm, water fraction at 50000 ppm and ceftriaxon at 50000 ppm. The MBC values obtained for each sample were chloroform fraction at 25000 ppm, ethyl acetate fraction at 12500 ppm, and n-butanol fraction at 50000 ppm. The MBC value of ethanolic extract 80%, water fraction and ceftriaxone not observed at 50000 ppm. based on these data, it can be concluded that the fraction of ethyl acetate, kloroform, and n-butanol have better antibacterial activity than ceftriaxone.

Keywords : *Escherichia coli*, *Prunus persica* Zieb & Zucc, Microdilution, Antibacterial, Ceftriaxone.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut WHO (2017) diare merupakan penyebab utama kematian serta penyebab utama malnutrisi pada anak usia dibawah 5 tahun (balita). Setiap tahun diare menyebabkan kematian sekitar 525.000 balita. Secara global hampir 1,7 miliar kasus diare terjadi setiap tahun. Berdasarkan hasil riset kesehatan dasar (Kemenkes, 2007) yang dilakukan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, diare masih menjadi penyebab utama kematian pada bayi umur 0 – 12 bulan dengan prevalensi sebesar 31,4%. Pada balita umur 1 – 4 tahun dengan prevalensi sebesar 25.2%. Tahun 2013 terjadi 8 KLB yang tersebar di 6 provinsi dengan jumlah penderita 646 orang. Hingga pada tahun 2014 penderita diare di Indonesia mengalami peningkatan mencapai jumlah 8.713.537 penderita. (Kemenkes 2014).

Diare merupakan suatu kondisi meningkatnya frekuensi buang air besar (BAB) dan menurunnya tingkat konsistensi tinja. Berdasarkan penyebabnya diare dapat dibedakan menjadi diare non infeksius dan diare infeksius. Diare non-infektus merupakan diare yang dapat disebabkan oleh adanya perubahan motilitas usus, peningkatan osmolalitas luminal serta peningkatan tekanan hidrostatik jaringan. Diare infeksius dapat disebabkan oleh infeksi akibat virus, parasit dan bakteri. Bakteri merupakan mikroba yang paling sering menyebabkan diare infeksi. *Escherichia coli*, *Shigella*,

Salmonella, *Campylobacter*, dan *Staphylococcus* merupakan bakteri yang paling umum menyebabkan diare (Dipiro *et al*, 2009).

Terapi penderita diare sebagian besar adalah dengan rehidrasi atau pemberian oralit untuk mengganti cairan tubuh yang hilang akibat adanya dehidrasi. Selain itu upaya pengobatan diare dibedakan pula menjadi dua yaitu terapi untuk diare non infeksius dan terapi untuk diare infeksius. Pengobatan diare non-infeksius dapat dilakukan dengan memberikan adsorben, agen antisekretori, pemberian probiotik serta obat golongan opiat dan derivatnya. Upaya terapi diare infeksius dapat menggunakan antibiotik. Pemberian antibiotik pada pasien diare infeksi dapat memperpendek durasi diare serta mengurangi morbiditas pada bakteri *Escherichia coli*. Norfloksasin 400 mg atau ciprofloksasin 500 mg dapat diberikan sebagai lini pertama pengobatan diare infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* serta pemberian kotrimoksazol sebagai terapi lini kedua (Dipiro *et al*, 2009).

Kasus resistensi antibiotik dapat berkaitan pada diare infeksius karena adanya pemberian antibiotik dalam penanganannya. Selain itu kemampuan antibiotik dalam mengatasi maupun mencegah penyakit infeksi menyebabkan penggunaannya mengalami peningkatan yang luar biasa sehingga menyebabkan bakteri resisten terhadap beberapa antibiotik tertentu (Dipiro *et al*, 2009).

Pemberian antibiotik seharusnya melalui pendekatan selektif untuk mengidentifikasi pasien yang cenderung memiliki kultur positif (Guerrant *et al*, 2001).

Maraknya kasus resistensi dapat dilihat dari beberapa penelitian mengenai uji kepekaan bakteri *Escherichia coli* terhadap beberapa antibiotik tertentu.

Penelitian yang dilakukan oleh Noorhamdani (2012) terhadap 162 bakteri uji *Escherichia coli* menunjukkan bahwa sebanyak 93.8% resisten terhadap antibiotik amoksisilin, sebanyak 116 bakteri uji *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik sefazolin sebanyak 95.7% serta tingkat resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik asam nalidiksik dan sefotaksim berturut-turut yaitu 83.2% dan 79.1% dari total bakteri uji sebanyak 131 dan 162. Kejadian resistensi ini menjadi permasalahan yang serius karena dapat mengakibatkan meningkatnya penularan, mortalitas, serta meningkatnya biaya perawatan kesehatan (Nouwen, 2006).

Dalam menanggulangi banyaknya kejadian infeksi dan kejadian resistensi antimikroba maka perlu dilakukan penemuan senyawa obat baru yang berasal dari bahan alam, senyawa sintetis, ataupun semi sintetis yang mempunyai efek antibakteri dengan daya kerja maksimal serta efek samping yang minimal. Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati yang sangat besar, dari keanekaragaman tersebut dapat dimanfaatkan beberapa tanaman sebagai bahan obat (Thamrin *et al.*, 2006). Penggunaan tanaman sebagai obat telah ada sejak zaman dahulu, penggunaan tersebut kemudian diturunkan ke generasi berikutnya dan berlanjut hingga jangka waktu yang lama hingga akhirnya tradisi tersebut menjadi suatu pedoman untuk memenuhi kebutuhan manusia akan pengobatan.

Penemuan senyawa obat baru yang berasal dari bahan alam telah dilakukan sejak beberapa tahun terakhir. Penelitian yang dilakukan oleh Bhalodia *et al* (2011) menggunakan sampel ekstrak daun *Casia fistula* dengan konsentrasi 250 µg/ml pada bakteri *Escherichia coli* dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat sebesar 20 mm. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan sampel fraksi kloroform ekstrak daun *Moringa oleifera* konsentrasi 10 g/ml dapat menghambat

pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat 8.8 mm serta lebih efektif jika dibandingkan dengan kontrol positif ampisilin dengan diameter zona hambat 6.2 mm (Devendra *et al*, 2011). Serta penelitian yang dilakukan oleh Maher *et al* (2012) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan beberapa sampel ekstrak tanaman menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* tidak dapat tumbuh dengan sampel ekstrak etanol dan metanol *Achiellea membranacea* konsentrasi 500 mg/ml dengan diameter zona hambat 17.3 mm dan 16.3 mm. Sampel fraksi aseton dan air ekstrak *Arum discordis* konsentrasi 500 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 15.7 mm dan 34.7 mm. Serta sampel fraksi etanol dan metanol ekstrak *Ruta chalepensis* konsentrasi 500 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 17 mm dan 23 mm.

Tanaman *Prunus persica* Zieb & Zucc merupakan tanaman yang secara turun-temurun digunakan untuk terapi diare oleh masyarakat Suku Tengger di wilayah Taman Nasional Bromo Tengger Semeru Jawa Timur (Batoro., 2012). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Aljamaali (2013) biji *Prunus persica* memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap buah *Prunus persica* Zieb & Zucc untuk mengetahui profil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan melakukan ekstraksi dan fraksinasi serta melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah *Prunus persica* Zieb & Zucc.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc ?
2. Berapakah nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) terhadap bakteri *Escherichia coli*?
3. Bagaimanakah perbandingan nilai KHM dan KBM ekstrak etanol 80% dan fraksi buah *Prunus persica* Zieb & Zucc dengan seftriakson terhadap bakteri *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

1. Mengetahui profil aktivitas antibakteri dari ekstrak 80% dan fraksi-fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.) pada bakteri *Escherichia coli*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol 80% buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.).
2. Mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal pada ekstrak 80% dan fraksi-fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.) pada bakteri *Escherichia coli* melalui metode mikrodilusi dan streaking.
3. Mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 80%, fraksi

buah *Prunus persica* Zieb & Zucc dan seftriakson terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat akademik

1. Memberikan bukti ilmiah terhadap penggunaan Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.) untuk diare secara empiris di suku Tengger
2. Pengembangan ilmu fitokimia dan mikrobiologi
3. Dasar pengembangan ide penelitian selanjutnya mengenai manfaat buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.) sebagai obat diare infeksi

1.4.2 Manfaat praktis

1. Pengembangan penelitian antibakteri baru yang berasal dari jambu wer yang memiliki efek antibakteri pada *Escherichia coli*
2. Dapat menjadi suatu strategi terapi untuk mengatasi diare dengan menggunakan ekstrak atau fraksi buah Jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diare

2.1.1 Definisi

Diare didefinisikan sebagai peningkatan frekuensi buang air besar (BAB) serta menurunnya konsistensi tinja pada individu dengan keadaan usus yang normal. Diare dapat dibagi menjadi dua, yaitu: diare non infeksius dan diare infeksius. Diare non infeksius dapat disebabkan oleh adanya gangguan motilitas usus serta adanya gangguan tekanan hidrostatik. Diare infeksius merupakan diare yang disebabkan oleh adanya infeksi virus, parasit dan bakteri (Dipiro *et al*, 2009).

2.1.2 Etiologi

Penyebab utama diare infeksi disebabkan bakteri, virus atau parasit yang ditransmisikan melalui jalur atau mekanisme yang berbeda. Diare infeksi karena bakteri salah satunya dapat disebabkan adanya kontaminasi makanan oleh bakteri *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* dan *Escherichia coli*, dan bakteri yang ditransmisikan melalui kontaminasi air sehingga mengandung kista dari *Giardia intestinal* dan *Cryptosporidium parvum* (Mathabe, *et al*. 2005).

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

2.2.1 Kalsifikasi dan morfologi *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut Songer and Post (2005)

yaitu :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

2.3 *Prunus persica* Zieb & Zucc.

Tanaman *Prunus persica* Zieb & Zucc umumnya terdapat di Asia Barat, India, Himalaya, dan Eropa dengan ketinggian 1000 kaki. Di Indonesia dapat tumbuh sekitar 5 m hingga 10 m di daerah yang hangat dan beriklim sedang.

tanaman *Prunus persica* Zieb & Zucc memiliki daun yang mengkilap. Dalam keluarga Rosaceae terdapat sekitar 100 marga dan 3.000 spesies. Tumbuhan ini dikenal oleh masyarakat suku tengger dengan sebutan Jambu Wer. Jambu Wer telah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat suku tengger sebagai pengobatan diare (Hidayat et al, 2011).

Menurut C.A Backer dan R.C. Bakhuizen van de Brink Jr. (1963) dalam bukunya *Flora of Java* menyebutkan klasifikasi tanaman Jambu Wer yaitu :

Divisio : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Subclass : Rosidae

Ordo : Rosales

Family : Rosaceae

Genus : Prunus

Species : *Prunus persica* Zieb & Zucc.

Daun jambu wer memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, dan phlobatanin berdasarkan hasil penelitian Edrah *et al* (2013).

Serta ekstrak dari kulit batang *Prunus persica* diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Raturi *et al*, 2011).

2.4 Antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat digolongkan menjadi:

2.4.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Sebagian besar sel bakteri dilindungi oleh lapisan membran keras yang tersusun atas peptidoglikan, peptidoglikan terdiri dari polimer gula yang panjang.

Lapisan tersebut dapat menahan tekanan osmotik pada lingkungan bakteri tumbuh. Untuk tetap hidup, sel bakteri harus mensintesis peptidoglikan yang diperantarai oleh PBP yang bersifat transpeptidase dan transglikosilase. Kedua enzim tersebut berperan penting menambahkan disakarida pentapeptida untuk memperpanjang untai glikan dari molekul peptidoglikan yang ada dan juga untai cross-link dari untai peptidoglikan yang immatur. Golongan beta laktam seperti penisilin, karbapenem dan sefalosporin mampu menghalangi cross-link unit peptidoglikan dengan cara menghambat pembentukan ikatan peptida yang dikatalis oleh PBP (Kapoor *et al*, 2017). Sebagian besar antibiotik termasuk golongan glikopeptida seperti vankomisin mampu menghambat sintesis peptidoglikan dengan cara berikatan dengan peptidoglikan unit serta menghalangi transglycosylase dan transpeptidase (Kahne *et al*, 2005).

Tabel 2.1. Mekanisme Kerja Antibiotik

Menghambat sintesis dinding sel Menghambat enzim biosintetik (fosfomisin; sikloserin) Berikatan dengan molekul pembawa (basitrasin) Berikatan dengan substrat dinding sel (vankomisin) Menghambat polimerisasi dan pelekatan peptidoglikan pada dinding sel (penisilin; sefalosporin; karbapenem; monobaktam)	Menghambat fungsi ribosom Menghambat unit 30S (aminoglikosida; tetrasiklin) Menghambat unit 50S (kloramfenikol; makrolid; asam fusidat)
Menghambat sintesis asam nukleat Menghambat replikasi DNA (kuinolon; nitromidazole) Menghambat RNA polymerase (rifampisin)	Menghambat metabolisme obat Menghambat asam pterolat sintetase (sulfonamide) Menghambat dihidrofolat reduktase (trimethoprim)

2.4.2 Menghambat sintesis asam nukleat

Antibiotik golongan quinolon mempunyai mekanisme kerja mengganggu kerja enzim helikase sehingga untai DNA tidak dapat bereplikasi. Golongan quinolon ini bersifat spesifik terhadap bakteri sehingga toksisitasnya rendah dan dapat digunakan sebagai terapi infeksi diare akut akibat bakteri *Escherichia coli* (Kapoor *et al*, 2017; Zein, *et al.*, 2004). Selain menargetkan enzim helikase, antibiotik juga dapat mengganggu aktivitas enzim topoisomerasi I dan topoisomerase II pada bakteri sehingga dapat mencegah sintesis RNA.

2.4.3 Menghambat sintesis protein

DNA bakteri mempunyai informasi yang diperlukan untuk proses transkripsi yaitu mensintesis RNA menjadi m-RNA (messenger RNA). Kemudian, proses translasi akan terjadi di ribosom. Ribosom akan mensintesis protein yang ada dalam m-RNA. Biosintesis protein dikatalis oleh ribosom dan faktor sitoplasma. Ribosom bakteri 70S terdiri dari dua subunit ribonukleoprotein, subunit 30 S dan 50 S. Antimikroba umumnya menghambat sintesis protein bakteri dengan menargetkan subunit 30S dan 50 S dari ribosom bakteri (Kapoor *et al*, 2017). Secara umum, antibiotik yang menghambat ribosom 50S menghalangi fase inisiasi dari translasi protein atau fase pemanjangan sintesis protein dimana asam amino yang masuk dihubungkan dengan rantai peptida yang baru terbentuk. Selain itu, juga terdapat beberapa antibiotik yang bekerja dengan menghambat ribosom 30S sehingga menghalangi aminoasil-tRNA ke RNA (Patel *et al*, 2001).

2.4.4 Memblok jalur metabolisme utama

Sulfonamide dan trimethoprim dapat meniru substrat yang dibutuhkan untuk metabolisme sel bakteri sehingga menyebabkan enzim bakteri menempel pada substrat tiruan dan tidak pada substrat normalnya. Sulfonamid dapat membentuk tetrahidrofolat yang berfungsi untuk pembentukan asam folat untuk bakteri. Asam folat merupakan bahan yang penting untuk pembuatan DNA bakteri (Talaro & Chess, 2008). Kombinasi antara sulfonamide-trimethoprim digunakan sebagai terapi infeksi diare akut yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Zain et al, 2004).

2.5 Resistensi Antibiotik

2.5.1 Definisi

Resistensi antibiotik merupakan tidak adekuatnya penggunaan antibiotik yang sebelumnya sensitif. Resistensi ini dapat terjadi pada mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan beberapa parasit lainnya sehingga dapat bertahan dari paparan antimikroba sehingga terapi standar yang diberikan menjadi tidak adekuat. Resistensi antibiotik merupakan akibat dari penggunaan antibiotik yang tidak tepat, adanya mutasi pada bakteri serta perkembangan dari mikroorganisme itu sendiri (WHO, 2012).

2.5.2 Mekanisme resistensi antibiotik

Resistensi antibiotik dapat melalui beberapa mekanisme yaitu 1) Mutasi pada gen dapat mengakibatkan berubahnya struktur sel salah satunya yaitu ribosom yang merupakan target kerja antibiotik. Selain itu juga dapat merubah

permeabilitas dinding sel bakteri, dan terjadi perubahan reseptor permukaan sel;
 2) melalui perantara plasmid, plasmid biasanya berisi gen yang mengkode resisten terhadap suatu antibiotik. Gen yang berada dalam plasmid lebih mudah bergerak dari pada gen yang berada dalam kromosom. pada mekanisme ini dapat terjadi perubahan dalam sintesis protein yang berfungsi secara enzimatik sehingga antibiotik menjadi tidak bakterisid-bakteriostatik. Beberapa antimikroba dan mekanisme resistensi dapat dilihat pada Tabel 2.2. (Neu dan Gootz, 2001).

Tabel 2.2. Mekanisme Resistensi Antibiotik (Neu dan Gootz, 2001).

Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Antimikroba	
Obat/Golongan Obat	Mekanisme Resistensi
Penisilin dan sefalosporin	Inaktivasi enzimatik oleh enzim beta lactamase; modifikasi enzim oleh enzim acylase dan esterase; delesi membran protein luar; alterasi penicillin binding protein
Monobaktam	Inaktivasi enzimatik oleh enzim beta laktamase
Karbapenem	Inaktivasi enzimatik oleh enzim beta lactamase;; delesi membran protein luar
Vankomisin	Menghambat akses glikopeptida
Trimethoprim	Meningkatkan produksi dihidrofolat reduktase
Sulfonamide	Meningkatkan produksi <i>p</i> -asam aminobenzoat; meningkatkan produksi pleridine.
aminoglikosida	Modifikasi enzimatik dengan asetilasi, fosforilasi, dan nukleotidasi; alterasi ribosom; mengurangi uptake obat
Makrolida	Modifikasi enzimatik oleh esterase; alterasi ribosom 23S RNA
Linkosamid	Modifikasi enzimatik oleh nukleotidilasi atau fosforilasi; alterasi ribosom 23S RNA
Tetrasiklin	Mengaktifkan efflux obat dengan modifikasi secara kimiawi
Quinolone	Alterasi subunit A DNA girase; menurunkan permeabilitas obat

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Definisi Ekstraksi

Senyawa yang berasal dari tanaman sangat populer pada periode belakangan ini karena aplikasinya yang luas. Ekstraksi adalah pemisahan senyawa dari tanaman dan hewan secara medis dengan menggunakan pelarut yang selektif melalui prosedur standar. Produk yang diperoleh dari proses ekstraksi merupakan campuran metabolit yang relatif kompleks, dalam wujud cair atau semi padat atau dalam bentuk bubuk kering, dan dimaksudkan untuk penggunaan oral atau eksternal (Abate & Abel, 2006).

Metode ekstraksi yang digunakan meliputi proses pemisahan senyawa metabolit aktif dari jaringan tanaman dan komponen inakti/inert dengan menggunakan pelarut selektif. Selama proses ekstraksi, pelarut berdifusi ke dalam bahan dan melarutkan senyawa dengan sifat polaritasnya. Pelarut dan metabolit sekunder yang tertarik dalam proses ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.3. (Ncube *et al*, 2008).

Tabel 2.3. Pelarut dan metabolit sekunder yang tertarik dalam proses ekstraksi (Ncube *et al*, 2008)

Air	Etanol	Metanol	Kloroform	Eter	Aseton
Antosianin	Tanin	Antosianin	Terpenoid	Alkaloid	Fenol
Amilum	Polifenol	Terpenoid	Flavonoid	Terpenoid	Flavonoid
Tanin	Poliasetilen	Saponin		Kumarin	
Saponin	Flavonol	Tanin		Asam lemak	
Terpenoid	Terpenoid	Xanthoxyl ne			
Polipeptida	Sterol	Tatarol			
Lektin	Alkaloid	Quassinoid			
		Flavon			
		Fenon			
		Polifenol			

Tujuan prosedur ekstraksi standar adalah untuk mendapatkan senyawa yang memiliki efek terapi dari tanaman serta menghilangkan bahan yang inert

dengan pelarut selektif. Ekstrak yang diperoleh kemudian distandarisasi sehingga dapat digunakan sebagai obat. Hasil ekstraksi tersebut dapat berbentuk tincture atau ekstrak cair atau diproses lebih lanjut dalam bentuk sediaan seperti tablet dan kapsul. Ekstrak mengandung campuran kompleks metabolit tanaman seperti alkaloid, glikosida, terpenoid, flavonoid dan lignan (Handa *et al*, 2008).

2.6.2 Jenis atau Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi yang akan digunakan biasanya bergantung pada lama proses ekstraksi, pelarut yang digunakan, pH pelarut, suhu, ukuran partikel tanaman dan rasio pelarut : sampel yang digunakan. Prinsip dasarnya adalah melakukan pengecilan ukuran sampel sehingga kontak pelarut dan sampel bertambah luas sehingga waktu yang diperlukan untuk ekstraksi lebih cepat (Das *et al*, 2010).

1.6.2.1 Ekstraksi soxhlet

Dalam metode ini, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan alat soxhlet. Keuntungan dari metode ini, dibandingkan dengan metode lainnya adalah pelarut yang digunakan lebih sedikit untuk jumlah simplisia yang banyak sehingga dapat lebih efisien secara ekonomi, waktu, energi serta dapat digunakan dalam skala besar dan kontinyu (Handa *et al*, 2008).

2.6.2.2 Maserasi

Dalam metode ini, simplisia utuh atau serbuk kasar ditempatkan dalam wadah tertutup dengan pelarut dan dibiarkan pada suhu ruangan untuk jangka

waktu minimal 3 hari dengan agitasi yang sering sampai zat terlarut telah larut.

Campuran disaring melalui filtrasi (Handa *et al*, 2008).

2.6.2.3 Dekokta

Dalam metode ini, simplisia direbus dalam volume air tertentu selama waktu yang ditentukan; kemudian didinginkan dan disaring. Dekokta cocok untuk mengekstraksi konstituen yang dapat larut dalam air dan stabil dalam panas.

Proses ini biasanya digunakan untuk persiapan ekstrak Ayurvedic yang disebut "Quath" atau "kawath". Rasio awal simplisia terhadap air tetap, misalnya 1: 4 atau 1:16; volume kemudian diturunkan ke seperempat volume aslinya dengan merebus selama prosedur ekstraksi. Kemudian, ekstrak yang terkonsentrasi disaring (Handa *et al*, 2008).

2.6.2.4 Infusa

Infusa dibuat dengan cara maserasi simplisia dalam waktu yang singkat dengan air dingin atau air mendidih. Hasilnya dapat berupa larutan encer dari konstituen yang mudah larut dari simplisia (Handa *et al*, 2008)

2.6.2.5 Digesti

Digesti merupakan salah satu bentuk maserasi di mana dalam prosesnya menggunakan pemanasan. Metode digesti dapat digunakan apabila simplisia atau tanaman yang akan diekstraksi tidak tahan terhadap suhu tinggi (Handa *et al*, 2008).

2.6.2.6 Perkolasi

Merupakan prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam pembuatan tingtur dan ekstrak cair. Metode ini umumnya menggunakan alat yang disebut perkolator, simplisia padat dibasahi dengan sejumlah pelarut dan didiamkan selama 4 jam dalam wadah yang tertutup rapat, setelah itu bahan campuran dikemas dan bagian atas perkolator ditutup. Sisa pelarut kemudian ditambahkan agar dapat membentuk lapisan diatas bahan. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 24 jam dalam perkolator yang tertutup. Saluran keluar dari perkolator kemudian dibuka dan cairan berada di dalamnya dibiarkan menetes perlahan (Handa *et al*, 2008).

2.6.2.7 Sonikasi

Prosedur ini menggunakan ultrasound dengan frekuensi mulai dari 20 kHz sampai 2000 kHz. Hal tersebut dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menghasilkan kavitasi. Meskipun proses ini diperlukan dalam beberapa kasus seperti ekstraksi akar rauwolfi, penggunaan dalam skala besar terbatas karena biaya produksi yang tinggi. Salah satu kelemahan dari prosedur ini adalah efek energi ultrasound yang diketahui (lebih dari 20 kHz) dapat membentuk senyawa radikal bebas terhadap metabolit tanaman hingga mengakibatkan perubahan struktur molekul obat (Handa *et al*, 2008).

2.7 Uji Antibakteri

Tanaman dan sumber alami lainnya mempunyai sejumlah besar senyawa kompleks dan senyawa yang mempunyai struktur beragam. Dalam beberapa

periode, banyak peneliti yang berfokus pada studi ekstrak tumbuhan dan mikroba, minyak esensial, metabolit sekunder murni dan molekul sintetis baru sebagai agen antimikroba yang potensial (Nazzaro *et al*, 2013).

2.7.1 Metode Difusi

2.7.1.1 Difusi Agar

Uji coba difusi disk merupakan metode resmi yang digunakan di banyak laboratorium mikrobiologi klinis untuk uji sensitifitas antimikroba. Saat ini, banyak prosedur standar yang telah diterima dan disetujui oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) untuk pengujian bakteri dan jamur (CLSI, 2015 & CLSI, 2004). Meskipun tidak semua bakteri yang teliti dapat diuji secara akurat dengan metode ini, standarisasi telah dilakukan untuk menguji bakteri patogen seperti streptokokus, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitidis* dengan menggunakan media kultur tertentu, berbagai kondisi inkubasi dan kriteria interpretasi guna menentukan zona hambat (CLSI, 2015).

Pada metode ini plate agar diinokulasi dengan inokulum standar mikroorganisme uji. Kemudian, kertas saring cakram diukur sekitar 6mm yang mengandung senyawa uji pada konsentrasi tertentu yang diinginkan, lalu ditempatkan pada permukaan agar. Cawan Petri diinkubasi dalam kondisi yang sesuai. Biasanya agen antimikroba atau sampel ekstrak berdifusi ke dalam agar dan menghambat perkembangan dan pertumbuhan mikroorganisme uji sehingga diameter zona hambat dapat diukur pada plate.

Metode difusi ini hanya menghambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak dapat ditentukan apakah suatu sampel mempunyai sifat bakteristatik atau bakterisidal. Selain itu, metode difusi agar tidak sesuai untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) (Nijs *et al*, 2003).



Gambar 2.1 Metode difusi disk dengan zona hambat menggunakan sampel ekstrak pada bakteri *Candida albicans* (Balouiri *et al*, 2016)

2.7.1.2 Difusi Sumur

Prosedur difusi sumur hampir sama dengan metode difusi agar, permukaan plate agar diinokulasi dengan menumbuhkan inokulum mikroba di atas permukaan agar. Kemudian, dibuat lubang dengan diameter 6 sampai 8 mm dan dimasukkan sekitar 20-100 μL agen antimikroba atau larutan ekstrak dengan konsentrasi yang diinginkan ke dalam sumur. Kemudian, plate agar diinkubasi pada kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganisme yang diujikan. Agen antimikroba berdifusi dalam media agar dan menghambat pertumbuhan strain mikroba yang diuji.



Gambar 2.2 Metode sumuran dengan menggunakan sampel minyak essensial pada bakteri *Aspergillus niger* (Balouiri et al, 2016)

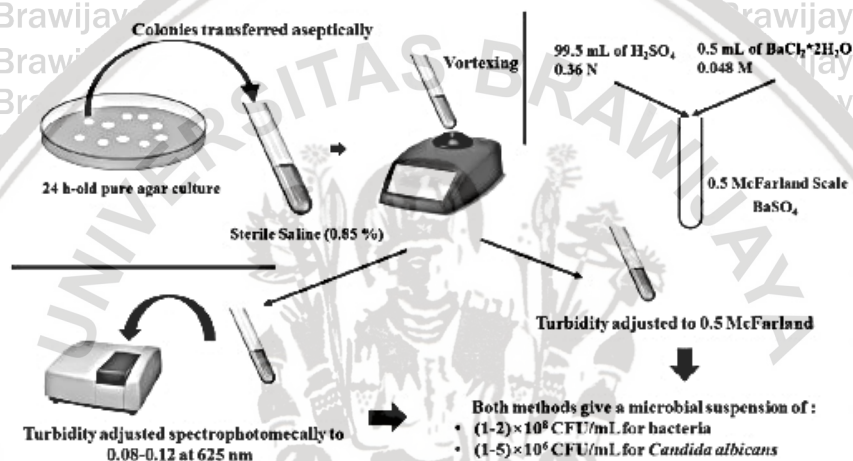
2.7.2 Metode Dilusi

Metode dilusi adalah metode yang dapat menentukan nilai KHM dengan menggunakan media agar dan media kaldu. Kedua metode broth dilusi atau agar dilusi dapat digunakan secara kuantitatif untuk mengukur aktivitas antimikroba in vitro terhadap bakteri dan jamur. Nilai KHM yang diperoleh didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang diuji untuk menghambat pertumbuhan mikronorganisme yang terlihat, dan biasanya dinyatakan dalam $\mu\text{g} / \text{mL}$ atau mg/L (Pfaller et al, 2004).

2.7.2.1 Dilusi Cair

Metode ini merupakan metode yang paling dasar. Prosedurnya meliputi pengenceran agen antimikroba sebesar dua kali lipat konsentrasi awalnya (misalnya 1, 2, 4, 8, 16 dan 32 $\mu\text{g} / \text{mL}$) dalam media pertumbuhan cair dengan

wadah tabung 2 mL (*macrodilution*) atau dengan tabung yang memiliki volume lebih kecil (*microdilution*). Kemudian, setiap tabung atau sumur diinokulasi dengan inokulum mikroba yang dibuat dalam media yang sama setelah suspensi mikroba diencerkan dengan skala McFarland 0,5. Setelah dicampurkan, tabung yang diinokulasi kemudian diinkubasi dalam kondisi yang sesuai tergantung pada uji mikroorganisme.



Gambar 2.3 Preparasi inokulum bakteri menggunakan 0.5 McFarland (balouri et al, 2016)

KHM adalah konsentrasi agen antimikroba terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dalam tabung atau sumur mikrodilusi yang dapat dideteksi dengan mata (CLSI, 2012). Metode makrodilusi memiliki kelemahan utama yaitu prosesnya yang panjang, risiko kesalahan dalam preparasi, dan jumlah reagen serta volume yang relatif besar (Jorgensen & Ferraro, 2009). Sedangkan metode mikrodilusi memiliki reproduksifitas dan penggunaan reagen yang minimal (CLSI, 2012). Selain itu, beberapa metode kolorimetrik berdasarkan penggunaan zat warna seperti garam tetrazolium, 3-

(4,5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) dan 2,3-bis {2-methoxy-4-nitro-5 - [(sulfenylamino) karbonil] - 2H-tetrazolium-hidroksida} (XTT), dapat digunakan dalam penentuan titik akhir KHM untuk uji mikrodilusi antibakteri (Al-bakri & Afifi, 2007).

2.7.2.2 Dilusi Agar

Metode dilusi agar merupakan penggabungan konsentrasi agen antimikroba ke dalam media agar (media agar cair), konsentrasi yang digunakan biasanya diencerkan dua kali lipat, kemudian di inokulasi inokulum mikroba yang akan di uji ke permukaan plate agar. Nilai MIC disebut sebagai konsentrasi agen antimikroba terendah yang dapat menghambat pertumbuhan dalam kondisi inkubasi yang sesuai.

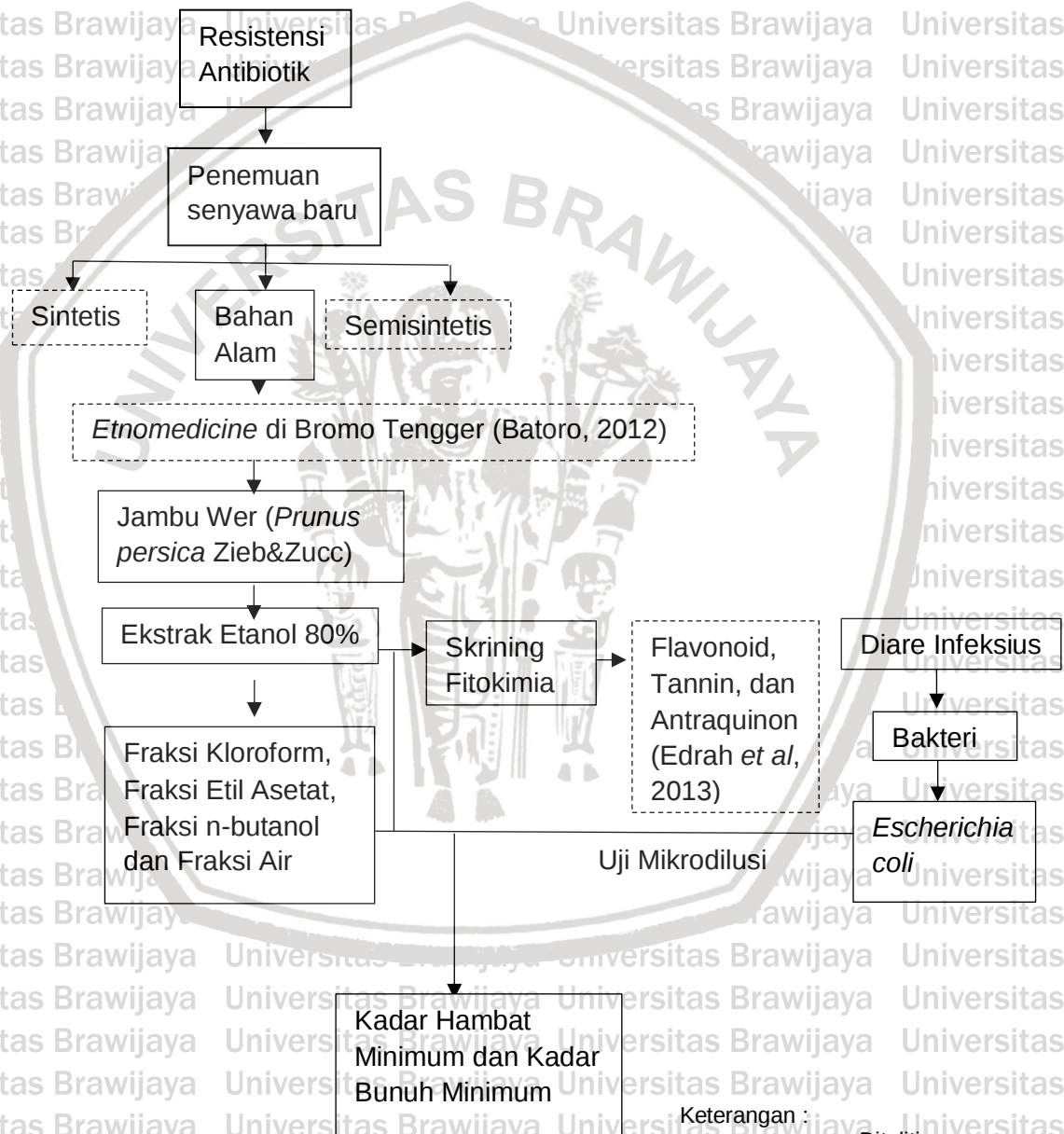
Metode ini dapat digunakan untuk menguji sensitifitas bakteri atau jamur.

Agen antimikroba yang digunakan dapat berupa senyawa isolat atau ekstrak dari tanaman. Jika dibandingkan dengan agar dilusi, disk difusi dan broth mikrodilusi, metode agar dilution ini mampu memberikan hasil yang lebih baik (Baker *et al*, 1991).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Resistensi terhadap antibiotik menjadi permasalahan yang sering dijumpai beberapa periode terakhir terutama bagi Indonesia. Oleh karena itu, penelitian untuk menemukan senyawa baru yang memiliki sifat antibakteri perlu dilakukan. Penemuan senyawa baru dapat dilakukan melalui penemuan senyawa sintetis, semi sintetis serta penemuan dari bahan alam. Penelitian etnofarmasi pada masyarakat suku tengger yang dilakukan oleh Batoro (2012) menemukan bahwa terdapat 118 jenis obat bahan alam yang digunakan untuk mengatasi 60 gejala penyakit. Salah satunya yaitu Jambu Wer digunakan untuk terapi diare. Diare berdasarkan penyebabnya dibagi menjadi dua yaitu diare non infeksi dan diare infeksi.

Salah satu penyebab utama diare infeksi yaitu bakteri. Bakteri yang sering menyebabkan diare salah satunya adalah *Escherichia coli*. Penelitian yang akan dilakukan yaitu menggunakan sampel Ekstrak jambu wer yang diekstraksi menggunakan etanol 80% untuk mengetahui aktivitas antibakteri. Ekstrak jambu wer yang didapat kemudian dilakukan skrining fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis sehingga dapat ditentukan kandungan senyawa metabolit dalam ekstrak jambu wer. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa genus *Prunus* memiliki senyawa metabolit sekunder tanin, flavonoid dan antrakuinon. Ketiga senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang berbeda. Selain itu, ekstrak jambu wer di fraksinasi ke dalam beberapa pelarut sehingga didapatkan fraksi kloroform, fraksi n-butanol, fraksi etil asetat dan fraksi air. Dalam pengujian uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode mikrodilusi untuk mengetahui profil aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli*.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Ekstrak dan fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) memiliki nilai KHM dan KBM lebih rendah dibandingkan seftriakson terhadap bakteri *Escherichia coli*.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *in vitro* yaitu dengan menguji efek antibakteri ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental *in vitro* dan *control group desain*.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kultur bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) yang diperoleh dari Wilayah Taman Nasional Bromo Tengger Semeru Jawa Timur.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian dibagi menjadi dua, yaitu :

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak, fraksi kloroform, fraksi n-butanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc).

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai KHM dan KBM. Nilai KHM didapat dari nilai persen hambatan bakteri yang diperoleh dari nilai rerata *Optical Density* (OD) dari sampel ekstrak etanol 80% fraksi kloroform, fraksi n-butanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah proses ekstraksi dan faksinasi, pelarut, metode skrining fitokimia, dan metode uji aktivitas antibakteri yaitu mikrodilusi.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitoterapi program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk ekstraksi dan faksinasi, serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk uji daya bunuh bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juni hingga April.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Shimadzu UAW220), corong Buchner, stirrer (IKA®), rotary evaporator (IKA®), oven (MEMMERT™), kulkas (TOSHIBA MEZ65529754), ELISA Reader (Multiskan GO), chamber (CAMAG™), UV Lamp (CAMAG™), micropipette

(SOCOREX™), yellow dan blue tip, hot plate (IKA® C-MAG HS 7), Plat KLT (Silica Gel F₂₅₄), corong pisah dan statif, autoklaf elektrik vertikal (Gea LS – B100), mikroskop (OLYMPUS CX21), vortex (IKA®), spektrofotometer (AMTAST AMV10PC), inkubator (MEMMERT™), slide dan cover glass, mikro tube, serta mikroplate.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia serbuk buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc), etanol 80%, n-butanol, aquadest, Water For Injection, etil asetat, kloroform, penampak noda dragendrof, penampak noda H₂SO₄ 10%, pembenihan nutrient agar (MERCK), antibiotik seftriakson (HEXPHARM JAYA).

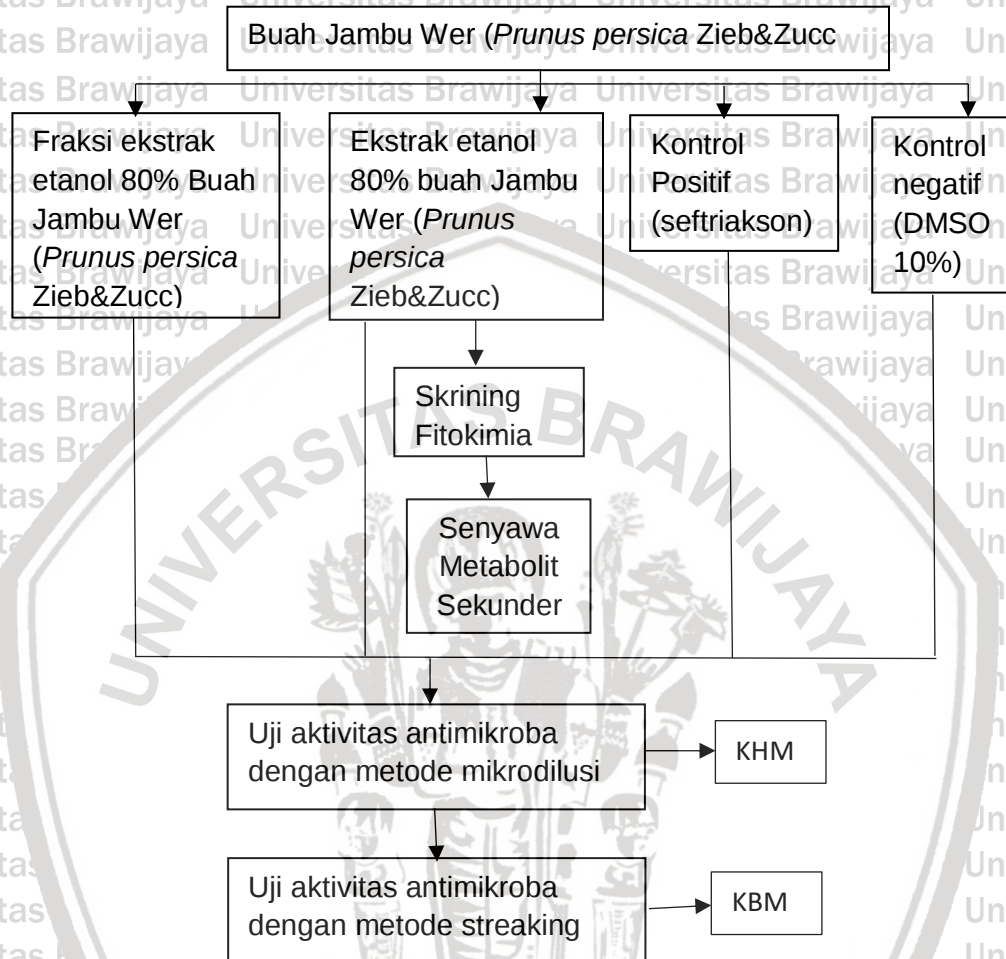
4.6 Definisi Operasional

1. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah bakteri *Escherichia coli* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.
2. Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) adalah Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) yang diperoleh dari Suku Tengger, Malang.
3. Ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) adalah sediaan ekstrak dari simplisia serbuk buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) dengan cara mengekstraksi simplisia serbuk menggunakan etanol 80% dengan metode maserasi
4. Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) adalah ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) yang difraksinasi dengan berbagai macam pelarut, yaitu kloroform, n-butanol, etil asetat dan air

untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan tingkat kepolaran.

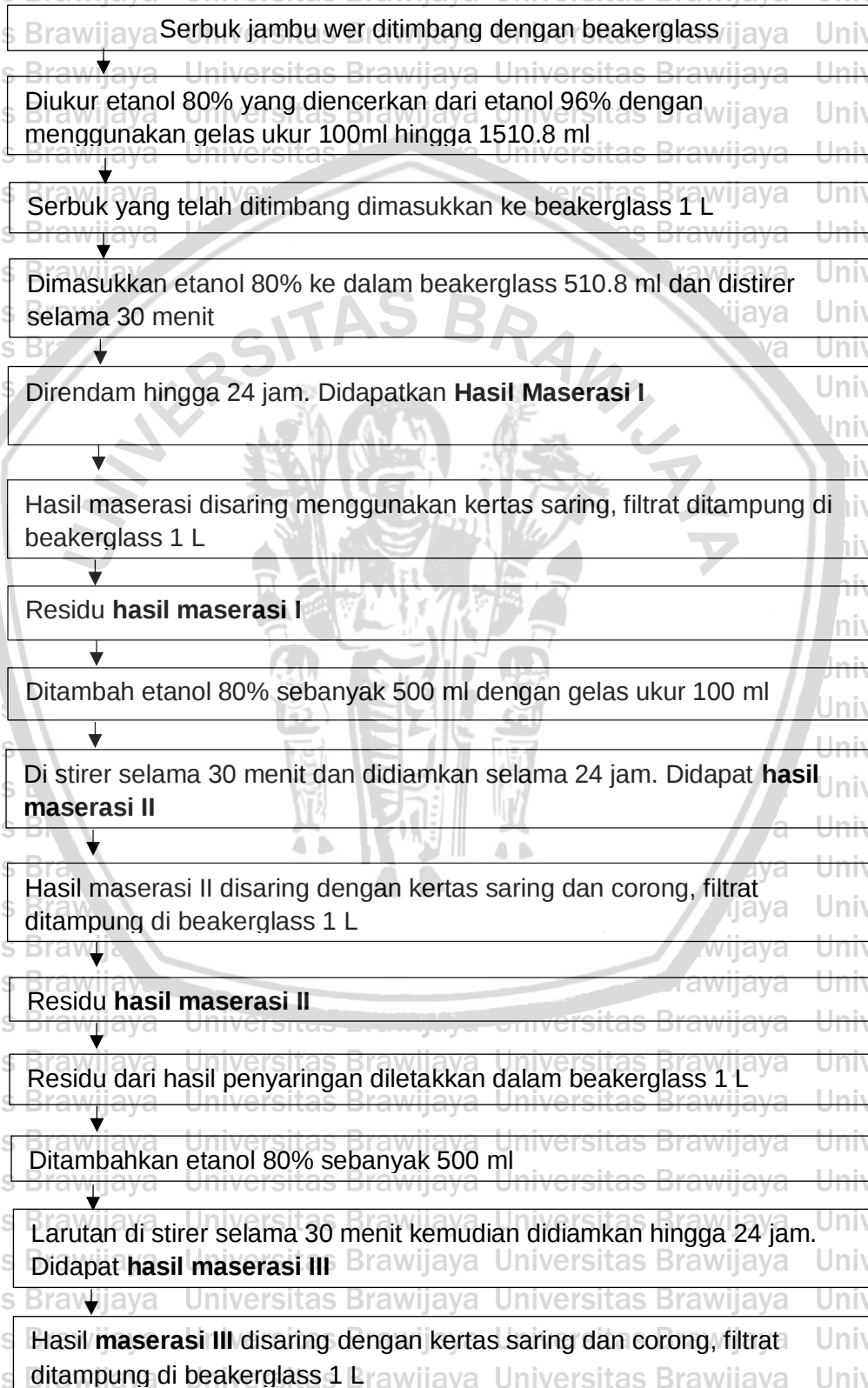
5. Skrining fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi kemungkinan adanya senyawa antraquinon, amilum, sapogenin steroid, flavonoid, terpenoid, tannin, polifenol serta alkaloid dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
6. Uji aktivitas antibakteri merupakan uji mikrodilusi yang dilakukan untuk memperoleh nilai *Optical Density* (OD) sebagai parameter untuk penentuan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM).
7. Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*
8. Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*
9. Kontrol positif merupakan seftriakson dengan bentuk sediaan serbuk injeksi 40mg yang dilarutkan dalam DMSO 10%.
10. Kontrol negatif merupakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan DMSO sebanyak 0.1 mg dan *water for injection* ad 1 ml
11. Persen Hambatan bakteri adalah hasil pembagian dari selisih antara absorbansi kontrol negatif dengan absorbansi sampel uji dan absorbansi kontrol negatif.

4.7 Alur Penelitian



4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Maserasi Jambu Wer (*Prunus persica* Sieb.&Zucc)



Maserasi I + Maserasi II + Maserasi III digabungkan dalam beakerglass
1 L

Diletakkan dalam vakum evaporator hingga ekstrak kental seperti pasta

Setelah ekstrak kental diperoleh kemudian dimasukkan dalam oven dengan menggunakan loyang (oven di set 35°C) hingga didapatkan ekstrak setengah padat

Ekstrak setengah padat kemudian diukur nilai rendemen

4.8.2 Fraksinasi Ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica Sieb.&Zucc*)

Ekstrak kering ditimbang 20 gram dan disuspensikan dengan air 50 ml

Digerus dengan mortir. Ditambahkan aquadest ad 100 ml, suspensi dimasukkan dalam corong pisah

Diukur kloroform sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur 100 ml, dan dimasukkan ke dalam corong pisah

Larutan yang berada pada corong pisah dikocok selama 5 menit (a)

Corong pisah kemudian didiamkan hingga terpisah menjadi dua fase (b)

Diambil fase fraksi (c)

Diulangi langkah fraksinasi hingga 3-4x kemudian hasil fraksinasi dimasukkan dalam vial (d)

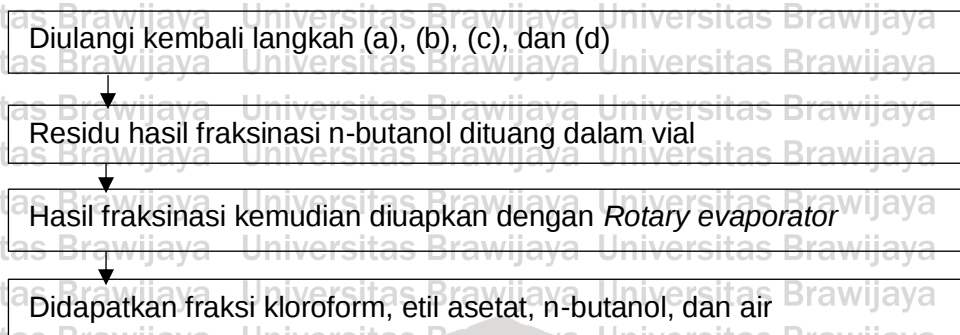
Residu hasil fraksinasi kloroform dalam corong pisah

Ditambah etil asetat 100 ml pada corong pisah

Diulangi kembali langkah (a), (b), (c), dan (d)

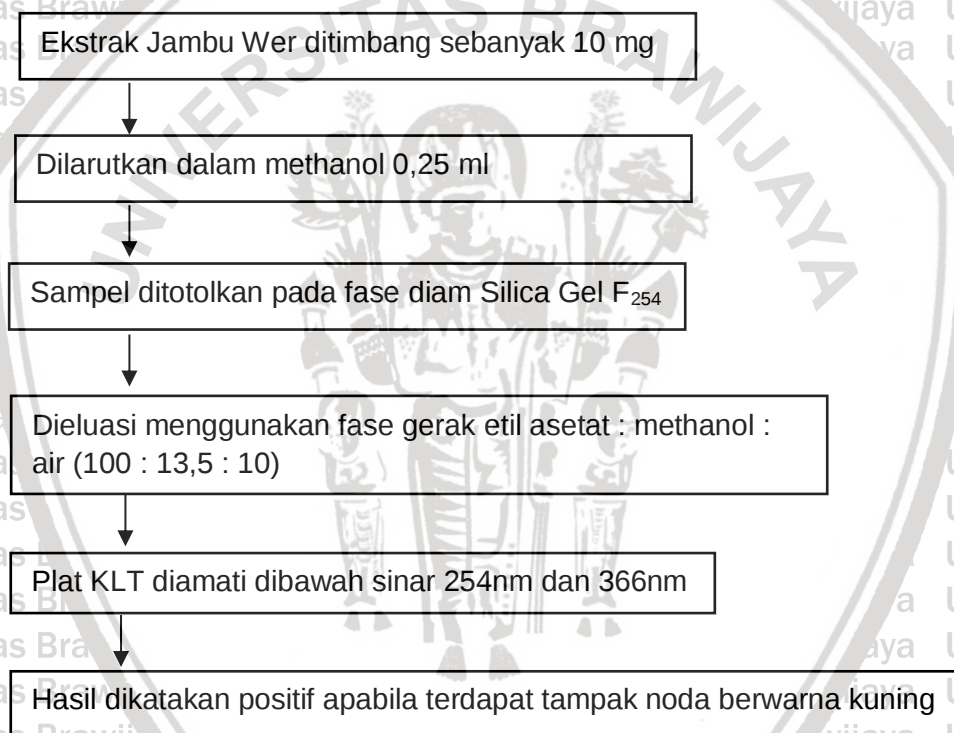
Residu hasil fraksinasi etil asetat dalam corong pisah

Ditambah n-butanol 100 ml pada corong pisah



4.8.3 Screening Fitokimia

4.8.3.1 Golongan Antraquinon



4.8.3.2 Senyawa Amilum

Ekstrak jambu wer 10mg disuspensikan dengan aquadest 0.3 ml

Diberi reagen IKI 3 tetes

Diamati perubahan warna menjadi biru kehitaman

Digoreskan pada *slide glass* dan *cover glass*

Diamati dengan mikroskop pada perbesaran 100x dan 400x

Diamati adanya amilum

4.8.3.3 Golongan Sapogenin Steroid

Dilarutkan 10 mg jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

Dieluasi menggunakan fase gerak n-heksana – etil asetat (4 : 1)

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda anisaldehyda asam sulfat.

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak bercak warna merah ungu pada plat KLT

4.8.3.4 Golongan Flavonoid

a. Penampak noda uap Ammonia

Dilarutkan 10 mg jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

Dieluasi menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda uap ammonia

Plat KLT diamati secara visual

Hasil dikatakan positif apabila terdapat noda berwarna kuning pada plat KLT saat diuapkan ammonia

b. Penampak Noda H_2SO_4 10%

Dilarutkan 10 mg jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

Dieluasi menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda H_2SO_4 10% dan dipanaskan pada hotplate

Plat KLT diamati pada panjang gelombang 254nm dan 366nm.

Hasil dikatakan positif apabila terdapat noda berwarna kuning kecoklatan

4.8.3.5 Golongan Terpenoid

Dilarutkan 10 mg jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

Dieluasi menggunakan fase gerak Kloroform : methanol (9:1)

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda anisaldehida asam sulfat.

Plat KLT diamati secara visual, dibawah sinar 254nm dan 366nm

Hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak noda bewarna merah ungu jika dilihat secara visual dan tampak noda merah pada λ 366 nm.

4.8.3.6 Golongan Tanin dan Polifenol

a. Deteksi senyawa polifenol

Dilarutkan 10 mg jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

Dieluasi menggunakan fase gerak Kloroform : etil asetat :
asam formiat (0,5:9:0,5)

Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda FeCl₃

Plat KLT diamati secara visual, dibawah sinar 254nm dan 366nm

Hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak noda berwarna hitam.

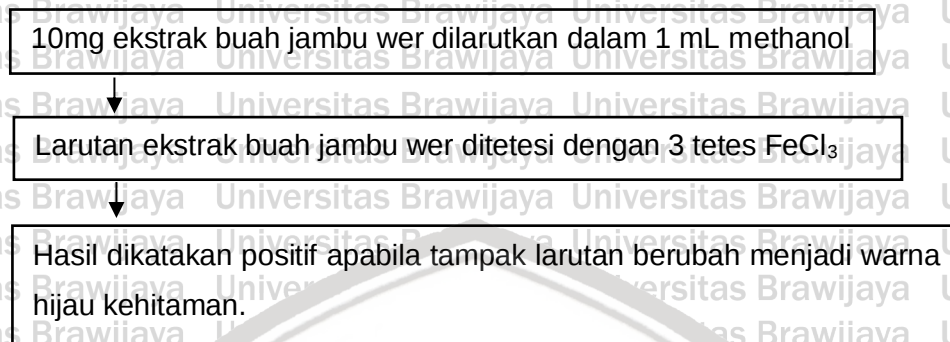
b. Deteksi senyawa tannin dengan gelatin

10mg ekstrak buah jambu wer dilarutkan dalam 1 mL methanol

Pada uji gelatin larutan ekstrak buah jambu wer diberikan 10 tetes gelatin 1%.

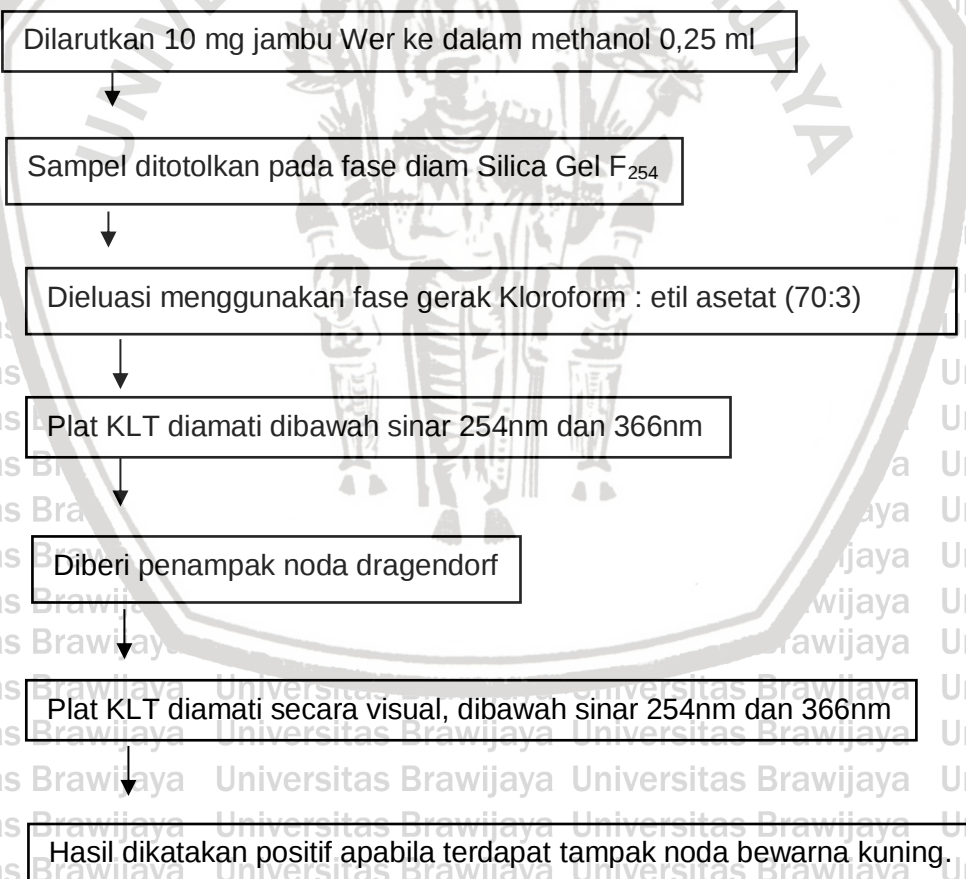
Hasil dikatakan positif apabila tampak adanya endapan putih

c. Deteksi Senyawa Tannin dengan FeCl_3



4.7.3.7 Golongan Alkaloid

a. Non Preparasi Sampel



b. Preparasi Sampel

10 mg ekstrak kental jambu Wer ke dalam methanol 0,25

Ditambah HCl 2N, dan dipanaskan

Ditambahkan sedikit NaCl, lalu disaring

Filtratnya ditambah NH_4OH sampai basa, kemudian diekstraksi dengan kloroform

Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F_{254}

Dieluasi menggunakan fase gerak Kloroform : etil asetat (70:3)

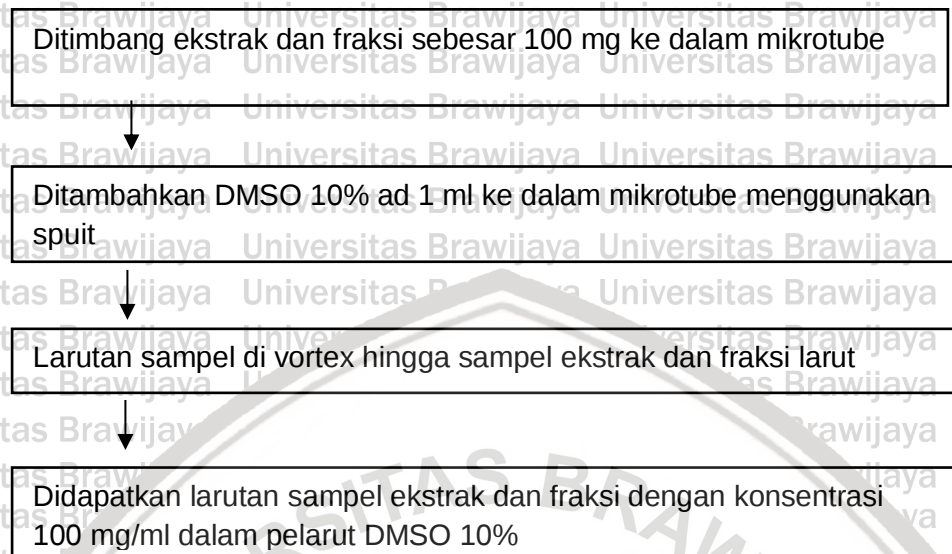
Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Diberi penampak noda dragendorf

Plat KLT diamati secara visual, dibawah sinar 254nm dan 366nm

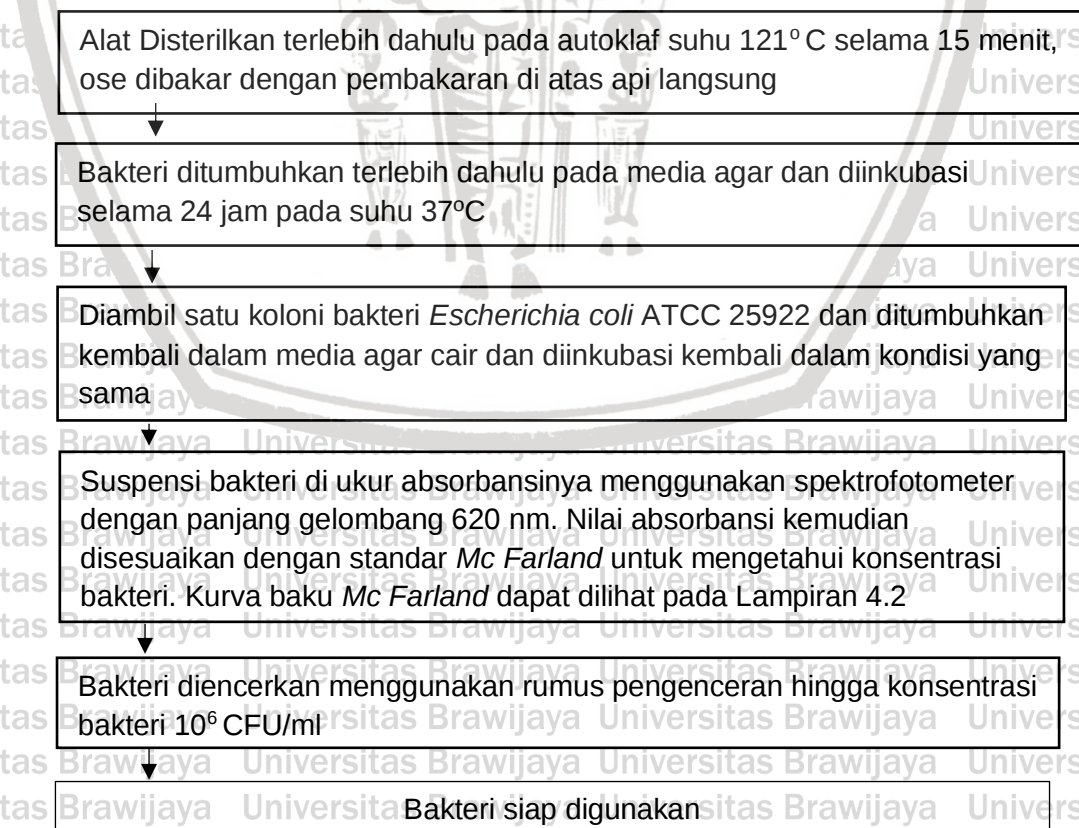
Hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak noda berwarna kuning.

4.8.4 Preparasi Sampel Ekstrak dan Fraksi



4.8.5 Uji Antibakteri dengan Mengukur Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum

4.8.5.1 Preparasi Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



4.8.5.2 Mikrodilusi dan Streaking

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf

Sampel, MHB, seftriakson, kontrol negatif (DMSO10%) dimasukkan dalam mikroplate 96-well seperti pada gambar 4.1

Mikroplate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Setelah diinkubasi, kemudian mikroplate dibaca dengan menggunakan *ELISA Reader* pada panjang gelombang 620 nm

Sampel pada mikroplate kemudian diambil menggunakan oose dan dibuat apusan pada media agar padat

Plate yang telah diberi apusan bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Dilihat adanya pertumbuhan bakteri sehingga didapatkan nilai KBM

50 µL MHB + seftriakson 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + bakteri 50 µL	50µL MHB+ well ke3 50µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB+ well ke4 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + bakteri 50 µL
50 µL MHB + seftriakson 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke3 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke4 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + bakteri 50 µL
50 µL MHB + seftriakson 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke3 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke4 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + bakteri 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + bakteri 50 µL

(c)

50 µL MHB + seftriakson 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + MHB 50 µL	50µL MHB+ well ke3 50µL + MHB 50 µL	50 µL MHB+ well ke4 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + MHB 50 µL
50 µL MHB + seftriakson 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke3 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke4 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + MHB 50 µL
50 µL MHB + seftriakson 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke1 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke2 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke3 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke4 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke5 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke6 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke7 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke8 50 µL + MHB 50 µL	50 µL MHB + well ke9 50 µL + MHB 50 µL

(d)

Gambar 4.1 (a) Peta Mikrodilusi Sampel Uji (b) Peta Mikrodilusi Blanko Sampel (c) Peta Mikrodilusi Seftriakson (d) Peta Mikrodilusi Blanko Seftriakson.

4.9 Analisis Data

Nilai *Optical Density* (OD) yang diperoleh kemudian dilakukan perhitungan menggunakan rumus persen hambatan. Nilai OD pada rumus merupakan nilai OD rata-rata yang diperoleh dari tiga replikasi. Persentase hambatan yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan nilai KHM sampel. Nilai KBM diperoleh dari metode *streaking* dengan mengamati secara visual ada atau tidak ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tertentu.

Rumus Persen Hambat Bakteri

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{OD_{\text{Kontrol Negatif}} - OD_{\text{Sampel Uji}}}{OD_{\text{Kontrol Negatif}}} \times 100\%$$

Keterangan :

OD_{Kontrol Negatif} → Rerata Kontrol Negatif

OD_{Sampel Uji} → Rerata (Susp. bakteri 50 µL + MHB 50 µL + Sampel Uji 50 µL) – Rerata (MHB 50 µL + Sampel Uji 50 µL + MHB 50 µL)

OD_{Kontrol positif} → Rerata (Susp. bakteri 50 µL + MHB 50 µL + seftriakson 50 µL) – Rerata (MHB 50 µL + Seftriakson 50 µL + MHB 50 µL)

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstraksi Buah Jambu Wer

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Setelah dilakukan proses maserasi dengan lama perendaman 72 jam diperoleh hasil ekstraksi buah

Prunus persica Zieb & Zucc pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi buah *Prunus persica* Zieb & Zucc

Ekstrak	Berat Simplisia Serbuk	Berat Hasil Ekstraksi	Rendemen	Warna
Etanol 80%	151.08 gram	56.88 gram	37,65%	Coklat

5.1.2 Fraksinasi Ekstrak Buah Jambu Wer

Metode fraksinasi yang digunakan yaitu fraksinasi cair-cair dengan menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan untuk proses fraksinasi yaitu kloroform, etil asetat, n-butanol, dan air. Hasil yang diperoleh dari proses fraksinasi cair-cair menggunakan sampel ekstrak etanol 80% dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Fraksinasi Cair-cair

Fraksi	Berat yang Didapatkan	% Rendemen	Warna Fraksi	Wujud Fraksi
Kloroform	0.724 gram	3.62	Coklat Kehijauan	Pasta
Etil Asetat	0.987 gram	4.935	Coklat Tua	Pasta
n-butanol	4.0478 gram	20.239	Coklat Tua	Pasta
Air	9.409 gram	47.045	Coklat Tua	Pasta

5.1.3 Skiring Fitokimia Ekstrak Jambu Wer

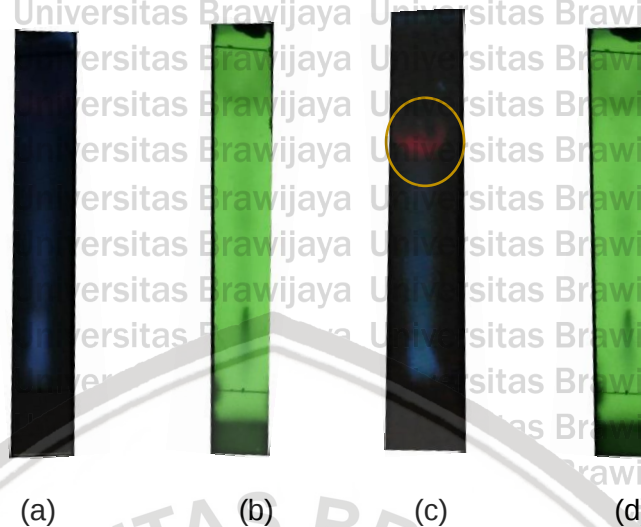
5.1.3.1 Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan dua metode yaitu menggunakan penampak noda uap ammonia dan penampak noda H_2SO_4 10%. Hasil identifikasi senyawa flavonoid menggunakan penampak noda ammonia menunjukkan adanya spot berwarna kuning dengan nilai R_f 0.24 dan R_f 0.5 pada plat KLT yang telah dieluasi dan diberi penampak noda. Spot warna pada plat KLT tampak memudar apabila plat KLT tidak diberi penampak noda. Gambar 5.1 merupakan profil KLT hasil identifikasi flavonoid dengan menggunakan penampak noda uap ammonia yang diamati secara visual.



Gambar 5.1 Profil KLT identifikasi flavonoid. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Penampak noda : Uap ammonia. Diamati secara visual

Hasil identifikasi senyawa flavonoid dengan penampak noda H₂SO₄ 10% dapat dilihat pada Gambar 5.2. Profil KLT hasil identifikasi menunjukkan adanya spot warna kuning kecoklatan atau berwarna merah dengan nilai R_f 0.71 pada pengamatan dengan menggunakan sinar UV 366nm. Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan dua metode tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc positif mengandung flavonoid.



Gambar 5.2 Profil KLT identifikasi flavonoid ekstrak buah jambu wer. Fase diam : Silica gel F_{254} , Fase gerak : n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Penampak Noda H_2SO_4 10%. Diamati dengan (a) UV 366nm sebelum diberi penampak noda; (b) UV 254nm sebelum diberi penampak noda; (c) UV 366nm setelah diberi penampak noda; (d) UV 254nm setelah diberi penampak noda.

5.1.3.2 Identifikasi Amilum

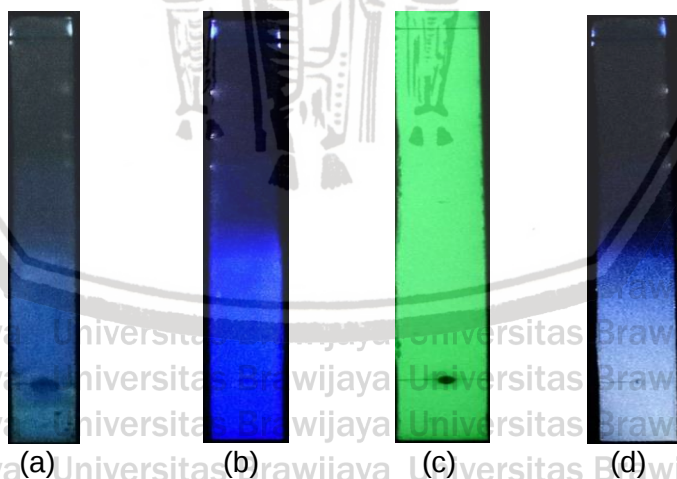
Identifikasi senyawa amilum dilakukan dengan melakukan dua metode yaitu dengan pemberian reagen IKI dan pengamatan dibawah mikroskop. Hasil identifikasi dengan menggunakan reagen IKI dapat dilihat pada Gambar 5.3. Hasil uji menunjukkan adanya perubahan warna setelah sampel ditambah dengan reagen IKI menjadi biru kehitaman.



Gambar 5.3 Hasil Uji Amilum dengan Pemberian Reagen IKI

5.1.3.3 Hasil Uji Sapogenin Steroid

Identifikasi sapogenin steroid dilakukan dengan menggunakan penampak noda anisaldehida sulfat. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Gambar 5.5. profil KLT hasil identifikasi tidak menunjukkan adanya noda berwarna ungu sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc tidak mengandung senyawa sapogenin steroid.



Gambar 5.4 Profil KLT identifikasi sapogenin steroid ekstrak buah jambu
wer. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : n-heksan : etil asetat (4:1).
 Penampak Noda anisaldehida sulfat. Diamati dengan (a) UV 254nm sebelum diberi penampak noda; (b) UV 366nm sebelum diberi penampak noda; (c) UV 254nm setelah diberi penampak noda; (d) UV 366nm setelah diberi penampak noda.

5.1.3.4 Identifikasi Antraquinon

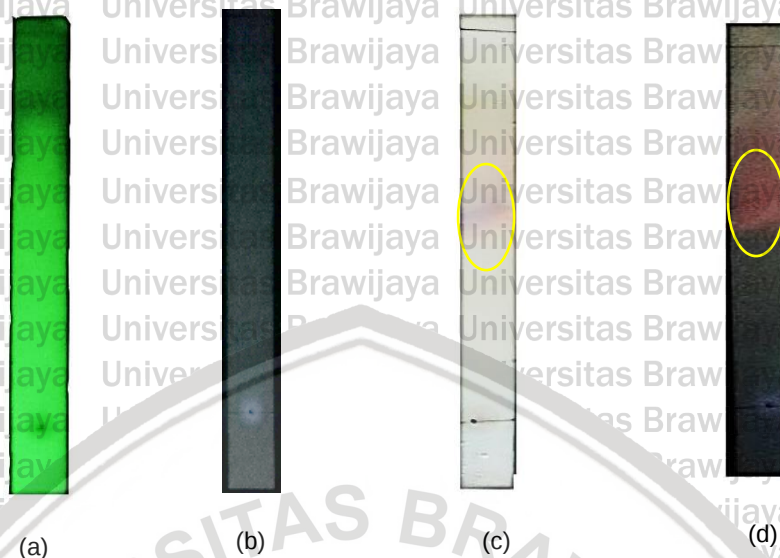
Hasil identifikasi antraquinon dapat dilihat pada Gambar 5.6. Pada identifikasi antraquinon hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak noda berwarna kuning pada plat yang telah dieluasi. Berdasarkan hasil pengujian dapat diketahui bahwa plat KLT tidak ada tampak noda berwarna kuning sehingga dapat dinyatakan bahwa sampel ekstrak jambu wer negatif mengandung antraquinon.



Gambar 5.5 Profil KLT identifikasi antraquinon pada ekstrak buah jambu wer. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : etil asetat : metanol : air (100:13,5:10) (a) diamati pada sinar UV 366nm setelah dieluasi (b) diamati pada sinar UV 254nm setelah dieluasi.

5.1.3.5 Identifikasi Terpenoid

Hasil identifikasi terpenoid dapat dilihat pada Gambar 5.7. Hasil identifikasi menunjukkan adanya spot berwarna merah dengan nilai R_f 0.55 pada panjang gelombang 366nm setelah diberi penampak noda sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc positif mengandung terpenoid.

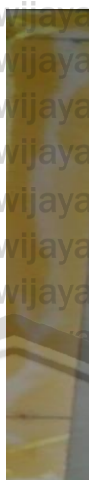


Gambar 5.6 Profil KLT identifikasi terpenoid pada ekstrak buah jambu wer.

Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : kloroform : metanol (9:1). Penampak noda : anisaldehida asam sulfat (a) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 254 nm, (b) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 366 nm, (c) Setelah diberi penampak noda dan diamati secara visual, (d) Setelah diberi penampak noda dan diamati pada λ 366 nm. Spot berwarna merah pada lingkaran kuning menunjukkan adanya terpenoid.

5.1.3.6 Golongan Alkaloid

Uji Alkaloid dilakukan dengan metode non preparasi sampel. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Gambar 5.8. Hasil identifikasi pada plat KLT tidak menunjukkan adanya spot atau noda sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc tidak mengandung alkaloid.



Gambar 5.7 Profil KLT identifikasi alkaloid non preparasi pada ekstrak buah jambu wer. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : kloroform : etil asetat (70:3). Penampak noda : dragendorff. Diamati secara visual

5.1.3.7 Identifikasi Tanin dan Polifenol

Identifikasi polifenol dilakukan dengan menggunakan penampak noda FeCl₃. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Gambar 5.9. Plat KLT yang telah diberi penampak noda tidak menunjukkan adanya spot berwarna hitam sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc tidak mengandung senyawa polifenol.



Gambar 5.8 Profil KLT identifikasi terpenoid pada ekstrak buah jambu wer. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5 : 9 : 0,5). Penampak noda : FeCl₃. Diamati secara visual

Identifikasi senyawa tannin dilakukan dengan metode pewarnaan menggunakan dua reagen yaitu gelatin dan FeCl_3 . Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat endapan putih pada dasar tabung uji gelatin (Gambar 5.10 a) dan larutan berubah menjadi warna hijau kehitaman (Gambar 5.10 b). perubahan yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc mengandung tannin. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak buah *Prunus persica* Zieb & Zucc dapat dilihat pada Tabel 5.2.



Gambar 5.9 Identifikasi senyawa tannin (a) Uji gelatin (b) Uji pewarnaan FeCl_3

Tabel 5.3 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 80% buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

Parameter Uji	Hasil Uji
Antraquinon	-
Amilum	+
Sapogenin Steroid	-
Flavonoid	+
Terpenoid	+
Tanin	+
Polifenol	-
Alkaloid	-

5.1.4 Uji Antimikroba

Uji antimikroba dari ekstrak dan fraksi-fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc) dilakukan terhadap bakteri gram negatif penyebab diare yaitu bakteri *Escherichia coli*. Uji antimikroba dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM). Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode mikrodilusi dapat dinyatakan bahwa nilai KHM pada sampel ekstrak, fraksi air dan seftriakson yaitu 50000 ppm, fraksi n-butanol pada 25000 ppm, fraksi kloroform pada 6250 ppm, dan fraksi etil asetat pada 12500 ppm. Nilai KHM lebih lanjut yang diperoleh dari uji mikrodilusi terhadap bakteri *Escherichia coli* disajikan dalam Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Nilai KHM uji mikrodilusi terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Konsentrasi (ppm)						
	50000	25000	12500	6250	3125	1562.5	781.25
Seftriakson	+	-	-	-	-	-	-
Ekstrak etanol	+	-	-	-	-	-	-
Fraksi kloroform	+	+	+	+	-	-	-
Fraksi etil asetat	+	+	+	-	-	-	-
Fraksi n-butanol	+	+	-	-	-	-	-
Fraksi air	+	-	-	-	-	-	-
Keterangan :	+	: Terjadi Hambatan Pertumbuhan Bakteri					
	-	: Tidak Terjadi Hambatan Pertumbuhan Bakteri					

5.1.5 Uji Antibakteri Kadar Bunuh Minimal

Untuk mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) yang dihasilkan oleh setiap sampel uji, maka dilakukan metode streaking pada media *Mueller Hilton Agar* (MHA) sehingga dapat teramati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi sampel uji. Nilai KBM hasil uji streaking terhadap bakteri *Escherichia coli* kemudian dapat dilihat dalam Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Nilai KBM hasil uji streaking terhadap bakteri *Eschrichia coli*

Sampel	Kadar Bunuh Minimum (ppm)
seftriakson	-
Ekstrak etanol	-
Fraksi kloroform	25000
Fraksi Etil Asetat	12500
Fraksi n-butanol	50000
Fraksi air	-

Keterangan : (-) Kadar bunuh minimal tidak teramati pada konsentrasi 50000 ppm



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Ekstraksi Buah dan Fraksinasi *Prunus persica* Zieb & Zucc

Metode ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan ekstrak jambu wer yaitu maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi cara dingin dengan tujuan untuk menyari senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia serbuk jambu wer dengan optimal. Proses maserasi yang dilakukan disertai dengan adanya pengadukan. Proses pengadukan dengan stirrer menghasilkan energi kinetik, bertambahnya energi kinetik selama proses ekstraksi menyebabkan pelarut semakin mudah untuk berdifusi ke dalam sel tanaman sehingga semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang ikut terekstraksi (Ristianingsih, *et al*). Selain itu Pengadukan diperlukan untuk mempercepat proses pembasahan simplisia dengan pelarut. Waktu ekstraksi berlangsung selama 72 jam dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Pelarut etanol dipilih karena memiliki titik didih yang rendah sehingga dapat diuapkan tanpa memerlukan pemanasan dan memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Selain itu etanol memiliki gugus polar dan non polar sehingga dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya (Lumempouw *et al*, 2012). Hasil maserasi (maserat) kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dengan tekanan rendah hingga konsistensi yang dikehendaki. Titik didih suatu pelarut dapat dipengaruhi oleh tekanan, semakin rendah tekanan yang digunakan maka akan semakin rendah pula titik didih suatu pelarut sehingga diharapkan

dengan suhu 40°C pelarut etanol dalam ekstrak akan menguap (Waziroh et al, 2017).

Simplisia serbuk buah jambu wer sebanyak 151.08 gram di ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 80% sebanyak 1150.8 ml menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan rendemen 37.65%. Rendemen merupakan perbandingan jumlah ekstrak kental yang dihasilkan dalam suatu proses ekstraksi dengan berat awal bahan yang digunakan. Rendemen yang cukup tinggi tersebut dapat diperoleh karena penggunaan pelarut etanol 80%. Pelarut dapat menentukan rendemen yang dihasilkan apabila pelarut yang digunakan (etanol 80%) memiliki sifat kepolaran yang sama dengan sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia buah *Prunus persica* Zieb & Zucc. Menurut Adhinata (2012) Senyawa karbohidrat, tannin, flavonoid serta terpenoid merupakan senyawa yang dapat larut dalam pelarut polar sehingga senyawa yang terkestrak dalam pelarut etanol 80% cukup banyak dan menghasilkan nilai rendemen yang cukup tinggi. Selain adanya pengaruh dari pemilihan pelarut yang digunakan, besarnya nilai rendemen yang didapat juga dapat dipengaruhi oleh luas permukaan simplisia yang digunakan. Semakin kecil ukuran partikel yang digunakan akan mempengaruhi luas permukaan kontak antara simplisia dengan pelarut. Waktu perendaman juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi rendemen yang diperoleh, dimana semakin lama waktu perendaman maka semakin lama waktu kontak antara simplisia dengan pelarut (Koirewoa et al, 2012).

6.2 Skrining Fitokimia

Identifikasi golongan senyawa pada ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc dilakukan dengan menggunakan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol 80% *Prunus persica* Zieb & Zucc. Identifikasi ini dilakukan dengan menggunakan reagen kimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Identifikasi dilakukan terhadap kemungkinan adanya senyawa antraquinon, amilum, steroid, flavonoid, terpenoid, tannin, polifenol, dan alkaloid. Hasil identifikasi senyawa pada ekstrak etanol 80% *Prunus persica* Zieb & Zucc dapat dilihat pada Tabel 5.3. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *Prunus persica* Zieb&Zucc mengandung amilum, tannin, flavonoid, dan terpenoid. Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut diketahui memiliki kesamaan dengan tanaman pada genus *Prunus* lainnya. Penelitian yang dilakukan oleh Oyetayo dan Bada (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun dan kulit batang dari *Prunus avium* L. memiliki kandungan senyawa metabolit tannin, flavonoid, saponin, alkaloid dan fenol. Penelitian yang dilakukan oleh Hussain *et al* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Prunus persica* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder karbohidrat, flavonoid, dan tannin. Penelitian yang dilakukan oleh Edrah *et al* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Prunus persica* mengandung tannin, saponin, flavonoid, terpenoid, dan glikosida. Penelitian yang dilakukan oleh Kumar dan Chaudhary (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Prunus persica* (L) mengandung alkaloid, glikosida, flavonoid, karbohidrat, tannin, dan fenol.

Etanol merupakan pelarut yang dapat mengekstraksi banyak senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda sehingga dimungkinkan terdapat banyak senyawa yang ikut terekstraksi. Untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam

crude extract maka dilakukan metode fraksinasi bertingkat. Tujuan proses fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa yang telah terekstraksi berdasarkan tingkat kepolaran dengan menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan tingkat kepolaran. Fraksinasi cair-cair dilakukan dengan pengocokan dalam corong pisah. Prinsip pemisahan metode fraksinasi cair-cair yaitu perbedaan tingkat kepolaran dan massa jenis antar dua pelarut yang digunakan. Rendemen yang didapatkan dalam proses fraksinasi berbeda untuk setiap fraksinya. Perbedaan rendemen tersebut dapat dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan sehingga senyawa metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan larut ke dalam pelarut yang digunakan sehingga mempengaruhi banyaknya senyawa metabolit sekunder yang tertarik ke dalam pelarut tiap fraksi.

Proses fraksinasi dilakukan secara bertingkat dari pelarut non-polar hingga pelarut yang polar. Fraksi kloroform merupakan fraksi yang relatif bersifat non-polar. Penggunaan kloroform untuk fraksinasi cair-cair dimaksudkan untuk menghilangkan zat pengotor yang dapat mengganggu proses analisis seperti lemak dan klorofil. Hasil dari fraksinasi dengan pelarut kloroform akan dihasilkan fraksi yang bebas dari lemak dan klorofil, selain itu pelarut kloroform juga dapat menarik senyawa seperti alkaloid, terpenoid, xantofil, flavonoid, dan terpena (Dewi, 2007 & Ncube *et al*, 2008). Fraksi etil asetat dan n-butanol merupakan pelarut semi polar sehingga diharapkan dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Serta penggunaan fraksi air sebagai fraksi polar yang dapat menarik senyawa seperti antosianin, amilum, tannin, saponin, dan terpenoid (Romadanu *et al*, 2014).

6.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol 80%, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan fraksi air terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sampel yang akan diujikan terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut DMSO 10%. Penggunaan DMSO 10% dapat melarutkan sampel uji. Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh Prabuniseenivassan et al (2006) menunjukkan bahwa penggunaan DMSO 10% sebagai pelarut sampel uji tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mikrodilusi. Metode mikrodilusi digunakan karena dalam prosesnya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit dan cukup teliti.

Uji antibakteri dengan metode mikrodilusi dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Digunakan bakteri *Escherichia coli* karena bakteri tersebut merupakan bakteri yang paling umum menyebabkan diare (Dipiro et al, 2009). Jumlah bakteri yang digunakan untuk metode ini yaitu 10^6 CFU. Penggunaan media *Mueller-Hilton Broth* (MHB) merupakan media yang direkomendasikan untuk menentukan KHM dengan metode mikrodilusi cair oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS). MHB merupakan media yang mengandung Ca^{++} dan Mg^{++} yang bagus untuk pertumbuhan bakteri uji. Setelah dilakukan metode mikrodilusi, mikroplate diinkubasi terlebih dahulu selama 24 jam pada suhu 37°C agar terjadi pertumbuhan bakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat tumbuh dengan suhu $7-46^\circ\text{C}$. Setiap spesies mikroorganisme akan tumbuh dengan baik didalam lingkungan selama kondisinya menguntungkan bagi pertumbuhan dan untuk mempertahankan dirinya. Dilakukan inkubasi pada suhu

37°C karena merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan *Escherichia coli* (Meat dan Livestock, 2006). Mikroplate yang sudah diinkubasi kemudian dibaca dengan menggunakan *ELISA* (*Enzymed-Linked Immunosorbent Assay*) reader dengan panjang gelombang 620 nm. Nilai panjang gelombang merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, dimana pada panjang gelombang tertentu memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri. Penggunaan panjang gelombang 620 nm merupakan panjang gelombang yang diketahui tidak memberikan efek bakterisidal terhadap bakteri sehingga dapat digunakan untuk mengetahui jumlah koloni dalam suatu medium cair (Kim, 2013). Teknik *ELISA Reader* dapat mengukur secara kuantitatif berdasarkan perubahan warna yang disebabkan oleh reaksi enzimatis dalam mendeteksi adanya suatu protein dalam sampel (Srimulyati, 2015). Dari penggunaan *ELISA Reader* tersebut akan didapatkan nilai *Optical Density* (OD) yang akan digunakan sebagai parameter penentuan nilai KHM, kemudian dilanjutkan dengan metode streaking untuk menentukan nilai KBM.

Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai KHM dan KBM dari kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah seftriakson. Seftriakson merupakan antibiotik generasi tiga yang berasal dari golongan sefalosporin. seftriakson memiliki efek antibakterial dengan spektrum luas, aktif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, serta bakteri anaerob. Mekanisme kerjanya yaitu dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih *penicillin binding-protein* (PBPs) yang akan menghambat proses transpeptidasi sintesis *peptidoglycan* di dinding sel bakteri, sehingga menghambat biosintesis dinding sel (Aberg et al, 2009).

Pengujian dilakukan terhadap 7 konsentrasi yang berbeda yaitu pada 50000 ppm, 25000 ppm, 12500 ppm, 6250 ppm, 3125 ppm, 1562.5 ppm, 781.25 ppm untuk sampel ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi. Penggunaan variasi konsentrasi tersebut untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji antimikroba ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi dapat dilihat pada Tabel

5.4. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, diketahui bahwa pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli* dapat dihambat oleh ekstrak etanol 80% pada konsentrasi 50000 ppm, fraksi kloroform pada konsentrasi 6250 ppm, fraksi etil asetat pada konsentrasi 12500 ppm, fraksi n-butanol pada 25000 ppm serta pada fraksi air dengan konsentrasi 50000 ppm. Sedangkan pada antibiotik seftriakson pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat terhambat pada konsentrasi 50000 ppm. Dari hasil tersebut dapat diurutkan bahwa nilai KHM fraksi kloroform > etil asetat > n-butanol > fraksi air, ekstrak etanol, dan seftriakson.

Adanya aktivitas antimikroba dari sampel ekstrak etanol 80% beserta fraksi-fraksinya dapat diketahui juga dari penelitian sebelumnya yang dilakukan menggunakan sampel genus *Prunus*. Uji antimikroba yang dilakukan oleh Aljamali (2013) terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan sampel ekstrak biji *Prunus persica* membuktikan bahwa sampel ekstrak etanol 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambatan 10 mm dan sampel ekstrak biji *Prunus armeniaca* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambatan 14 mm pada konsentrasi 100 mg/ml. Penelitian lainnya dilakukan oleh Aziz dan Rahman (2013) membuktikan bahwa sampel ekstrak etil asetat kulit batang *Prunus persica* L. Batsch memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri yang

terdapat dalam buah *Prunus persica* dapat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa tannin, polifenol, dan flavonoid (Belhadj et al, 2016).

Seftriakson merupakan antibiotik dengan spektrum luas dengan mekanisme kerja menghambat pembentukan dinding sel. Seftriakson dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai KHM 50000 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa antibiotik seftriakson tidak lebih baik dari fraksi kloroform, etil asetat dan n-butanol buah *Prunus persica* Zieb & Zucc. Menurut data yang ditampilkan dalam penelitian Noorhamdani (2012) dengan menggunakan sebanyak 162 sampel, tingkat resistensi yang terjadi terhadap antibiotik seftriakson yaitu sebesar 72.8%. Tingginya tingkat resistensi tersebut dapat menjadi salah satu faktor penyebab tidak efektifnya aktivitas antibakteri seftriakson pada uji yang telah dilakukan. Mekanisme resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yaitu dengan memproduksi ESBL (*Extended Spectrum β -Lactamase*). ESBL merupakan β -*Lactamase* yang mampu mengakibatkan resistensi terhadap antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga dengan cara menghidrolisis antibiotik tersebut (Rawat dan Nair, 2010).

Penentuan nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM) dilakukan dengan menggunakan metode streaking dengan media *Mueller Hilton Agar* (MHA). Hasil pengujian KBM dari sampel ekstrak etanol 80%, fraksi-fraksi serta antibiotik seftriakson terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Berdasarkan pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 80% *Prunus persica* Zieb & Zucc menunjukkan bahwa sampel fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan nilai KBM yang lebih baik dibandingkan dengan sampel uji lainnya.

Fraksi kloroform, n-butanol dan fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memiliki

aktivitas antibakteri lebih baik jika dibandingkan dengan sampel ekstrak etanol 80%, fraksi air dan seftriakson. Sedangkan untuk ketiga sampel uji tersebut nilai KBM tidak teramati pada konsentrasi 50000 ppm pada bakteri *Escherichia coli* hal tersebut dapat terjadi mengingat bahwa nilai KHM ketiga sampel tersebut berada pada konsentrasi yang tinggi. Aktivitas antibakteri pada fraksi kloroform, etil asetat serta n-butanol dapat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa metabolit dalam fraksi. Ketiga fraksi tersebut dimungkinkan mengandung senyawa tannin, flavonoid serta terpenoid. Ketiga senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme penghambatan yang berbeda. Tannin sebagai antibakteri memiliki mekanisme penghambatan enzim ekstraselular mikroba dan tannin dapat membentuk ikatan kompleks dengan ion logam sehingga bersifat toksik bagi bakteri (Chung *et al*, 1993 Dalam Akiyama *et al*, 2001). Flavonoid sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma, penghambatan pembentukan biofilm serta perubahan permeabilitas membran (Xie *et al*, 2015). Sedangkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menghambat aktivitas autolysin dengan cara membentuk interaksi atom yang kuat dengan sisi aktif residu (Daisy *et al*, 2008). Selain itu terdapat penelitian yang dilakukan oleh Yageen *et al* (2013) menggunakan fraksi etanol dan kloroform dari buah *Prunus domestica* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi maksimal 2500 μ L. Serta penelitian yang dilakukan oleh Ahn *et al* (2009) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah *Prunus avium* L. memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Sampel ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica* Zieb & Zucc mengandung senyawa metabolit sekunder tannin, flavonoid, terpenoid, dan amilum.
2. Fraksi kloroform buah *Prunus persica* Zieb & Zucc memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM 6250 ppm, fraksi etil asetat memiliki nilai KHM 12500 ppm, fraksi n-butanol memiliki nilai KHM sebesar 25000 ppm dan ekstrak etanol 80%, fraksi air dan seftriakson memiliki nilai KHM sebesar 50000 ppm. Penentuan nilai KBM menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai KBM terendah yaitu pada konsentrasi 12500 ppm, fraksi kloroform pada konsentrasi 25000 ppm, fraksi n-butanol sebesar 50000 ppm serta nilai KBM pada ekstrak etanol 80%, fraksi air dan seftriakson tidak terdapat pada konsentrasi 50000 ppm. Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan nilai KHM seftriakson yaitu 50000 ppm.

7.2 Saran

Hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan sampel ekstrak dan fraksi-fraksi buah *Prunus persica* Zieb & Zucc terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa fraksi kloroform dan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode bioautografi sehingga dapat diketahui golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberg, J.A., Lacy, C.F, Amstrong, L.L, Goldman, M.P, and Lance, L.L., 2009, Drug Information Handbook, 17th edition, Lexi-Comp for the American Pharmacists Association
- Adhianata, H. 2012. Uji Aktivitas Senyawa Anti mikroba Ekstrak Mikroalga (Tetraselmis chuii) Metode Sonikasi. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Al-Bakri A.G., F.U. Afifi. 2007. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. *Journal of Microbiological Methods* 6 (68) : 19-25
- Aljamali, Nagham Mahmood. 2013. Study Effect Of Medical Plant Extract In Comparison With Antibiotic Against Bacteria. *Journal Of Scientific And Innovative Research* 2 (5) : 843-845.
- Ahn, S. M., Ryu, H. Y., Kang, D. K., Jung, I. C. 2009. Antimicrobial and Antioxidant Activity Of The Fruit Of *Prunus avium* L. (Abstract). *Korean Journal Of Microbiology and Biotechnology* : 1598-642.
- Aziz, Sumaira., Habib-Ur-Rahman. 2013. Biological Activities Of *Prunus persica* L. Batch. *Journal Of Medical Plants Research* 7 (15) : 947-951.
- Backer C. A., Bakhuizen, Brink, V. D. 1963. *Flora of Java*. Springer, Netherlands.
- Baker C.N., S.A. Stocker, D.H. Culver, et al. 1991. Comparison Of The E Test To Agar Dilution, Broth Microdilution, and Agar Diffusion Susceptibility Testing Techniques By Using A Special Challenge Set Of Bacteria. *Journal Of Clinical Microbiology* 4 (29) : 533-538
- Balouiri, Mounyr., Moulay, Sadiki., Saad, Koraichi Ibensouda. 2016. Methods for invitro evaluating antimicrobial activity : A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2 (6) : 71-79
- Batoro, J. 2012. Etnobiologi Masyarakat Tengger di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Belhadj, Feten., Somrani, Imen., Aissaoui, Neyssene., Messaoud, Chokri., Boussaid, Mohamed., Marzouki, M. Nejib. 2016. Bioactive Compounds Contents, Antioxidant And Antimicrobial Activities During Ripening Of *Prunus persica* L. Varieties From The North West Of Tunisia. (Abstract). *Journal Food Chemistry* 3 (204) : 29-36.

Bhalodia, N. R., & Shukla, V. J. (2011). Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 2 (2) : 104–109.

Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., Wei, C. I. 1993. Growth Inhibition Of Selected Food-Borne Bacteria by Tannic Acid, Propyl Gallate and Related Compounds. *Letters in Applied Microbiology* 17, p 29-30 in Akiyama, Hisanori., Fujii, Kazuyasu., Yamasaki, Osamu., Oono, Takashi., Iwatsuki, Keiji. 2001. Antibacterial Action Of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotraphy* 2 (48) : 487-491.

CLSI. 2004. *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline*. CLSI document M44-A. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.

CLSI. 2012. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard, 9th ed.*, CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.

CLSI. 2015. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed.*, CLSI document M02-A12. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.

Daisy, P., Mathew, Salu., Suveena, S., Rayan, A. Nirmala. 2008. A Novel Terpenoid From *Elephantopus scaber* – Antibacterial Activity On *Staphylococcus aureus*: A Substantiate Computational Approach. *International Journal Biomed Science* 4 (3) : 196-203.

Devendra B. N., N. Srinivas, V. S. S. L. Prasad., Taluri ., P. Swarna Latha. 2011.

Antimicrobial Activity Of *Moringa oleifera* Lam Leaf Extract Against Selected Bacterial And Fungal Strains. *International Journal Of Pharma and Bio Sciences* 2 (3) : 104-111

Dewi, Apprilliana Sari. 2007. Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol The Hijau Melalui Penangkapan Radikal Hidroksil Dengan Metode Deoksiribosa. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

Dipiro, J. T. 2009. Pharmacoterapy Handbook 7th edition. Mc Graw Hill. New York.

Edrah S., Alafid F., and Kumar A. 2013. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* and *Prunus persica* Plants of Libyan Origin. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 3 (3) : 2319-7064.

Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid Empat*. UI Press. Jakarta.

Handa SS. 2008. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants in Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International centre for science and high technology*, Trieste hal 21-25.

Hidayat, A., Bhagawan, WS., dan Umiyah. 2011. *Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang*. Presented at Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XIX, 11-12 Oktober 2011, Samarinda.

Hussain, Talab., Baba, Irshad Ahmad., Jain, S.M., Wani, Arif. 2015. Phytochemical Screening Of Methanolic Extract of *Prunus Persica*. *International Journal of Scientific Research* 4 (3) : 144-154.

Kahne D., Leimkuhler C., Lu W. & Walsh C. 2005. Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chemical Review* 105 (2) : 425-448.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology* 33 (3) : 300–305.

Kementrian Kesehatan. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, hal. 7

Kementrian Kesehatan. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2014*. Jakarta, hal. 354

Kim, S. 2013. In Vitro Bactericidal Effects Of 625, 525, and 425 nm Wavelength (Red, Green, and Blue) Light-Emitting Diode Irradiation. *Photomedicine and Laser Surgery* 31 (11) : 554-562

Koirewoa, Y. A., Fatimawali, W. I. Wiyono, 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Journal UNSRAT* 1 (1) : 44-56.

Kumar, Nitin., Chaudhary, Anurag. 2015. Evaluation Of Anthelmintic Activity Of *Prunus persica* (L). *Asian Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research* 8 (5) : 203-212.

Lumempouwa, L.I., E. Suryantoa, and J.J.E. Paendonga. 2012. Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 1(1) : 1-4.

Maher, Obeidat., Mohamad Shatnawi., Mohammad Al-alawi., Enas Al-Zu'bi., Haneer Al-Dmoor., Maisa Al-Qudah., Jafar El-Qudah dan Ismael Otri, 2012. Antimicrobial Activity of Crude Extracts of Some Plant Leaves. *Research Journal of Microbiology*, 7 (22) : 59-67.

Mathabe, M.C, Nikolova, R. V, Lall, Nyazema. 2005. Antibacterial activities of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea in Limpopo Province, South Africa. *Journal Of Pharmacology* 105 (34) : 286-293.

Meat and Livestock. 2006. *Pedoman Untuk Pemberian Pakan Sapi Ternak Asia Tenggara*. Meat and Livestock Australia Ltd : Australia.

Nazzaro F., F. Fratianni, L. De Martino, et al. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6 (12) : 1451-1474.

Ncube NS, Afolayan AJ, Okoh AI. 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology* 7 (12) : 1797-1806.

Neu HC, Gootz TD. 2001. *Antimicrobial chemotherapy*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX) : University of Texas Medical Branch at Galveston; Chapter 11.

Nijs A., R. Cartuyvels, A. Mewis, et al. 2003. Comparison and evaluation of Osiris and Sirscan 2000 antimicrobial susceptibility systems in the clinical microbiology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* 41 (6) : 3627-3630

Noorhamdani. 2012. Uropathogen And Antibiotics Resistant Pattern Of Bacteria Isolated From Urine Of Urinary Tract Infection Patients In RSUD Dr. Syaiful Anwar. Disertasi. Tidak Diterbitkan, Universitas Brawijaya. Malang.

Nouwen, J. L. (2006). Controlling Antibiotic Use and Resistance. *Clinical Infectious Disease* 42 (12) : 776-777.

Oyetayo, A. M., Bada, S.O. 2017. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Of *Prunus avium* Extracts Against Selected Human Pathogens. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research* 4(1) : 1-8.

Patel U, Yan Y. P., Hobbs F. W. Jr., Kaczmarczyk J., Slee A. M., Pompliano D. L., Kurilla M. G. & Bobkova E. V. 2001. Oxazolidinones mechanism of action: Inhibition of the first peptide bond formation. *Journal of Biological Chemistry*. 276 (40) : 37199-37205.

Pfaller M.A., D.J. Sheehan, J.H. Rex. 2004. Determination of fungicidal activities against yeasts and molds: lessons learned from bactericidal testing and the need for standardization. *Clinical Microbiology* 17 (7) : 268-280.

Prabuseenivasan, Seenivasan., Jayakumar, Manickkam., Ignacimuthu, Savarimuthu. 2006. In Vitro Antibacterial Activity Of Some Plant Essential Oils. *Bmc Complementary and Alternative Medicine* 6 (23) : 39.

Raturi, Rakesh., Harpreet, Singh., P. Bahuguna., S.C. Sati., P.P. Badoni. 2011. Antibacterial and antioxidant activity of methanolic extract of bark of *Prunus Persica*. *Journal of Applied and Natural Science* 3 (2) : 312-314.

Rawat, Deepti., Nair, Deepthi. 2010. Extended Spectrum β -Lactamase In Gram Negative Bacteria. *Journal Of Global Infectious Disease* 2 (3) : 263-274.

Ristianingsih, Yuli., Nata, Iryanti, F., Anshori, Dian, S., Putra, Andhika, I, P. 2014. Pengaruh Konsentrasi HCl dan Ph Pada Ekstraksi Pektin Dari Albedo Durian dan Aplikasinya Pada Proses Pengentalan Karet. *Konversi* 3 (1) : 31.

Romadanu., Rachmawati, Siti Hanggita., Lestrasi, Shanti Dwita. 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal Fishtech* 3 (1) : 133-144.

Thamrin, H.R., Nani S., Agnes M.L., Ruslan A., Ketut R., Sumarsono, Sherley, Sri H., Reen W.N., Tepy U. 2006. *Pokok Pemikiran Menuju Integrasi Obat Asli/Obat Bahan Alam Indonesia ke dalam Pelayanan Kesehatan*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Deputy Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen: 1.

Vogel, A.I., Tatchell, A.R., Furnis, B.S., Hannaford, A.J. and Smith. 1996. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Edition. Prentice Hall in Bhagawan W.S. 2017. Skrining Etnofarmakologi Berbagai Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc.) Pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentery* Sebagai Antidiare. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Waziroh, Elok., Ali, Dego, Y., Istianah, Nur. 2017. *Proses Termal Pada Pengolahan Pangan*. Universitas Brawijaya Press. Universitas Brawijaya. Malang.

WHO, 2017, Diarrhoeal disease, diakses dari
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> pada 23 Mei
2017.

Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L., 2015. Antibacterial Activities Of
Flavonoids : Structure-Activity Relationship And Mechanism. (Abstract).
Current Medical Chemistry, 22 (1) : 132-49.

Yaqeen, Z., Naqvi, NU., Sohail, T., Rehman, ZU., Fatima, N., Imran, H., Rehman,
A. 2013. Screening Of Solvent Dependent Antibacterial Activity Of *Prunus*
domestica. (Abstract). *Pak Journal Pharmacy Science*. 26(2) : 409-14

Zein, Umar., Sagala, Khilaid Huda., Ginting, Josia. 2004. Diare Akut Disebabkan
Bakteri. Fakultas Kedokteran Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu
Penyakit Dalam. Disertasi. Tidak diterbitkan, Universitas Sumatera Utara.
Sumatera Utara.