

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH JAMBU
WER (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Rahmania Nadia Sari

NIM: 145070507111015

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018



DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xv
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik.....	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik	7
2.1.1 Definisi Antibiotik	7
2.1.2 Mekanisme Kerja Antibiotik	8
2.1.3 Resistensi Antibiotik	10
2.1.4 Epidemiologi Resistensi Antibiotik	12
2.2 Jambu Wer	
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	13
2.2.2 Aktivitas Farmakologi.....	14
2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi	
2.4.1 Metode Ekstraksi	19
2.4.2 Pemilihan Jenis Pelarut	22
2.4.3 Fraksinasi	23
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	
2.5.1 Definisi KLT	24
2.5.2 Analisis KLT	24
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	
2.6.1 Metode Difusi	26
2.6.2 Metode Dilusi.....	27

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Hipotesis Penelitian	32

BAB 4 METODE PENELITIAN

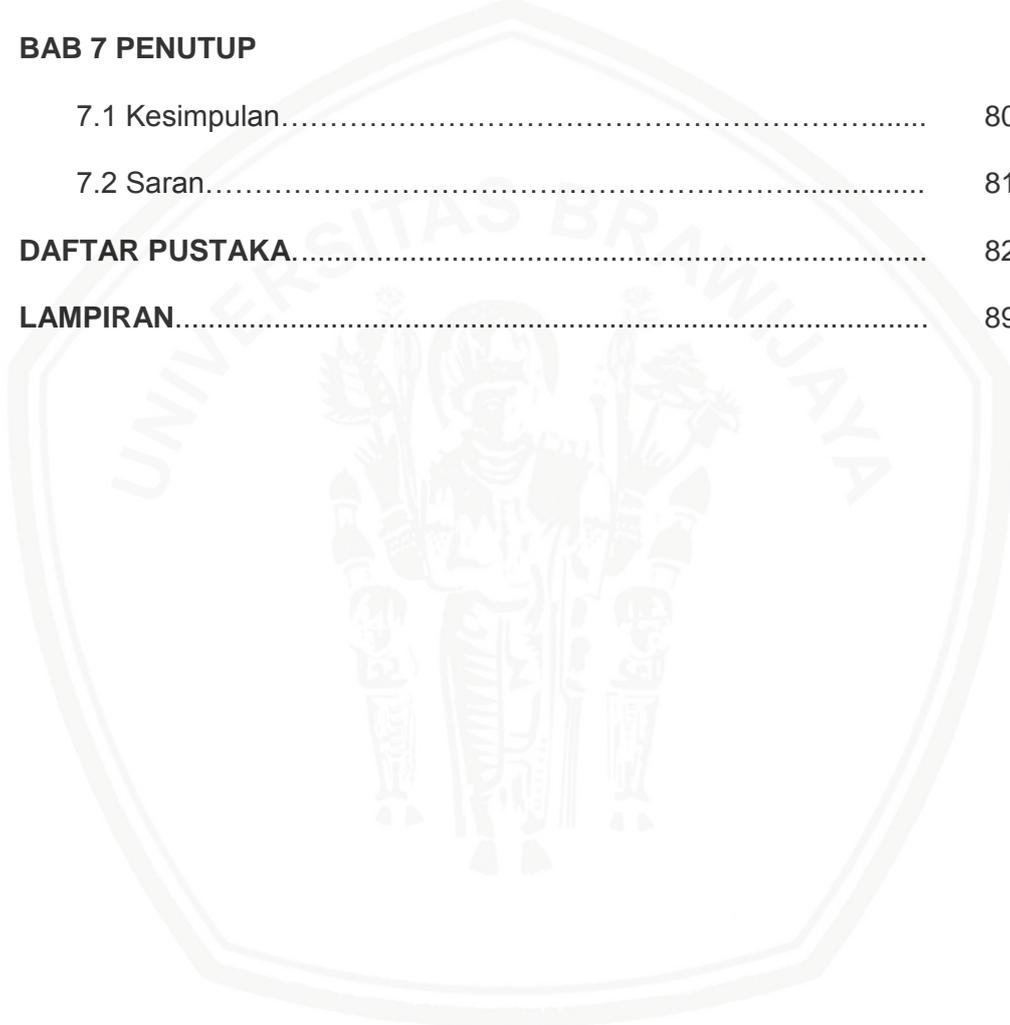
4.1 Rancangan Penelitian	33
--------------------------------	----

4.2 Sampel Penelitian	33
4.3 Variabel Penelitian	33
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	34
4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian	34
4.6 Definisi Operasional.....	36
4.7 Prosedur Penelitian.....	37
4.7.1 Maserasi Jambu Wer.....	37
4.7.2 Fraksinasi Ekstrak Jambu Wer.....	38
4.7.3 Screening Fitokimia.....	40
4.7.4 Preparasi Sampel Ekstrak dan Fraksi	42
4.7.5 Uji Antibakteri dengan Mengukur Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Metode Mikrodilusi.....	42
4.8 Alur Penelitian.....	50

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Ekstraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.)	51
5.2 Fraksinasi Ekstrak Etanol 80% Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc)	51
5.3 Screening Fitokimia.....	52
5.3.1 Golongan Antraquinon.....	52
5.3.2 Senyawa Amilum.....	53
5.3.3 Golongan Sapogenin Steroid.....	53
5.3.4 Golongan Flavonoid.....	55
5.3.5 Golongan Terpenoid.....	57
5.3.6 Screening Tanin dan Polifenol.....	58
5.3.7 Golongan Alkaloid.....	59

5.4 Hasil Optimasi Fase Gerak KLT.....	63
5.5 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi.....	64
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	68
6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian.....	78
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	80
7.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA.....	82
LAMPIRAN.....	89



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Antibiotik berdasarkan Mekanisme Aksi.....	9
Tabel 2.3 Antibiotik Empiris pada Diare Akut Infeksi.....	18
Tabel 4.7.3 Screening Fitokimia.....	40
Tabel 4.7.4.1 Nilai Persen Hambatan terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Tabel 5.1. Presentase Rendemen Ekstrak.....	51
Tabel 5.2. Berat Hasil Fraksinasi.....	52
Tabel 5.3 Data Hasil Screening Fitokimia Ekstrak Etanol 80% Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.).....	61
Tabel 5.4 Fase Gerak Hasil Optimasi untuk Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.)	64
Tabel 5.5.1.1 Nilai Persen Hambatan Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Tabel 5.5.1.2 Hasil Uji Kadar Hambat Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	66
Tabel 5.5.2.1 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.) pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	66
Tabel 5.5.2.2 Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.)	67

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
Gambar 5.1 Ekstrak Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb& Zucc.).....	51
Gambar 5.3.1 Hasil Uji KLT Antraquinon.....	51
Gambar 5.3.2.1 Hasil Uji Amilum	52
Gambar 5.3.2.2 Uji Amilum Secara Mikroskopik Dengan Perbesaran 400x.....	52
Gambar 5.3.3.1 Hasil Uji KLT Sapogenin Sebelum Diberi Pereaksi Anisaldehida Asam Sulfat.....	53
Gambar 5.3.3.2 Hasil Uji KLT Sapogenin Setelah Diberi Pereaksi Anisaldehida Asam Sulfat.....	54
Gambar 5.3.4.1 Hasil Uji KLT Flavonoid Setelah Diberi Uap Amonia.....	54
Gambar 5.3.4.2 Hasil KLT Flavonoid.....	55
Gambar 5.2.5 Hasil KLT Terpenoid.....	56
Gambar 5.3.6.1 Hasil KLT Polifenol.....	57
Gambar 5.3.6.2 Hasil Screening Tanin.....	58
Gambar 5.3.7.1 Hasil KLT Uji Alkaloid Non Preparatif.....	59
Gambar 5.3.7.2 Hasil KLT Uji Alkaloid Preparatif.....	59
Gambar 5.4 Hasil Optimasi Fase Gerak KLT.....	62
Gambar 5.5.2 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Sieb.&Zucc) pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	104

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	<i>The American Type Culture Collection</i>
DMSO	Dimetil sulfoksida
EARS-Net	<i>European Antimicrobial Resistance Surveillance Network</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
<i>ELISA Reader</i>	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay Reader</i>
FeCl ₃	Besi(III) Klorida
FKUB	Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
HCl	Asam Klorida
IKI	<i>Iodine/Potassium Iodide</i>
KBM	Kadar Bunuh Minimal
KHM	Kadar Hambat Minimal
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
MBC	<i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
MHB	<i>Mueller Hinton Broth</i>
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MRSA	<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NaCl	Natrium Klorida
NH ₄ OH	Amonia
OD	<i>Optical Density</i>
Rf	<i>Retention Factor</i>



RSU	Rumah Sakit Umum
Rotavapor	<i>Rotary Evaporator</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Proses Ekstraksi.....	89
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 80% Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> Zieb&Zucc.).....	89
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus</i> <i>persica</i> Zieb&Zucc.).....	90
Lampiran 4. Cara Pembuatan Pelarut DMSO 10%.....	90
Lampiran 5. Preparasi Sampel Ekstrak dan Fraksi.....	90
Lampiran 6. Perhitungan Konsentrasi.....	91
Lampiran 7. Urutan Pengolahan Data.....	92
Lampiran 8. Data <i>Optical Density</i> Sampel tanpa Bakteri Sebelum Pengolahan Data.....	93
Lampiran 9. Data <i>Optical Density</i> Sampel tanpa Bakteri Setelah Pengolahan Data.....	96
Lampiran 10. Perhitungan Daya Hambat Bakteri Sebelum Pengolahan Data.....	98
Lampiran 11. Perhitungan Daya Hambat Bakteri Setelah Pengolahan Data.....	101
Lampiran 12. Rumus Persen Hambatan.....	104
Lampiran 13. Grafik Persen Hambatan Bakteri.....	104
Lampiran 14. Gambar Hasil Uji Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	106

Lampiran 15. Nilai Rf dan Warna Spot.....	107
Lampiran 16. Sertifikat Bakteri.....	109
Lampiran 17. Peta Mikrodilusi.....	110



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH JAMBU WER
(*Prunus persica* Zieb&Zucc.) PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC
25923

Oleh:

Rahmania Nadia Sari
145070507111015

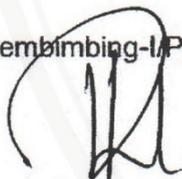
Telah diuji pada
Hari : Selasa
Tanggal : 17 Juli 2018
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I



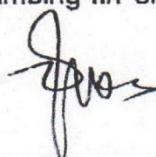
Bachtiar Rifa'i P.I., M.Farm., Apt.
NIP. 2012058709291001

Pembimbing-I/Penguji-II



Rudy Salam, S.Farm., M.Biomed., Apt.
NIP. 2009128506121001

Pembimbing-II/Penguji-III



Uswatun Khasanah, M.Farm., Apt.
NIP. 2011068512222001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,



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



ABSTRAK

Sari, Rahmania Nadia. 2018 . Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya . Pembimbing: (1) Rudy Salam, S.Farm., M.Biomed., Apt. (2) Uswatun Khasanah, M.Farm., Apt. (3) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

Antibiotik adalah substansi kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang dapat mematikan serta menghambat pertumbuhan dari bakteri. Kasus resistensi antibiotik merupakan masalah yang dihadapi Indonesia dan dunia saat ini. Seiring dengan meningkatnya kasus resistensi antibiotik, penelitian terkait dengan pengembangan antibiotik semakin meningkat, salah satu pendekatan yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa baru yang berasal dari bahan alam, yaitu menggunakan pendekatan *etnomedicine*. Salah satu tanaman yang digunakan adalah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang termasuk dalam family Rosaceae yang tumbuh di Indonesia. Tujuan dari penelitian adalah untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan melihat nilai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Fraksi yang digunakan adalah fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan fraksi air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah jambu wer mengandung metabolit sekunder flavonoid, tanin, amilum, dan terpenoid. Metode untuk menguji aktivitas antibakteri adalah metode mikrodilusi, Ekstrak dan fraksi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap ekstrak dan fraksi n-butanol dengan KHM pada konsentrasi 50000 ppm, fraksi etil asetat dan fraksi kloroform dengan KHM pada konsentrasi 12500 ppm. Sedangkan nilai KBM ekstrak dan fraksi kloroform pada konsentrasi 25000 ppm, nilai KBM fraksi etil asetat dan n-butanol pada konsentrasi 50000 ppm. Kontrol positif yang digunakan adalah seftriakson dengan nilai KHM dan KBM pada konsentrasi 50000 ppm dan 6250 ppm. Dapat disimpulkan terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, dan n-butanol) buah jambu wer.

Kata kunci: *Prunus persica* Zieb&Zucc., Antibakteri, Jambu Wer, Mikrodilusi, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Sari, Rahmania Nadia. 2018 . *The Antibacterial Activity Extract and Fraction Jambu Wer (Prunus Persica Zieb&Zucc.) In Bacteria Staphylococcus aureus ATCC 25923* . Thesis . Pharmacy Program of Medical Faculty Brawijaya University. Adviser: (1) Rudy Salam, S.Farm., M.Biomed., Apt. (2) Uswatun Khasanah, M.Farm., Apt. (3) Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

An antibiotic is chemical substances which produced by fungi and bacteria that could lead to the death as well as impeding growth from bacteria. The antibiotic resistance is a problem faced by Indonesia and the world. Fueled by a rise in cases of antibiotic resistance, associated with the development of the antibiotic is much higher, one approach undertaken to gain new compounds derived from natural materials, that is using *etnomedicine* approach .One of the plants used jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) included in the family Rosaceae that is growing in Indonesia. General objectives of the study is in order to test the antibacterial activity extract and fraction the fruit of jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) in bacteria *Staphylococcus aureus* saw the value minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Fraction that used for identification are chloroform fraction, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction, and water fraction. The research results showed that extracts of jambu wer containing a metabolite secondary flavonoid, tannin, amyllum, and terpenoids. Extract and fraction showed that antibacterial activity in extract and n-butanol fraction with MIC in concentration 50000 ppm, ethyl acetate fraction and chloroform fraction with MIC in concentration 12500 ppm. While the value of MBC extract and chloroform fraction in 25000 ppm, ethyl acetate fraction and n-butanol fraction in 50000 ppm. Positive control that used is ceftriaxone, MIC and MBC activity in concentration 50000 ppm and 6250 ppm. It was concluded that there was antibacterial activity in extract and fraction (chloroform, ethyl acetate, and n-butanol) fruit of jambu wer.

Keywords: *Prunus persica* Zieb&Zucc., *Antibacterial*, *Jambu Wer*, *Microdilution*, *Staphylococcus aureus*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antibiotik merupakan sebuah agen yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Agen antibiotik ini dapat berupa senyawa kimia maupun senyawa fisika. Antibiotik ini akan mengganggu pertumbuhan dan reproduksi patogen penyebab infeksi seperti bakteri (M.Lindsay, 2017). Antibiotik adalah substansi kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang dapat mematikan serta menghambat pertumbuhan dari bakteri, sedangkan relatif rendah toksisitasnya bagi manusia yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat mikroorganisme lainnya (Tjay & Rahardja, 2007). Resistensi antibiotik adalah suatu keadaan dimana pengaruh obat antibiotik terhadap bakteri berkurang khasiatnya atau bakteri tersebut tidak sensitif oleh perlakuan obat antibiotik. Resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dalam dosis terapi (WHO, 2017).

Kasus resistensi antibiotik merupakan masalah yang dihadapi Indonesia dan dunia saat ini, baik pada negara maju maupun negara berkembang seperti Indonesia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)* pada tahun 2014 dilakukan penelitian terhadap bakteri patogen salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian tersebut melaporkan di 29 negara dengan 40.414 isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dihasilkan terjadi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* berkisar antara 0,9% (Belanda) sampai 56%

(Rumania). Secara keseluruhan dilaporkan MRSA dijumpai <1% di satu negara, 1-5% di enam negara, 5-10% di tiga negara, 10-25% di duabelas negara, 25-50% di enam negara, dan > 50% di satu negara (ECDC, 2014).

Di Indonesia sendiri, resistensi antibiotik juga marak di masyarakat. Pada penelitian Refdanita (2004) yang dilakukan di ruang rawat intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta, secara retrospektif terhadap data hasil uji kepekaan antibiotika dan jenis bakteri dari 205 pasien dalam kurun waktu 2001-2002. Dalam penelitian tersebut sampel diambil dari catatan medis pasien yang menerima antibiotika dan mempunyai hasil uji bakteri dan kepekaannya terhadap antibiotika. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jenis bakteri patogen *Staphylococcus aureus* mempunyai resistensi tertinggi terhadap antibiotik, seperti amoksisilin dan ampisilin. Di Malang, telah dilakukan penelitian di RSUD Saiful Anwar pada tahun 2000-2001 dan 2004-2005 yaitu uji resistensi antibakteri menggunakan metode difusi cakram sesuai *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (1997). Hasil kultur darah pasien dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi FKUB pada tahun 2000-2001 dengan menunjukkan bahwa dari 650 sampel darah yang dikirim diperoleh 86 sampel kultur positif resisten terhadap antibiotik amikasin dan netilmisin (13,02%) sedangkan pada tahun 2004-2005 menunjukkan bahwa dari 1063 sampel darah yang dikirim diperoleh 82 sampel kultur positif resisten terhadap antibiotik amikasin dan netilmisin (7,7%).

Seiring dengan meningkatnya kasus resistensi antibiotik, penelitian terkait dengan pengembangan antibiotik semakin meningkat, salah satu pendekatan yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa baru yang berasal dari bahan alam, yaitu menggunakan pendekatan *etnomedicine*. *Etnomedicine* adalah cabang antropologi medis yang membahas tentang asal mula penyakit, sebab-sebab dan

cara pengobatan menurut kelompok masyarakat tertentu. Penelitian ini dilakukan oleh Batoro *et al.*, (2011), penelitian dilaksanakan di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur mendapatkan hasil bahwa masyarakat Suku Tengger menggunakan 118 jenis obat bahan alam untuk mengatasi 60 gejala penyakit, salah satu tanaman yang digunakan oleh Suku Tengger adalah jambu wer (*Prunus persica* Sieb.& Zucc.). Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) termasuk dalam famili Rosaceae yang tumbuh di Indonesia, salah satunya di Wilayah Taman Nasional Bromo Tengger Semeru Jawa Timur. Masyarakat Suku Tengger memanfaatkan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) sebagai obat antidiare. Diare dapat disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah bakteri yang terdapat di dalam usus, seperti *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, dan *Yersinia* (Schiller *et al.*, 2016).

Penelitian terdahulu mengenai antibakteri yang terkait dengan Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yaitu pada ekstrak butanol dari *Prunus armeniaca* (Famili Rosaceae) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Micrococcus luteus* dengan nilai penghambatan yaitu 31.25 µg/mL. Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Raturi, et al. (2011) melaporkan bahwa ekstrak methanol dari kulit batang *Prunus persica* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri gram negative *Klebsella pneumonia*, dengan diameter penghambatan bakteri yaitu (22-23.5 mm), (15-19 mm), (15.5-18.5 mm), dan (23-25 mm). Penelitian lain yang dilakukan Zahoor *et al.*, (2014) menyatakan bahwa madu dari bunga *Prunus persica* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter penghambatan yaitu 7,6 mm yang dilakukan dengan metode difusi sumuran.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian adalah etanol 80%, karena etanol 80% bersifat universal serta aman digunakan. Selain itu hal ini dikarenakan senyawa golongan alkohol seperti etanol memiliki kemampuan mengekstraksi senyawa polar maupun non polar, dimana pada ekstrak buah jambu wer belum diketahui senyawa apa yang terkandung didalamnya (Suryantoa, 2012). Metode untuk menghasilkan ekstrak buah jambu wer adalah dengan metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi cara dingin dengan tujuan untuk menyari senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia serbuk jambu wer dengan optimal. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut kloroform, etil asetat, n-butanol, dan air. Tujuan proses fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa yang telah terekstraksi berdasarkan tingkat kepolaran dengan menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan tingkat kepolaran. Metode yang dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah jambu wer pada bakteri *Staphylococcus aureus* adalah metode mikrodilusi. Mikrodilusi merupakan aplikasi dari uji dilusi dengan menggunakan plat mikrodilusi dengan kapasitas $\leq 500 \mu\text{L}$ tiap sumurannya (CLSI, 2012). Kelebihan dari metode mikrodilusi adalah dapat memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri, sampel yang digunakan sedikit, dan memiliki sensitivitas yang lebih baik dari metode uji aktivitas antibakteri lainnya.

Namun hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara khusus menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian lain sudah dilakukan tetapi dengan spesies yang berbeda. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh Raturi (2011) adalah bagian yang

digunakan untuk diuji. Apabila penelitian sebelumnya sudah melakukan penelitian pada bagian kulit batang *Prunus persica*, pada penelitian ini akan dilakukan pada buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

1. apakah terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada *Staphylococcus aureus* ?
2. senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) ?
3. erapakah nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

1.3.1.1

engetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-

butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1

engetahui karakterisasi golongan senyawa dalam ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) melalui metode Kromatografi Lapis Tipis.

1.3.2.2

engetahui nilai Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus* melalui metode mikrodilusi.

1.4

manfaat

1.4.1

manfaat Akademik

1.4.1.1

Memberikan bukti ilmiah terhadap penggunaan jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) untuk diare secara empiris di Suku Tengger

1.4.1.2

Pengembangan ilmu fitokimia dan mikrobiologi.

1.4.1.3

Dasar pengembangan ide penelitian selanjutnya mengenai manfaat buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) sebagai obat diare infeksi,

1.4.2

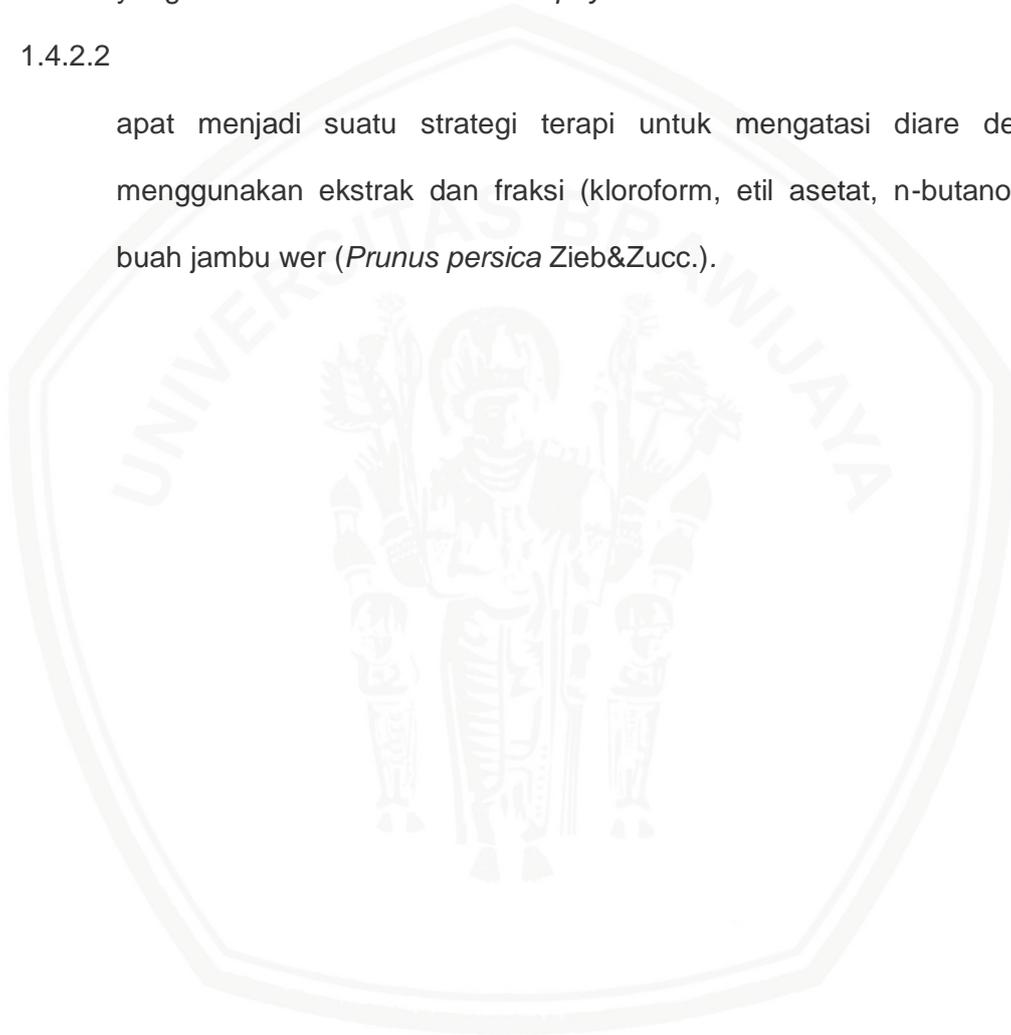
manfaat Praktis

1.4.2.1

engembangan penelitian antibakteri baru yang berasal dari jambu wer yang memiliki efek antibakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4.2.2

apat menjadi suatu strategi terapi untuk mengatasi diare dengan menggunakan ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.).



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik

2.1.1 Definisi Antibiotik

Antibiotik merupakan sebuah agen yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Agen antibiotik ini dapat berupa senyawa kimia maupun senyawa fisika. Antibiotik ini akan mengganggu pertumbuhan dan reproduksi patogen penyebab infeksi seperti bakteri (Katzung, 2007). Antibiotik berasal dari kata Yunani tua, merupakan gabungan dari kata anti (lawan) dan bios (hidup). Apabila diterjemahkan memiliki arti “melawan sesuatu yang hidup”. Antibiotik sendiri biasa digunakan sebagai obat infeksi yang disebabkan oleh bakteri atau protozoa. Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu bakteri, terutama fungi atau jamur yang dapat menghambat bakteri jenis lain. Saat ini antibiotik banyak dibuat secara semisintetik ataupun sintetik penuh. Namun dalam dunia praktek, antibiotik sintetik tidak diturunkan dari produk mikroba. Antibiotik adalah terapi yang digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi terhadap bakteri (WHO, 2017). Antibiotik adalah substansi kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang dapat mematikan serta menghambat pertumbuhan dari bakteri, sedangkan relatif rendah toksisitasnya bagi manusia yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat mikroorganisme lainnya (Tjay & Rahardja, 2007). Menurut Mims, et al. (2004) antibiotik merupakan suatu substansi kimia yang dibentuk atau

diperoleh dari berbagai mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat mikroorganisme lainnya.

2.1.2 Mekanisme Kerja Antibiotik

Cara kerja antibiotik secara umum dibagi menjadi dua yaitu bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik yaitu aktivitas antibiotik dengan menghambat pertumbuhan mikroba. Sedangkan bakterisidal yaitu aktivitas antibiotik dengan membunuh mikroba (Sylvia, 2008). Antibiotik memiliki cara kerja yang berbeda – beda dalam menghambat atau membunuh bakteri. Klasifikasi antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu: (Wibawa, 2015)

- a. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat dinding sel bakteri.
Contoh: penisilin, cephalosporin, carbapenem, monobactam dan vancomycin.
- b. Antibiotik yang bekerja dengan merusak membrane sel mikroorganisme yaitu dengan cara merusak permeabilitas membran sel. Contoh: polymixin.
- c. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis protein mikroorganisme dengan cara mempengaruhi subunit ribosom 30S dan 50S. Sehingga menyebabkan terjadinya hambatan dalam sintesis protein secara reversibel. Contoh: chloramphenicol yang bersifat bakterisidal terhadap mikroorganisme lainnya, serta macrolide, tetracycline dan clindamycine yang bersifat bakteriostatik. Sedangkan, antibiotik yang bekerja dengan mengikat subunit ribosom 30S. Antibiotik ini menghambat sintesis protein dan mengakibatkan kematian sel. Contoh: aminoglycoside yang bersifat bakterisidal.

- d. Antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Contoh: rifampicin yang menghambat sintesis RNA polimerase dan kuinolon yang menghambat topoisomerase. Keduanya bersifat bakterisidal.
- e. Antibiotik yang menghambat enzim yang berperan dalam metabolisme folat. Contohnya adalah trimethoprim dan sulfonamide. Keduanya bersifat bakteriostatik

Tabel 2.1 Klasifikasi Antibiotik berdasarkan Mekanisme Aksi (Wibawa, 2015).

Penghambat Sintesis Dinding Sel	
Penisilin Bersifat bakterisidal dengan memblokir <i>cross linking</i> via penghambatan kompetitif enzim transpeptidase	
Kategori berdasar Mekanisme Aksi	Antibiotik
Penisilin	Penisilin G, Aqueous penicillin G, Procaine penicillin G, Benzathine penicillin G, dan Penicillin V
Aminopenisilin	Ampisilin dan Amoksisilin
<i>Penicillinase-resistant-penicillins</i>	Metisilin, Nafsilin, Oksasilin, Cloksasilin, dan Dikloksasilin
Sefalosporin Bersifat bakterisidal dengan menghambat sintesis dinding sel bakterivia penghambatan kompetitif enzim transpeptidase enzyme	
Generasi pertama	Sefazolin dan Sefaleksin
Generasi kedua	Sefoksitin, Sefaklor, dan Sefuroksim
Generasi ketiga	Seftriakson, Sefotaksim, dan Seftazidime
Penghambat Dinding Sel Lainnya	
Vancomycin (Bersifat bakterisidal bekerja dengan menghambat peptidoglikan <i>cross linkage</i>)	Vancomycin
Penghambat Beta Laktamase (Bersifat bakterisidal, bekerja dengan menghambat <i>cross linking</i>)	Asam klavulanat, Sulbactam, dan Tazobactam
Carbapenem	Imipenem, Meropenem, Doripenem, dan Ertapenem
Aztreonam	Aztreonam
Polimiksin	Polimiksin B dan Polimiksin E
Bacitracin	Bacitracin

Penghambat Sintesis Protein	
Mentarget Ribosom Subunit 30S	
Aminoglikosida (Bersifat bakterisidal)	Gentamisin, Neomisin, Amikasin, Tobramisin, dan Streptomisin
Tetrasiklin (Bersifat bakteriostatik)	Tetrasiklin, Doksisisiklin, Minosiklin, dan Demeklosiklin
Mentarget Ribosom Subunit 50S	
Makrolida (Bersifat bakteriostatik)	Eritromisin, Azitromisin, Klaritomisin

2.1.3 Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik adalah kemampuan dari suatu mikroorganisme (seperti virus, bakteri, dan beberapa parasit) untuk menghentikan kerja antimikroba (seperti antibiotik, antivirus dan antimalarial) dari mekanisme kerja yang seharusnya. Akibatnya, standar pengobatan menjadi tidak efektif, infeksi tetap bertahan dan dapat menyebar ke orang lain. Resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dengan dosis terapi (WHO, 2017). Mekanisme dari resistensi bakteri terhadap antibiotik yaitu terjadi perubahan tempat kerja obat terhadap bakteri, bakteri menurunkan permeabilitasnya sehingga obat yang diberikan sulit masuk ke dalam sel, inaktivasi antibiotik oleh bakteri, meningkatnya produksi enzim yang menghambat kerja antibiotika dan bakteri membentuk penghambat kerja antibiotik (Blair, 2015).

Penyebab resistensi antibiotik secara umum adalah cara penggunaan antibiotik yang tidak diketahui masyarakat. Saat ini, antibiotik dapat dibeli bebas. Hal ini akan menyebabkan bakteri menjadi kebal atau resisten terhadap antibiotik apabila tidak digunakan secara tepat, seperti pemakaian antibiotika yang tidak dihabiskan, atau menebusnya hanya setengah resep. Untuk dapat mengetahui mekanisme resistensi antibiotika penting untuk

memahami bagaimana antibiotik tersebut dapat bekerja. Agen yang terdapat dalam suatu antibiotika bertindak selektif pada fungsi kerja dari bakteri dengan efek yang minimal atau tanpa mempengaruhi fungsi dari *host*. Agen antimikroba yang berbeda dapat bekerja dengan cara yang berbeda (Byarugaba, 2009). Resistensi terhadap suatu bakteri merupakan suatu masalah yang harus mendapat perhatian khusus karena dapat menyebabkan terjadinya suatu kegagalan terapi dengan antibiotika. Berbagai strategi disusun untuk mengatasi masalah resistensi antibiotic, salah satunya yaitu dengan mencari antibiotika yang baru atau menciptakan antibiotika semisintetik. Meskipun demikian, strategi ini belum dapat memecahkan masalah resistensi karena kehadiran antibiotika baru juga diikuti jenis bakteri sebagai suatu pertahanan hidup. Penggunaan berbagai macam antibiotika yang tersedia, dapat menyebabkan jenis bakteri tertentu resisten terhadap lebih dari satu jenis antibiotika.

Bahaya terlalu sering menggunakan antibiotika dalam terapi dapat mengganggu keseimbangan flora normal usus. Dalam usus terdapat pertumbuhan bakteri yang membantu pencernaan dan pembentukan vitamin K. Selain itu, dibagian tertentu tubuh manusia juga hidup bakteri-bakteri jinak yang hidup dengan baik dengan tubuh manusia (simbiosis). Terlalu sering menggunakan antibiotika sebagai terapi akan membunuh seluruh bakteri baik yang bermanfaat dalam tubuh. Apabila jumlah bakteri baik yang bermanfaat bagi tubuh terbasmi, maka keseimbangan mikroorganisme tubuh dapat terganggu, sehingga bakteri, jamur maupun parasit yang tidak menguntungkan untuk tubuh lebih mudah menyerang (Refdanita *et al*, 2004).

2.1.4 Epidemiologi Resistensi Antibiotik

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) pada tahun 2014 melakukan penelitian terhadap 7 patogen yaitu *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter species*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan Enterococci. Hasil penelitian tersebut adalah pada tahun 2014 dilakukan penelitian di 29 negara dengan 73.624 isolat bakteri *Escherichia coli* lebih dari setengah jumlah tersebut mengalami resisten, resisten yang paling sering terjadi pada antibiotik aminopenisilin (amoksisilin dan penisilin). Rentang persentase resistensi berkisar antara 34,7% (Finland)-75% (Bulgaria). Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, pada tahun 2014, 29 negara mengisolasi sebanyak 40.414 isolat, dihasilkan bahwa terjadi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) berkisar antara 0,9% (Belanda) sampai 56% (Rumania). Secara keseluruhan dilaporkan MRSA dijumpai <1% di satu negara, 1-5% di enam negara, 5-10% di tiga negara, 10-25% di duabelas negara, 25-50% di enam negara, dan > 50% di satu negara (ECDC, 2014).

Di Indonesia sendiri, resistensi antibiotik juga marak di masyarakat. Pada penelitian Refdanita (2004) yang dilakukan di ruang rawat intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta, secara retrospektif terhadap data hasil uji kepekaan antibiotika dan jenis bakteri dari 205 pasien dalam kurun waktu 2001-2002. Hasil tersebut menunjukkan bahwa jenis bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus β haemolyticus* dan *Staphylococcus epidermidis* mempunyai resistensi tertinggi terhadap antibiotik, seperti amoksisilin, ampisilin, tetrasiklin, penisilin G dan kloramfenikol.

Sedangkan hasil penelitian yang dilakukan di RSUD Dr Saiful Anwar Malang pada tahun 2000-2001 dan 2004-2005 dengan hasil kultur darah pasien penderita yang dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi FKUB pada tahun 2000-2001 menunjukkan bahwa dari 650 sampel darah yang dikirim diperoleh 86 sampel kultur positif (13,02%) sedangkan pada tahun 2004-2005 menunjukkan bahwa dari 1063 sampel darah yang dikirim diperoleh 82 sampel kultur positif (7,7%). Berikut adalah jenis isolat bakteri yang teridentifikasi kultur positif pada tahun 2000-2001 dari 86 sampel yaitu *Staphylococcus aureus* (15%), *Klebsiella pneumoniae* (15%), *Salmonella Typhi* (1%), *Enterobacter agglomerans* (1%), *Staphylococcus* koagulase negatif (22%), *Acinetobacter anitratus* (15%), *Enterobacter gergoviae* (8%), *Citrobacter freundii* (2%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), *Escherichia coli* (7%), dan *Enterobacter aerogenes* (9%). Sedangkan yang dilakukan pada tahun 2004-2005 jenis isolat bakteri yang diperoleh dari 82 sampel kultur positif yaitu *Staphylococcus aureus* (10%), *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhi*, *Serratia liquefaciens*, *Yersinia pseudotuberculosis* masing-masing 2%, *Enterobacter aerogenes* (15%), *Enterobacter gergoviae* (10%), *Pseudomonas aeruginosa* (4%), *Hafnia alvei* (12%), *Klebsiella pneumoniae* (12%), *Staphylococcus* koagulase negatif (18%), dan *Acinetobacter anitratus* (5%) (Sjoekoer dkk, 2005).

2.2 Jambu Wer

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Rosales
Famili : Rosaceae
Genus : Prunus
Spesies : *Prunus persica* Zieb&Zucc.

Pohon *Prunus persica* Sieb&Zucc. merupakan pohon yang berasal dari China, pohon gugur ini tumbuh untuk ketinggian hamper 25 kaki atau setara dengan 7,7 meter. Pohon ini dapat tumbuh subur didaerah yang hangat, daerah beriklim sedang. Pohon ini banyak dibudidayakan didaerah Asia Barat, Himalaya, India dan Eropa. Tanaman ini memiliki daun yang mengkilap. Terdapat sekitar 100 marga dan 3.000 spesies dalam keluarga Rosaceae. Masyarakat Suku Tengger yang berada di Kabupaten Probolinggo, Pasuruan, Lumajang dan Malang menyebut tumbuhan buah *Prunus persica* Sieb&Zucc. adalah buah Jambu Wer (Hidayat *et al.*, 2011).

2.2.2 Aktivitas Farmakologi

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Batoro (2011) di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur mendapatkan hasil bahwa buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dimanfaatkan sebagai obat diare oleh masyarakat setempat. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Witjoro (2011) di Desa Kayukebek, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan juga mendapatkan hasil yang sama, bahwa masyarakat setempat memanfaatkan buah Jambu Wer (*Prunus persica*

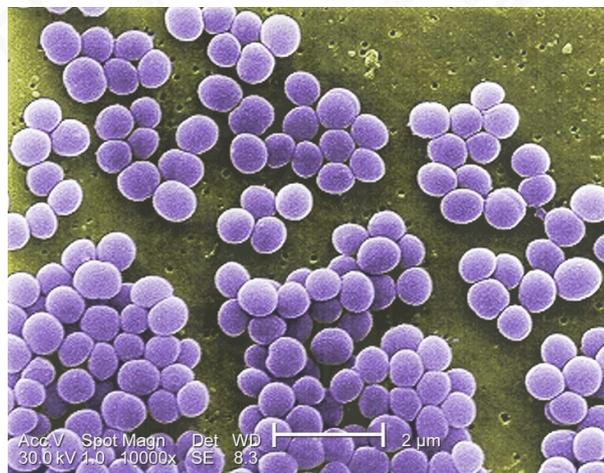
Zieb&Zucc.) sebagai obat diare. Namun penelitian tersebut belum didukung dengan adanya uji klinis secara in vitro maupun in vivo terkait dengan aktivitas farmakologi dari buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) sebagai obat diare. Menurut hasil penelitian dari Edrah *et al.*, (2013) Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) memiliki kandungan kimia saponin, tanin, phlobatanin dan flavonoid. Mekanisme senyawa flavonoid untuk menghasilkan aktivitas farmakologinya yaitu dengan menghambat girase DNA dan menghambat fungsi membran. Sedangkan mekanisme senyawa tannin untuk menghasilkan aktivitas farmakologinya yaitu dengan menghambat enzim ekstraselular mikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Raturi, *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstrak methanol dari kulit *Prunus persica* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri gram negative *Kleibselia pneumonia*. Dengan diameter penghambatan bakteri yaitu (22-23.5 mm), (15-19 mm), (15.5-18.5 mm), dan (23-25 mm). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Han, *et al.* (2015) menyatakan bahwa ekstrak dari bunga *Prunus persica* memiliki aktivitas prokinetik (mempercepat pengosongan perut) dengan degranulasi sel mast yang dapat meningkatkan kadar histamin dalam usus.

2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini pertama kali diteliti dan dikembangkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diamati secara lebih rinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era 1880-an. Bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya merupakan flora normal pada kulit manusia. Namun bakteri ini juga terdapat didalam usus manusia (Schiller *et al.*, 2016). Genus *Staphylococcus* sedikitnya memiliki 30 spesies. Salah satu spesies

utama yang memiliki kepentingan klinis adalah *Staphylococcus aureus* (Brooks, 2007). Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut (Madigan *et al.*, 2000):

Kingdom : Bacteria
Divisi : Firmucutes
Kelas : Micrococcales
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Madigan *et al.*, 2002)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram Positif anggota famili Micrococcaceae berbentuk bulat, bergerombol seperti susunan buah anggur koloni berwarna abu-abu hingga kuning tua, koagulase positif dan sifatnya sebagai bakteri komensal dalam tubuh manusia yang jumlahnya berimbang dengan flora normal lain. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul

polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz et al., 2005 ; Novick et al., 2000).

Staphylococcus aureus pada manusia diantaranya ditemukan pada hidung, kulit, tenggorokan, usus dan lain-lain (Lowy et al., 2009). Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) di jaringan lokal dan biasanya menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling umum ditemukan ialah impetigo pada anak-anak dan furunkel pada kulit. Infeksi superfisial ini bisa menyebar (metastatik) pada jaringan yang lebih dalam menimbulkan artritis, osteomielitis, endokarditis dan abses terhadap otak, ginjal, paru-paru, serta kelenjar mammae. Pneumonia yang penyebabnya *staphylococcus aureus* biasanya merupakan suatu infeksi sekunder sesudah infeksi virus influenza. Beberapa infeksi yang ditimbulkan akibat bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu infeksi kulit dimana orang yang memiliki risiko besar terkena infeksi kulit, disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah orang yang mempunyai luka atau sekedar goresan terbuka, dan bisa juga karena melakukan kontak langsung dengan seseorang yang terkena infeksi kulit ini. Penyakit kulit yang ditimbulkan akibat bakteri ini di antaranya selulitis, bisul, *impetigo*, dan *Staphylococcal scalded skin syndrome*. Infeksi ini biasanya membuat kulit menjadi memerah, sakit, bengkak, dan terkadang terdapat nanah. Selain itu infeksi yang dapat timbul karena adanya bakteri *Staphylococcus aureus* adalah penyakit bacteremia (Sepsis) yang merupakan penyakit yang mana ditemukan bakteri menyebar terhadap sirkulasi darah. Beberapa gejala dan tanda jika terinfeksi penyakit ini adalah demam dan tekanan darah menjadi rendah. Infeksi lainnya yang dapat timbul akibat adanya bakteri *Staphylococcus aureus* adalah Osteomielitis, yang merupakan penyakit infeksi tulang. Infeksi ini

ditimbulkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* yang awalnya menginfeksi kulit, tendon atau otot, kemudian merayap ke tulang. Tersebarinya infeksi ini melalui darah. Gejala yang muncul seperti keringat berlebih, rasa nyeri pada tulang, menggigil dan demam, muncul perasaan gelisah, sakit, sampai pembengkakan, dan ditemukan luka terbuka yang bernanah (Rasmussen *et al.*, 2011).

Masyarakat Suku Tengger memanfaatkan buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) sebagai obat antidiare. Diare dapat disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah bakteri yang terdapat di dalam usus, seperti *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, dan *Yersinia* (Schiller, *et al*, 2016). Pemberian antibiotik diindikasikan apabila pasien memiliki gejala dan tanda diare infeksi, seperti demam, leukosit pada feses, feses berdarah, pengeluaran atau ekskresi mengalami penurunan dan terjadi kontaminasi lingkungan, persisten atau penyelamatan jiwa pada pasien dengan diare infeksi dan pasien dengan *immunocompromised*. Pemberian antibiotik secara empiris dapat dilakukan, akan tetapi terapi antibiotik spesifik diberikan berdasarkan kultur dan resistensi bakteri (Ciesla and Guerrant, 2003).

Tabel 2.3 Antibiotik Empiris pada Diare Akut Infeksi (Ciesla and Guerrant, 2003).

Organisme	Antibiotik pilihan pertama	Antibiotik pilihan kedua
<i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	<i>Ciprofloxacin</i> 500 mg oral 2 kali sehari, 3-5 hari	<i>Salmonella/Shigella</i> <i>Ceftriaxone</i> 1 gram IM/IV sehari TMP-SMX DS oral 2 kali sehari, 3 hari <i>Campylobacter spp</i> <i>Azithromycin</i> 500 mg oral 2 kali sehari <i>Erythromycin</i> 500 mg

		oral 2 kali sehari, 5 hari
<i>Vibrio Cholera</i>	<i>Tetracycline</i> 500 mg oral 4 kali sehari, 3 hari <i>Doxycycline</i> 300 mg oral, dosis tunggal	Resisten <i>tetracycline</i> <i>Ciprofloxacin</i> 1 gram oral 1 kali sehari <i>Erythromycin</i> 250 mg oral 4 kali sehari, 3 hari
<i>Traveler's diarrhea</i>	<i>Ciprofloxacin</i> 500 mg 2 kali sehari	TMP-SMZ DS oral 2 kali sehari, 3 hari
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Metronidazole</i> 250-500 mg 4x sehari, 7-14 hari, oral atau IV	<i>Vancomycin</i> 125 mg 4 kali sehari, 7-14 hari

2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.4.1 Metode Ekstraksi

2.4.2.1 Maserasi

Maserasi adalah suatu proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau suhu ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel lalu masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan yang paling pekat akan didesak keluar. Metode ini dapat mencegah rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Proses ekstraksi akan dihentikan ketika tercapainya kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Namun metode ini memiliki beberapa kerugian, yaitu memakan banyak waktu, menggunakan pelarut yang cukup banyak, dan besar kemungkinan terdapat beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin sulit diekstraksi pada suhu kamar (Ditjen POM, 2000).

2.4.2.2 Ultrasound- Assisted Solvent Extraction

Metode ini merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhriani, 2014).

2.4.2.3 Perkolasi

Perkolasi adalah suatu proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang pada umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Pada metode ini, sampel serbuk dibasahin secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kerugian dari metode ini adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu. Cara perkolasi juga memiliki keuntungan dibandingkan dengan cara maserasi karena: (Ditjen POM, 2000).

- Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.

- Ruang diantara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

2.4.2.4 Soxhlet

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Pada metode ini menempatkan serbuk sampel dalam kain selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam tabung yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Ditjen POM, 2000).

2.4.2.5 Reflux dan Destilasi Uap

Refluks adalah suatu metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Cara melakukan metode reflux yaitu sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan

biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Ditjen POM, 2000).

2.4.2 Pemilihan Jenis Pelarut

Pemilihan jenis pelarut merupakan hal yang penting dalam proses ekstraksi. Pertimbangan untuk memilih jenis pelarut yang tepat adalah sebagai berikut :

a. Selektifitas

Pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan, bukan komponen-komponen lain dari bahan ekstraksi.

b. Kelarutan

Pelarut sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar (kebutuhan pelarut lebih sedikit).

c. Kemampuan untuk tidak saling bercampur

Pada ekstraksi cair-cair, pelarut tidak boleh atau hanya secara terbatas larut dalam bahan ekstraksi.

d. Kerapatan

Terutama pada ekstraksi cair-cair, sedapat mungkin terdapat perbedaan kerapatan yang besar antara pelarut dan bahan ekstraksi.

e. Reaktifitas

Pada umumnya pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen-komponen bahan ekstraksi.

f. Titik didih

Karena ekstrak dan pelarut biasanya harus dipisahkan dengan cara penguapan, destilasi atau rektifikasi, maka titik didih kedua bahan itu tidak boleh terlalu dekat.

g. Kriteria yang lain

Pelarut sedapat mungkin harus murah, tersedia dalam jumlah besar, tidak beracun, tidak terbakar, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, tidak korosif, tidak menyebabkan terbentuknya emulsi, memiliki viskositas yang rendah dan stabil secara termis.

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 80% dalam proses ekstraksi. Hal ini dikarenakan Senyawa golongan alkohol seperti etanol memiliki kemampuan mengekstraksi senyawa polar maupun non polar. Etanol mempunyai 2 gugus hidroksil yang memiliki sifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Sehingga dengan adanya 2 gugus tersebut, etanol dapat mengekstraksi senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Selanjutnya penggunaan air yang dikombinasikan dengan etanol menyebabkan kemampuan untuk mengekstraksi menjadi lebih maksimal, dimana air adalah senyawa polar (Suryantoa, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Arista, 2013) ekstraksi daun katuk (*Sauropus androgynous* (L.)) menggunakan etanol 80% memiliki efek antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstraksi daun katuk (*Sauropus androgynous* (L.)) menggunakan etanol 96%. Hal ini dikarenakan etanol 80% memiliki kemampuan mengekstraksi senyawa polar lebih banyak dibandingkan dengan etanol 96%.

2.4.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan pada zat cair dan zat cair. Proses fraksinasi ini merupakan pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda – beda tergantung pada jenis tumbuhan. Pemisahan ini menggunakan prinsip “*like dissolve like*” yaitu senyawa yang mempunyai sifat polar akan larut pada pelarut polar, dan senyawa yang mempunyai sifat nonpolar maka akan larut pada pelarut non polar. Fraksinasi menggunakan dua metode yaitu dengan menggunakan corong pisah dan kromatografi kolom. Salah satu fase berupa larutan air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Lipofilik organik seperti eter, MTBE, diklorometana, kloroform, dan etil asetat (Hafil, 2011).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.5.1 Definisi KLT

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fase gerak/eluen dan fase diam/adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi, penjerapan) (Hendayana, 2006).

2.5.2 Analisis KLT

Untuk melakukan analisis KLT, peralatan dan bahan yang dibutuhkan cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam *chamber*. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel berpindah dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang berada dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

Perbedaan pergerakan merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Berbagai mekanisme pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak dan komponen sampel. Retensi dan selektivitas kromatografi ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan electron donor atau pasangan elektron-akseptor, ikatan ion ion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals. Deteksi senyawa menjadi mudah ketika senyawa secara alami dapat berwarna atau berfluoresensi atau menyerap sinar UV. Namun, perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan diperlukan untuk menghasilkan

turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV (Wulandari, 2011).

Pada KLT, identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai Rf dibandingkan Rf standar. Nilai Rf umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan Rf relatif yaitu nilai Rf noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama. Nilai Rf dinyatakan hingga angka 1,0 beberapa pustaka menyatakan nilai Rf yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai Rf bervariasi yaitu dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya. Konfirmasi identifikasi dapat dideteksi dengan spektrometri inframerah (IR), spektrometri Nuclear magnetic resonance (NMR), spektrometri massa (Wulandari, 2011).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

2.6.1 Metode Difusi

Uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan dkk, 2007). Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode

difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas (Kusmayati dan Agustini, 2007).

- 1) Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.
- 2) Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.
- 3) Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

2.6.2 Metode Dilusi

2.6.2.1 Dilusi cair

Metode dilusi cair mengukur kadar hambat minimum (KHM/MIC) dan kadar bunuh bakteri(KBM/MBC). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikrobia pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikrobia pada kadar terkecil yang terlihat jenis tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai

KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KHM. Keuntungan dan kerugian metode dilusi adalah dengan teknik dilusi memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan bersama-sama. MIC dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi dan dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba. Kerugiannya metode ini tidak efisien karena pengerjaannya yang rumit, memerlukan banyak alat-alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaannya termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Hermawan dkk., 2007).

Dilusi cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml. Antimikroba yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi bervariasi tergantung jenis dan sifat antibiotik. (misalnya cefotaxime untuk uji kepekaan terhadap *Streptococcus Pneumonia*, pengenceran tidak melebihi 2 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan untuk *Escherichia Coli* pengenceran dilakukan pada 16 $\mu\text{g/ml}$ atau lebih). Mikrodilusi menggunakan media cair dengan mikroplate steril kemudian penambahan reagen MTT, setelah itu dilakukan pembacaan menggunakan *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 620 nm (CLSI, 2012).

2.6.2.2 Dilusi padat

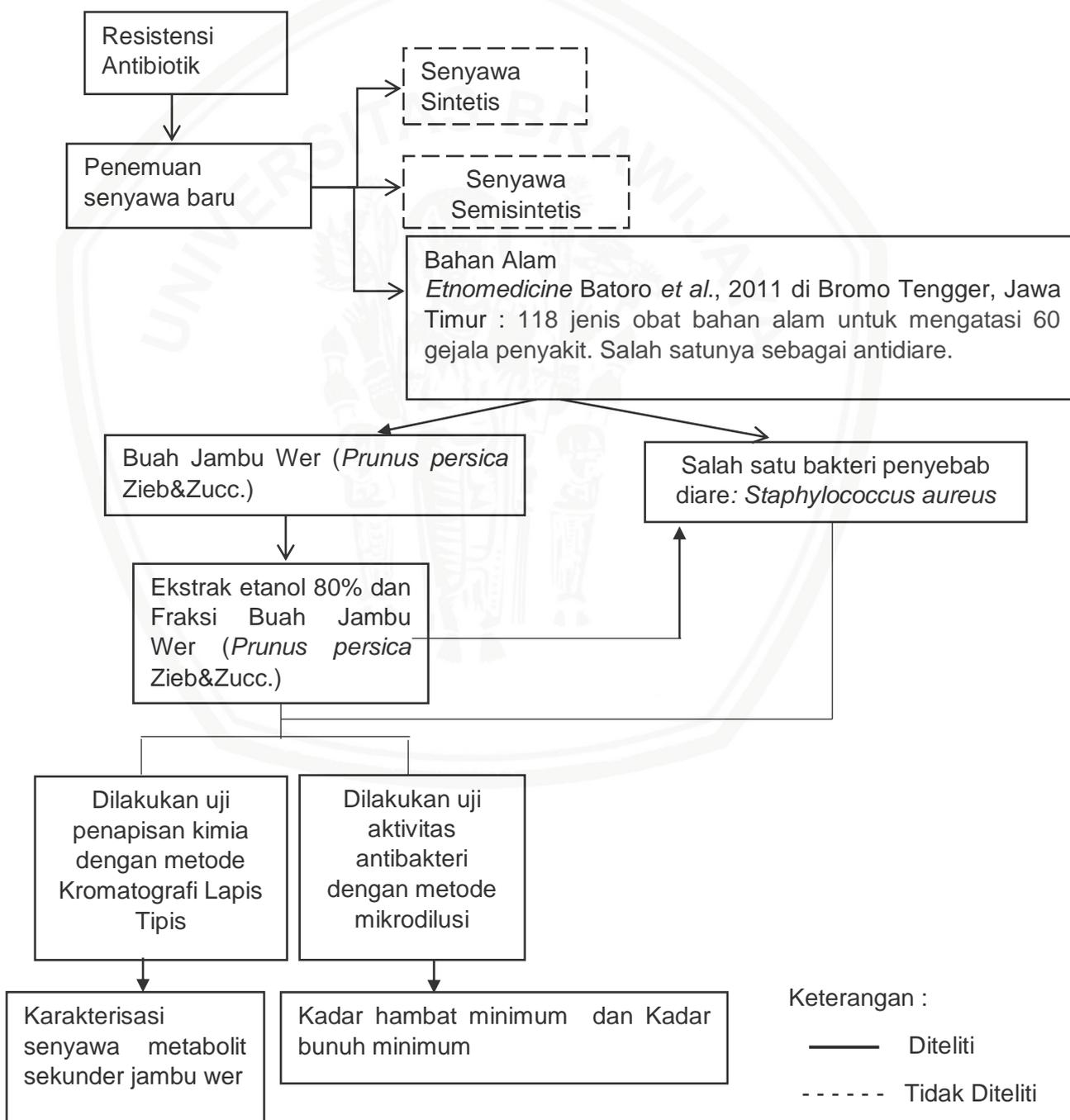
Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan metode padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Hermawan dkk., 2007).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Penelitian ini akan dilakukan yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*). Penelitian awal berawal dari kasus resistensi antibiotik yang mewabah di masyarakat dan menjadi masalah yang dihadapi Indonesia sampai dunia saat ini. Berawal dari permasalahan tersebut, perlu ditemukan senyawa baru yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Senyawa baru yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut dapat berasal dari senyawa sintesis, senyawa semisintesis dan bahan alam. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk mendapatkan senyawa baru yang berasal dari bahan alam, yaitu dengan menggunakan *etnomedicine*. *Etnomedicine* adalah cabang antropologi medis yang membahas tentang asal mula penyakit, sebab-sebab dan cara pengobatan menurut kelompok masyarakat tertentu. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Batoro, dkk. (2011) di Wilayah Taman Nasional Bromo Tengger Semeru Jawa Timur mendapatkan hasil bahwa Masyarakat Suku Tengger menggunakan 118 jenis obat bahan alam untuk mengatasi 60 gejala penyakit. Salah satu dari 118 jenis obat bahan alam tersebut adalah buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) yang digunakan sebagai obat anti diare. Namun belum terdapat penelitian terkait aktivitas dari Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) baik secara in vitro, in vivo maupun secara klinis.

Diare infeksi akibat bakteri dapat disebabkan oleh berbagai macam bakteri, yang salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus*. Dalam penelitian ini, buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) akan diekstrak dengan etanol 80% dan difraksinasi dengan fraksi kloroform, etil asetat, n-butanol dan air. Faktor yang mempengaruhi proses fraksinasi adalah faktor internalnya yaitu pelarut yang digunakan, mencakup sifat kepolaran dan titik didih. Sifat kepolaran

berpengaruh karena suatu senyawa akan cenderung larut pada larutan yang memiliki sifat kepolaran yang sama pula. Sedangkan titik didih berpengaruh saat proses penguapan. Faktor eksternalnya yaitu suhu dan waktu. Suhu yang digunakan saat proses penguapan sangat penting untuk menyesuaikan dengan titik didih pelarut. Sedangkan waktu berpengaruh terhadap proses fraksinasi, dimana semakin lama waktu fraksinasi, semakin kecil persentase rendemen yang didapatkan karena banyak fraksi-fraksi yang kembali larut. Kemudian dilakukan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk melihat karakterisasi ekstrak dan uji antibakteri untuk melihat aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Prinsip dari metode KLT adalah memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Kemudian dari penelitian ini akan didapatkan Kadar hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan metode mikrodilusi, prinsip dari metode mikrodilusi adalah menggunakan mikroplate yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Setelah itu dibaca pada *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 620 nm. Prinsip kerja *ELISA Reader* adalah analisis interaksi antara sampel yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat. Sehingga dapat dibuktikan bahwa ekstrak etanol 80% dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) dapat menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan diare infeksi.

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 80% dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb&Zucc.*) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol dan air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian laboratorium secara *in vitro*, yaitu menguji efek anti bakteri ekstrak Jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental in vitro*, dan *control group design*.

4.2 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan sampel kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Pada pengujian aktivitas antibakteri, variabel bebas yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak etanol 80% buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.), konsentrasi fraksi kloroform, konsentrasi fraksi n-butanol, konsentrasi fraksi air dan konsentrasi fraksi etil asetat.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada pengujian aktivitas antibakteri adalah dengan menghitung Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) menggunakan metode mikrodilusi pada ekstrak etanol 80% buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.), fraksi kloroform, fraksi butanol, fraksi air dan fraksi etil asetat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah proses ekstraksi, pelarut, proses fraksinasi, metode penapisan fitokimia yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan metode uji aktivitas antibakteri yaitu metode mikrodilusi

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2017 hingga Maret 2018.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

4.5.1.1 Maserasi

Alat penelitian yang digunakan dalam proses maserasi adalah timbangan analitik METTLER TOLEDO™, beaker glass SCHOTT DURAN™, gelas ukur 100 ml SCHOTT DURAN™, stirer IKA®, gelas ukur 1 L HERMA™, *Vaccum rotary*

evaporator IKA®, cawan porselen, corong buchner+vakum dan oven MEMMERT™.

4.5.1.2 Fraksinasi

Alat penelitian yang digunakan dalam proses fraksinasi adalah timbangan analitik METTLER TOLEDO™, gelas ukur 100 ml SCHOTT DURAN™, *Vaccum rotary evaporator* IKA®, pipet tetes, kulkas TOSHIBA, sonikator dan corong pisah+penyangga.

4.5.1.3 Penapisan Fitokimia

Alat penelitian yang digunakan dalam proses penapisan fitokimia adalah timbangan analitik METTLER TOLEDO™, tabung reaksi PYREX®, vorteks IKA®, rak tabung, pipa kapiler, lempeng KLT (silika GF₂₅₄ nm), pipet tetes, pinset, *slide+cover glass*, mikrotube, spatel, *spray reagent*, cawan petri 10 cm, batang pengaduk, *chamber* CAMAG™, *UV Lamp* CAMAG™, pipet ukur 10 ml PYREX®, *hotplate* IKA, erlenmeyer PYREX®, dan mikroskop OLYMPUS CX21.

4.5.1.4 Mikrodilusi

Alat penelitian yang digunakan dalam proses mikrodilusi adalah timbangan analitik METTLER TOLEDO™, *microplate*, inkubator, spuit ONE MED®, spektrofotometer, vorteks IKA®, autoklaf, mikropipet SOCOREX™+Tip, *agar plate*, tabung reaksi PYREX® + rak tabung reaksi, mikrotube, ose, dan lampu spiritus.

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.), etanol pro analis, n-butanol pro analis, aquadest pro analis, etil asetat pro analis, kloroform pro analisis, metanol pro analisis, gelatin, n-

heksana pro analisis, asam asetat glasial pro analisis, asam formiat pro analisis, FeCl_3 pro analisis, natrium klorida pro analisis, penampak noda amonia, reagen IKI, *Water For Injection*, penampak noda dragendorf, penampak noda H_2SO_4 10%, pembenihan *nutrient agar*, biakan *Staphylococcus aureus*, media *Mueller Hinton Broth*, dan antibiotik seftriakson, DMSO 10%,

4.6 Definisi Operasional

- 1) Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 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 Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) adalah serbuk buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang diekstraksi dengan etanol 80% menggunakan metode maserasi dengan tujuan untuk penyaringan sampel yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam pelarut yang digunakan.
- 4) Fraksi Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) adalah ekstrak etanol 80% buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang difraksinasi dengan berbagai macam pelarut, yaitu kloroform, n-butanol, etil asetat dan air. Dengan tujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan tingkat kepolaran.
- 5) Penapisan fitokimia atau *screening* fitokimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam sampel.

- 6) Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode mikrodilusi untuk memperoleh nilai persen hambatan sampel.
- 7) Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan swab bakteri pada media padat untuk memperoleh hasil ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada *agar plate*.
- 8) Kontrol positif adalah perlakuan eksperimental yang menghasilkan efek yang diinginkan yang diharapkan peneliti. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah seftriakson.
- 9) Kontrol negatif adalah perlakuan eksperimental yang tidak menghasilkan efek yang diinginkan dari variabel eksperimen. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut DMSO 10%.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Maserasi Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

- 1) Serbuk Jambu Wer ditimbang 200 gram dalam beakerglass
- 2) Diukur Etanol 80% yang diencerkan dari etanol 96% dengan menggunakan gelas ukur 100 ml hingga 1L
- 3) Serbuk dimasukkan dalam beakerglass 1L
- 4) Dimasukkan etanol 80% ke dalam beakerglass 700 ml dan distirer 30 menit
- 5) Direndam hingga 24 jam. Didapat **Hasil Maserasi I**

- 6) Hasil maserasi I disaring dengan menggunakan kertas saring, filtrat ditampung didalam beakerglass 1L
- 7) Diukur etanol 80% sebanyak 700 ml dengan gelas ukur 100 ml
- 8) Residu dari hasil penyaringan diletakkan dalam beakerglass 1L, lalu di stirer selama 30 menit
- 9) Ditambahkan etanol 80% 500 ml dan direndam selama 24 jam. Didapatkan

Hasil Maserasi II

- 10) Hasil maserasi II disaring dengan kertas saring dan corong, filtrat ditampung di beakerglass 1L
- 11) Diukur Etanol 80% 600ml dengan gelas ukur 100ml
- 12) Residu dari hasil penyaringan diletakkan dalam beakerglass 1L dan di stirer 30menit
- 13) Ditambahkan Etanol 80% 500 ml dan direndam selama 24jam. Didapat

Hasil Maserasi III

- 14) Hasil maserasi I, II dan III digabungkan dalam beakerglass 1L
- 15) Diletakkan dalam vakum rotavapor hingga ekstrak kental seperti pasta.
- 16) Setelah ekstrak kental diperoleh lalu dimasukkan dalam oven (oven di set 35°C).

4.7.2 Fraksinasi Ekstrak Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

- 1) Ekstrak kering ditimbang 20 gram dan disupensikan dengan air 50 ml
- 2) Digerus dengan mortir. Ditambahkan aquadest 100 ml, suspensi dimasukkan dalam corong pisah
- 3) Diukur kloroform 100 ml dan dimasukkan ke dalam corong pisah
- 4) Larutan pada corong pisah dikocok selama 5menit (a)

- 5) Corong pisah didiamkan hingga terpisah menjadi dua fase (b)
- 6) Diambil lapisan kloroform (lapisan bawah) (c)
- 7) Diukur kloroform 100 ml dengan gelas ukur 100ml (d)
- 8) Kloroform yang telah diukur dimasukkan dalam corong pisah (e)
- 9) Diulangi langkah (a,b,c,d,e) hingga 3-4x dan letakkan dalam vial.
Didapatkan fraksi kloroform.
- 10) Residu lalu di vakum dalam rotavapor untuk menghilangkan sisa kloroform (1 jam)
- 11) Diberi etil asetat 100ml, larutan dipindahkan dalam corong pisah dan dikocok 5menit (a1)
- 12) Corong pisah didiamkan agar larutan terpisah menjadi 2 fase (b1)
- 13) Diambil fase etil asetat (c1) dan dimasukkan dalam vial
- 14) Langkah (a1,b1,c1) diulang hingga fase etil asetat jernih (3-4x) lalu dimasukkan dalam vial. Didapatkan fraksi etil asetat.
- 15) Residu fase etil asetat dipindahkan ke beakerglass
- 16) Residu di vakum dalam rotavapor
- 17) Residu dipindahkan ke corong pisah dan ditambah n-butanol 100ml, dikocok 5 menit (a2)
- 18) Didiamkan corong pisah hingga terpisah menjadi 2 fase (b2)
- 19) Diambil fase n-butanol (c2)
- 20) Diulangi langkah (a2,b2,c2), hingga fase n-butanol konstan (5-6x), lalu dimasukkan dalam vial. Didapatkan fraksi n-butanol.
- 21) Residu dalam corong pisah dikeluarkan
- 22) Residu ditampung dalam vial (Fraksi Air)

- 23) Masing-masing fraksi (yang berada dalam vial) diletakkan dalam vakum rotavapor hingga setengah padat
- 24) Setelah dari rotavapor dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 40°C
- 25) Setelah kering kemudian ditimbang masing-masing ekstrak kering dari fraksi

4.7.3 Screening Fitokimia

4.7.3.1 Non Preparatif

- 1) Dilarutkan 10 mg ekstrak buah jambu wer ke dalam methanol 0,25 ml (diambil dengan pipet ukur 1 ml).
- 2) Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄
- 3) Dieluasi dengan fase gerak kloroform: etil asetat (70:3).
- 4) Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm
- 5) Diberi reagen penampak noda dragendorf
- 6) Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm

Tabel 4.7.3 Screening Fitokimia

No.	Metabolit Sekunder	Fase Gerak	Reagen	Hasil jika positif
1.	Antraquinon	etil asetat : methanol : air (100 : 13,5 : 10)		Noda kuning
2.	Sapogenin Steroid dan Triterpenoid	n-heksana – etil asetat (4 : 1)	Penampak noda anisaldehyda asam sulfat	Bercak merah ungu
3.	Flavonoid	n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)	Penampak noda uap amonia	Noda kuning
4.	Flavonoid	n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)	penampak noda H ₂ SO ₄ 10%	Noda Kuning kecoklatan

5.	Terpenoid	Kloroform : methanol (9:1)	Penampak noda anisal dehid asam sulfat	noda merah ungu → visual, noda merah → λ 366 nm.
6.	Tanin	Kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5)	penampak noda FeCl_3	Noda hitam
7.	Alkaloid	Kloroform : etil asetat (70:3)	Penampak noda dragendorf	Noda kuning

Deteksi senyawa Polifenol (dengan tabung reaksi)

- Uji Gelatin
 - 1) Dilarutkan 10 mg jambu Wer pada methanol 1 ml
 - 2) diberi 10 tetes gelatin 1%.
 - 3) Hasil dikatakan positif jika tampak endapan putih

- Uji Pewarnaan FeCl_3
 - 1) Dilarutkan 10 mg jambu Wer pada methanol 1 ml
 - 2) diberi 3 tetes FeCl_3
 - 3) Hasil dikatakan positif jika larutan berwarna hijau kehitaman

4.7.3.2 Preparatif (Golongan Alkaloid)

Preparasi Sampel

- 1) 10 mg ekstrak kental jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml
- 2) Ditambah HCl 2N, dan dipanaskan
- 3) Ditambahkan sedikit NaCl, lalu disaring
- 4) Filtratnya ditambah NH_4OH sampai basa, diekstraksi dengan kloroform
- 5) Sampel ditotolkan pada fase diam Silica Gel F₂₅₄

- 6) Dieluasi menggunakan fase gerak Kloroform : etil asetat (70:3)
- 7) Plat KLT diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm
- 8) Diberi penampak noda dragendorf
- 9) Plat KLT diamati secara visual, dibawah sinar 254nm dan 366nm
- 10) Hasil dikatakan positif apabila terdapat tampak noda bewarna kuning.

4.7.3.3 Senyawa Amilum

- 1) Ekstrak jambu wer digoreskan sedikit pada kaca objek
- 2) Ekstrak di suspensikan dengan reagen IKI
- 3) Diamati pada mikroskop perbesaran 100kali dan 400kali

4.7.4 Preparasi Sampel Ekstrak dan Fraksi

- 1) Ditimbang ekstrak dan fraksi sebesar 100 mg kedalam mikrotube
- 2) Ditambahkan DMSO sebanyak 0,1 ml ke dalam mikrotube menggunakan spuit
- 3) Ditambahkan *Water For Injection* ke dalam mikrotube sebanyak 0,9 ml
- 4) Larutan sampel di vortex hingga sampel ekstrak dan fraksi larut
- 5) Didapatkan larutan sampel ekstrak dan fraksi dengan konsentrasi 100 mg/ml dalam pelarut DMSO 10%

4.7.5 Uji Antibakteri dengan Mengukur Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Metode Mikrodilusi

EKSTRAK + MHB + SUSPENSI BAKTERI (KOLOM 1-10)

1. Dibuat larutan sampel uji dengan konsentrasi 100 mg/ml yang dilarutkan dengan 1 ml DMSO 10%
2. Dibuat suspensi bakteri 10^6 CFU/ml dengan media MHB
3. Disiapkan media MHB tanpa bakteri
4. Disiapkan mikroplate steril
5. Mikroplate steril kemudian diisi dengan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke 2 – well ke10 dengan menggunakan mikropipet
6. Sebanyak 50 μ L sampel uji dimasukkan dalam mikrotube dan ditambahkan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L
7. Mikrotube di vortex ad homogen
8. Sebanyak 50 μ L larutan dalam mikrotube diambil dan diletakkan pada well A1 dan sebanyak 50 μ L pada well A2
9. Selanjutnya, pada well ke2 dihomogenkan menggunakan mikropipet dan diambil sebanyak 50 μ L untuk diletakkan di well selanjutnya (A3)
10. Langkah nomor 9 diulangi hingga well ke 10
11. Pada well ke10 diambil larutan sebanyak 50 μ L dan dibuang.
12. Setelah semua well terisi dengan campuran larutan sampel uji dan media MHB tanpa bakteri dengan volume akhir 50 μ L, ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke1 – well ke10
13. Pada setiap well dihomogenkan dengan menggunakan mikropipet (perlakuan dimulai dari konsentrasi terendah \rightarrow tinggi)
14. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo) dengan langkah dan jumlah yang sama
15. Diinkubasi 24 jam

16. Sebelum di ELISA Reader, dilihat apakah terdapat larutan jernih, jika terdapat larutan jernih pada konsentrasi tersebut ditanam pada cakram disk dengan medium NA dan dicatat
17. Dibuat juga sebagai kontrol yaitu : DMSO10%+agar NA, agar NA+bakteri, agar NA
18. Dilihat apakah terdapat pertumbuhan bakteri, jika tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri sama sekali maka pada konsentrasi tersebut merupakan KBM (Kadar Bunuh Minimum)
19. Dilihat pada ELISA Reader dengan panjang gelombang 620 nm

DMSO (KOLOM 11)

1. Dibuat larutan DMSO 10% dalam mikrotube steril
2. Sebanyak 50 μ L larutan DMSO 10% dimasukkan dalam well 11

KONTROL NEGATIF (KOLOM 12)

1. Dibuat suspensi bakteri 10^6 CFU/ml dengan media MHB
2. Disiapkan larutan DMSO 10%
3. Disiapkan mikroplate steril
4. Mikroplate steril kemudian diisi dengan DMSO sebanyak 50 μ L pada well ke 12 dengan menggunakan mikropipet
5. Ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke 12 menggunakan mikropipet.
6. Pada tiap well dihomogenkan dengan menggunakan mikropipet

EKSTRAK + MHB

1. Dibuat larutan sampel uji dengan konsentrasi 100 mg/ml yang dilarutkan dengan 1 ml DMSO 10%
2. Disiapkan media MHB tanpa bakteri
3. Disiapkan mikroplate steril
4. Mikroplate steril kemudian diisi dengan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke 2 – well ke10 dengan menggunakan mikropipet
5. Sebanyak 50 μ L sampel uji dimasukkan dalam mikrotube dan ditambahkan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L
6. Mikrotube di vortex ad homogen
7. Sebanyak 50 μ L larutan dalam mikrotube diambil dan diletakkan pada well A1 dan sebanyak 50 μ L pada well A2
8. Selanjutnya, pada well ke2 dihomogenkan menggunakan mikropipet dan diambil sebanyak 50 μ L untuk diletakkan di well selanjutnya (A3)
9. Langkah nomor 8 diulangi hingga well ke 10
10. Pada well ke10 diambil larutan sebanyak 50 μ L dan dibuang.
11. Setelah semua well terisi dengan campuran larutan sampel uji dan media MHB tanpa bakteri dengan volume akhir 50 μ L, ditambahkan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke1 – well ke10
12. Pada setiap well dihomogenkan dengan menggunakan mikropipet (perlakuan dimulai dari konsentrasi terendah \rightarrow tinggi)
13. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo) dengan langkah dan jumlah yang sama
14. Diinkubasi 24 jam

15. Sebelum di ELISA Reader, dilihat apakah terdapat larutan jernih, jika terdapat larutan jernih pada konsentrasi tersebut ditanam pada cakram disk dengan medium NA dan dicatat
16. Dibuat juga sebagai kontrol yaitu : DMSO10%+agar NA, agar NA+bakteri, agar NA
17. Dilihat apakah terdapat pertumbuhan bakteri, jika tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri sama sekali maka pada konsentrasi tersebut merupakan KBM (Kadar Bunuh Minimum)
18. Dilihat pada ELISA Reader dengan panjang gelombang 620 nm

KONTROL POSITIF (KOLOM 1-10)

1. Dibuat larutan ceftriaxone konsentrasi 100 mg/ml yang dilarutkan dengan 1 ml WFI
2. Dibuat suspensi bakteri 10^6 CFU/ml dengan media MHB
3. Disiapkan media MHB tanpa bakteri
4. Disiapkan mikroplate steril
5. Mikroplate steril kemudian diisi dengan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke 2 – well ke10 dengan menggunakan mikropipet
6. Sebanyak 50 μ L larutan ceftriaxone dimasukkan dalam mikrotube dan ditambahkan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L
7. Mikrotube di vortex ad homogen
8. Sebanyak 50 μ L larutan dalam mikrotube diambil dan diletakkan pada well A1 dan sebanyak 50 μ L pada well A2

9. Selanjutnya, pada well ke2 dihomogenkan menggunakan mikropipet dan diambil sebanyak 50 μ L untuk diletakkan di well selanjutnya (A3)
10. Langkah nomor 9 diulang hingga well ke 10
11. Pada well ke10 diambil larutan sebanyak 50 μ L dan dibuang.
12. Setelah semua well terisi dengan campuran larutan ceftriaxone dan media MHB tanpa bakteri dengan volume akhir 50 μ L, ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke1 – well ke10
13. Pada setiap well dihomogenkan dengan menggunakan mikropipet (perlakuan dimulai dari konsentrasi terendah \rightarrow tinggi)
14. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo) dengan langkah dan jumlah yang sama

KONTROL POSITIF + MHB (Baris D-F)

15. Dibuat kontrol positif (ceftriaxone) dengan konsentrasi 100 mg/ml yang dilarutkan dengan 1 ml WFI
16. Disiapkan media MHB tanpa bakteri
17. Disiapkan mikroplate steril
18. Mikroplate steril kemudian diisi dengan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L pada well ke 2 – well ke10 dengan menggunakan mikropipet
19. Sebanyak 50 μ L kontrol positif dimasukkan dalam mikrotube dan ditambahkan media MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L
20. Mikrotube di vortex ad homogen
21. Sebanyak 50 μ L larutan dalam mikrotube diambil dan diletakkan pada well D1 dan sebanyak 50 μ L pada well D2

22. Selanjutnya, pada well ke2 dihomogenkan menggunakan mikropipet dan diambil sebanyak 50 μ L untuk diletakkan di well selanjutnya (D3)
23. Langkah nomor 9 diulangi hingga well ke 10
24. Pada well ke10 diambil larutan sebanyak 50 μ L dan dibuang.
25. Pada setiap well ditambahkan dengan MHB tanpa bakteri sebanyak 50 μ L
26. Pada setiap well dihomogenkan dengan menggunakan mikropipet (perlakuan dimulai dari konsentrasi terendah \rightarrow tinggi)
27. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo) dengan langkah dan jumlah yang sama
28. Diinkubasi selama 24 jam
29. Dilihat pada ELISA Reader dengan panjang gelombang 620 nm

4.7.4.1 Nilai Persen Hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

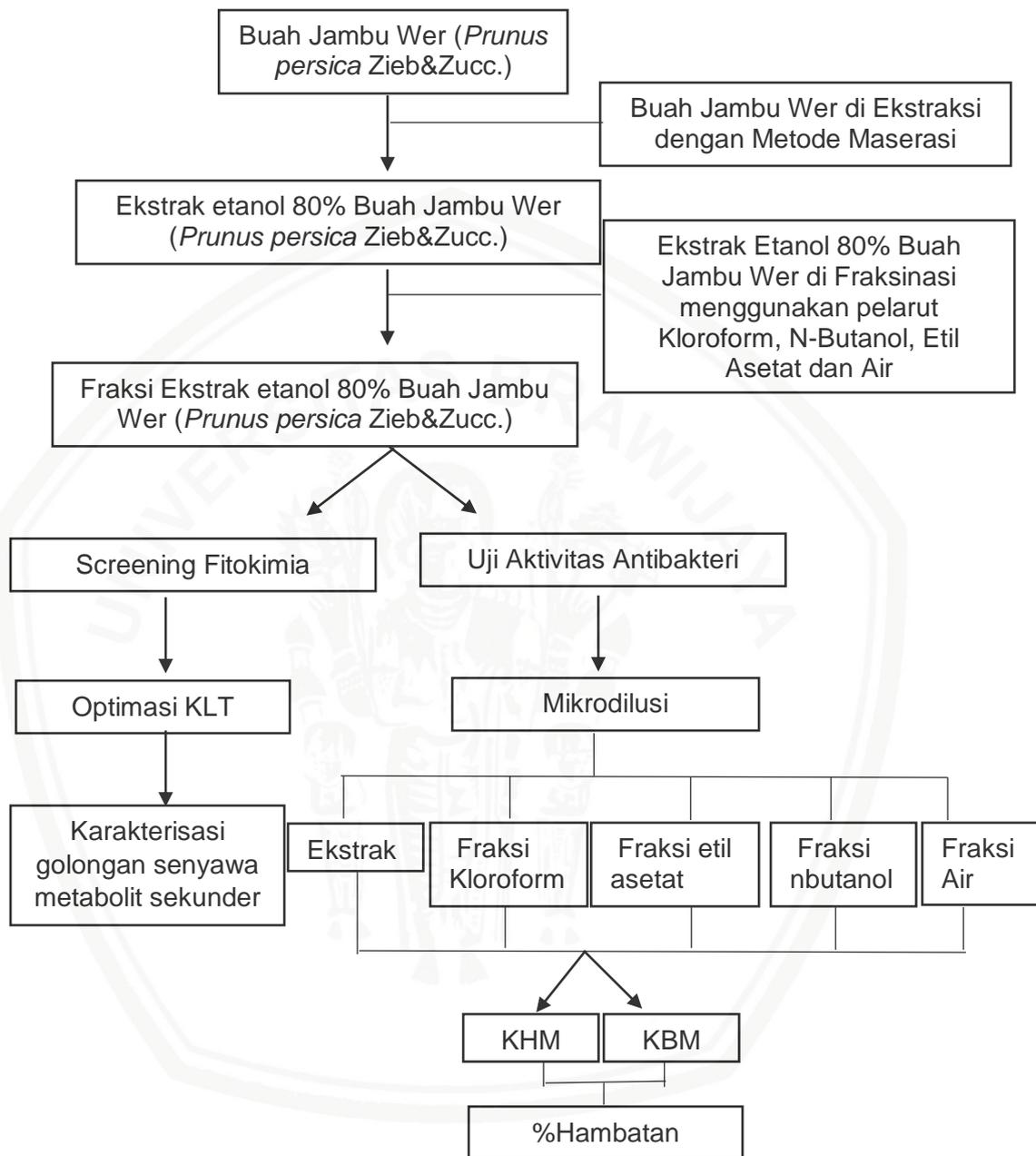
Sampel	Konsentrasi	Replikasi	Rata-rata	%Hambatan
Ekstrak	1.	1.		
		2.		
		3.		
	2.	1.		
		2.		
		3.		
	3.	1.		
		2.		
		3.		
Fraksi Kloroform	1.	1.		
		2.		
		3.		
	2.	1.		
		2.		
		3.		
	3.	1.		
		2.		
		3.		
Fraksi Etil	1.	1.		
		2.		

Asetat	2.	3.		
		1.		
		2.		
	3.			
	3.	1.		
		2.		
3.				
Fraksi N-butanol	1.	1.		
		2.		
		3.		
	2.	1.		
		2.		
		3.		
	3.	1.		
		2.		
		3.		
Fraksi Air	1.	1.		
		2.		
		3.		
	2.	1.		
		2.		
		3.		
	3.	1.		
		2.		
		3.		

$$\text{Rumus \%Hambatan} = \frac{\text{OD Kontrol Negatif (Suspensi Bakteri+DMSO)} - \text{OD Sampel}}{\text{OD Kontrol Negatif}}$$

(Efendi dan Hertiani,2013).

4.8 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Ekstraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.

Dari metode maserasi tersebut, didapatkan hasil :

Tabel 5.1. Presentase Rendemen Ekstrak

Ekstrak	Berat Simplisia Serbuk	Berat hasil ekstraksi	Rendemen	Warna
Etanol 80%	151,08 gram	56,88 gram	37,65%	Coklat



Gambar 5.1 Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb& Zucc.)

5.2 Fraksinasi Ekstrak Etanol 80% Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb& Zucc.)

Setelah dilakukan proses maserasi, dilanjutkan dengan fraksinasi. Ekstrak etanol difraksinasi dengan metode cair-cair. Pelarut yang digunakan adalah kloroform, etil asetat, n-butanol, dan air. Setelah dilakukan fraksinasi, didapat hasil:

Tabel 5.2. Tabel Berat Hasil Fraksinasi

Fraksi	Berat Hasil Fraksinasi	Warna
Kloroform	1,194 gram	Hijau tua
Etil Asetat	1,857 gram	Coklat
N-Butanol	4,047 gram	Coklat
Air	11,479 gram	Coklat

5.3 Screening Fitokimia

Screening fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.). Setelah dilakukan screening fitokimia, didapatkan hasil :

5.3.1 Golongan Antrakuinon

Untuk membuktikan adanya senyawa metabolit sekunder antrakuinon, dilakukan uji dengan menggunakan plat KLT yang telah dieluasi. Plat KLT yang telah dieluasi tersebut kemudian diamati dibawah sinar 254nm dan 366nm. 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 antrakuinon

Fase Diam : Silica Gel F₂₅₄

Fase Gerak : etil asetat : methanol : air (100 : 13,5 : 10)

Penampak Noda : -



(a) (b)

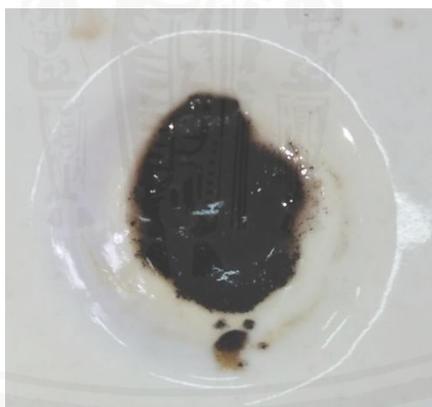
Gambar 5.3.1 Profil KLT Antrakuinon

Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, Fase gerak: Etil asetat : methanol : air (100 : 13,5 : 10),

(a) UV 366 nm (b) UV 254 nm

5.3.2 Senyawa Amilum

Uji dilakukan dengan reagen Iodin Kalium Iodida (IKI). Selanjutnya sampel yang berada pada gelas kaca mengalami perubahan berwarna biru kehitaman sehingga dapat dinyatakan bahwa sampel ekstrak jambu wer positif mengandung amilum.

**Gambar 5.3.2 Hasil Uji Amilum dengan Pemberian Reagen IKI**

5.3.3 Golongan Sapogenin Steroid

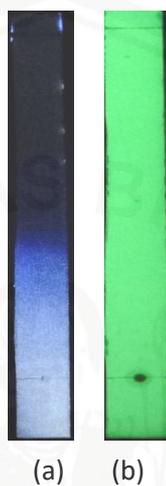
Pengujian dilakukan dengan menggunakan plat KLT yang dieluasi dengan fase gerak. Setelah dieluasi kemudian diamati pada panjang gelombang

254nm dan 366nm .Lalu diberi penampak noda dan diamati kembali pada panjang gelombang 254nm dan 366nm.

Fase diam : silica gel F₂₅₄

Fase gerak : n-heksana : etil asetat (4 : 1)

Penampak noda : anisaldehyda asam sulfat.

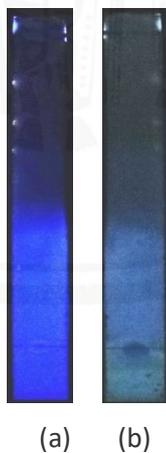


Gambar 5.3.3.1 Profil KLT Sapogenin Sebelum Diberi Pereaksi Anisaldehyda

Asam Sulfat

Keterangan: Fase diam: silica gel F₂₅₄, Fase gerak: n-heksana : etil asetat (4 : 1), (a) UV 366 nm (b)

UV 254 nm



Gambar 5.3.3.2 Profil KLT Sapogenin Setelah Diberi Pereaksi Anisaldehyda

Asam Sulfat

Keterangan: Fase diam: silica gel F₂₅₄, fase gerak: n-heksana : etil asetat (4 : 1), a) UV 366 nm, penampak noda: anisaldehyda asam sulfat b) UV 254 nm, penampak noda: anisaldehyda asam sulfat

Jika hasil yang didapat positif terdapat sapogenin, maka pereaksi anisaldehyda asam sulfat akan menunjukkan noda berwarna merah ungu (ungu) pada plat KLT. Namun pada pengujian sampel, tidak terlihat adanya bercak merah ungu (ungu) pada plat KLT. Begitu juga ketika diamati pada λ 254 nm dan λ 366 nm tidak terlihat adanya merah ungu (ungu). Sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yaitu ekstrak jambu wer tidak mengandung (-) sapogenin.

5.3.4 Golongan Flavonoid

Uji KLT yang digunakan untuk mengetahui adanya metabolit sekunder flavonoid meliputi uji KLT dengan berbagai fase gerak dan berbagai penampak noda yang kemudian diamati pada panjang gelombang 254nm dan 366nm.

Fase Diam : Silica Gel F₂₅₄

Fase Gerak : n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Penampak noda : Uap Amonia



Gambar 5.3.4.1 Profil KLT Flavonoid Setelah Diberi Uap Amonia

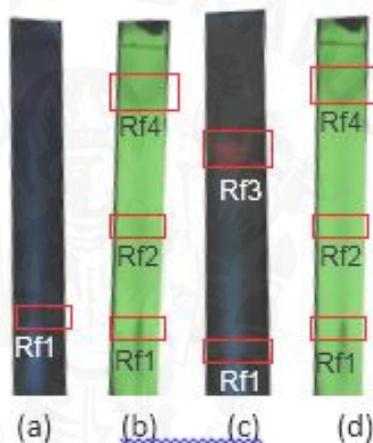
Keterangan: Pengamatan secara Visual, Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, fase gerak: n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5), penampak noda: uap amonia.

Setelah plat KLT dieluasi didapatkan tampak noda berwarna kuning ketika plat diuapkan diatas amonia, akan tetapi noda sedikit memudar apabila plat KLT tidak diuapkan dengan amonia. Berdasarkan hasil pengujian tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak jambu wer positif mengandung flavonoid pada Rf1 dan Rf2.

Fase Diam : Silica Gel F₂₅₄

Fase Gerak : n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5)

Penampak Noda : H₂SO₄ 10%



Gambar 5.3.4.2 Profil KLT Flavonoid

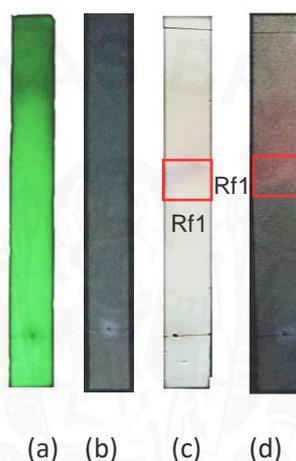
Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, fase gerak: n-butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5), penampak noda: H₂SO₄ 10%. (a) UV 366 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (b) UV 254 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (c) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (d) UV 254 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%

Plat KLT yang telah dieluasi kemudian diberi penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan diatas *hot plate* hingga tampak noda berwarna kuning kecoklatan, kemudian diamati pada panjang gelombang 254nm dan 366nm. Berdasarkan hasil pengujian tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak jambu wer positif mengandung flavonoid terdapat pada Rf1, dan Rf2.

5.3.5 Golongan Terpenoid

Screening terpenoid dilakukan dengan 10 mg ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang dilarutkan dalam 2,5 mL methanol. Hasilnya dieluasi menggunakan:

Fase diam : Silica Gel F₂₅₄
Fase gerak : Kloroform : methanol (9:1)
Penampak noda : H₂SO₄ 10%



Gambar 5.2.5 Profil KLT Terpenoid

Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, fase gerak: Kloroform : methanol (9:1), penampak noda: H₂SO₄ 10%. (a) UV 366 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (b) UV 254 nm sebelum diberi penampak noda H₂SO₄ 10% (c) UV 366 nm setelah diberi penampak noda H₂SO₄ 10%.

Pada hasil eluasi yang diamati pada λ 254 nm dan λ 366 nm tidak menunjukkan adanya spot noda yang spesifik yang menandakan senyawa terpenoid yaitu merah pada λ 366 nm. Hal tersebut dikarenakan sebagian besar senyawa terpenoid tidak berwarna dan tidak ada pereaksi kromogenik yang peka (Harborne, 1987). Oleh karena itu, diperlukan penyemprotan dengan anisaldehyd asam sulfat lalu dipanaskan untuk menampakkan noda. Setelah disemprot dengan penampak noda H₂SO₄ 10% dan dipanaskan tampak noda berwarna merah ungu dilihat secara visual dan tampak noda merah pada λ 366

nm. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terdapat senyawa terpenoid pada Rf1.

5.3.6 Screening Tanin dan Polifenol

Screening polifenol dilakukan dengan 10 mg ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang dilarutkan dalam 2,5 mL methanol. Hasilnya dieluasi menggunakan:

Fase diam : Silica Gel F₂₅₄
Fase gerak : Kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5)
Penampak noda : FeCl₃

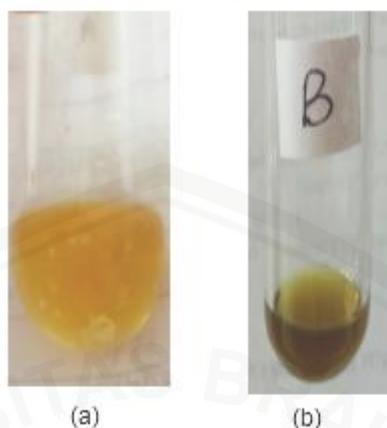


Gambar 5.3.6.1 Profil KLT Polifenol

Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, Fase gerak: Kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5), Penampak noda : FeCl₃ secara visual.

Pada hasil eluasi yang disemprot dengan penampak noda FeCl₃ akan terlihat noda berwarna hitam yang menunjukkan adanya senyawa polifenol pada ekstrak, tetapi pada hasil eluasi yang ditunjukkan pada gambar 5.3.6.1 tidak menunjukkan adanya noda yang berwarna hitam, sehingga dapat disimpulkan ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak mengandung senyawa polifenol. Karena uji tersebut hanya bisa mendeteksi adanya senyawa

polifenol pada ekstrak, sehingga untuk mendeteksi adanya senyawa tannin dapat dilakukan uji gelatin dan uji pewarnaan FeCl_3 .



Gambar 5.3.6.2 Hasil Skrining Tanin

Keterangan: (a) uji gelatin (b) uji pewarnaan FeCl_3

Dimana kedua uji tersebut masing-masing menggunakan ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang dilarutkan dalam 1 mL methanol. Pada uji gelatin larutan ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) diberikan 10 tetes gelatin 1% tampak adanya endapan putih. Pada uji pewarnaan FeCl_3 larutan ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) ditetesi dengan 3 tetes FeCl_3 , tampak larutan berubah menjadi warna hijau kehitaman. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) terdapat senyawa tanin terkondensasi.

5.3.7 Golongan Alkaloid

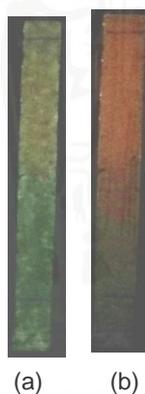
Uji Alkaloid dilakukan dengan preparasi sampel dan non preparasi sampel. Alkaloid tanpa preparasi sampel dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak kental jambu Wer ke dalam methanol 0,25 ml. Kemudian langsung dilakukan eluasi dengan fase gerak kloroform:etil asetat (70:3) dan fase diam

silica gel F₂₅₄. Sementara pada uji Alkaloid dengan preparasi sampel. Setelah sampel dilarutkan, kemudian ditambah HCl 2N, dipanaskan, ditambahkan sedikit NaCl, disaring, lalu filtratnya ditambah NH₄OH sampai basa, kemudian diekstraksi dengan kloroform. Hasilnya dieluasi dengan fase gerak kloroform:etil asetat (70:3) dan fase diam silica gel F₂₅₄. Setelah kedua sampel dieluasi, lalu diberi penampak noda dragendorf.



Gambar 5.3.7.1 Profil KLT Uji Alkaloid Non Preparatif

Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, Fase gerak: kloroform:etil asetat (70:3), Penampak noda: FeCl₃, diamati secara visual.



Gambar 5.3.7.2 Profil KLT Uji Alkaloid Preparatif

Keterangan: Fase diam: Silica Gel F₂₅₄, Fase gerak: kloroform:etil asetat (70:3), Penampak noda: FeCl₃, (a) UV λ 366 nm (b) UV λ 254 nm

Tabel 5.3 Data Hasil Screening Fitokimia Ekstrak Etanol 80% Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.).

Parameter Uji	Metode	Kesimpulan
Antrakuinon	Eluasi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10) pada λ 254nm	-
Antrakuinon	Eluasi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10) pada λ 366nm	-
Amilum	Reagen IKI	+
Amilum	Pengamatan dibawah mikroskop 100x dan 400x	+
Sapogenin Steroid	Penampak noda anisaldehida asam sulfat diamati pada λ 254nm	-
Sapogenin Steroid	Penampak noda anisaldehida asam sulfat diamati pada λ 366nm	-
Flavonoid	Penampak noda uap ammonia secara visual	+
Flavonoid	Penampak noda H ₂ SO ₄ 10% pada panjang gelombang 254nm	+
Flavonoid	Penampak noda H ₂ SO ₄ 10% pada panjang gelombang 366nm	+
Terpenoid	Penampak noda anisaldehyd-asam sulfat diamati pada λ 254nm	+
Terpenoid	Penampak noda anisaldehyd-asam sulfat diamati pada λ 366nm	+
Tanin	Uji gelatin	+
Tannin	Uji FeCl ₃	+
Polifenol	Penampak noda FeCl ₃ diamati pada λ 254nm	-
Polifenol	Penampak noda FeCl ₃ diamati pada λ 366nm	-
Alkaloid	Non-preparatif dengan penampak noda dragendorf	-
Alkaloid	Preparatif dengan penampak noda dragendorf	-

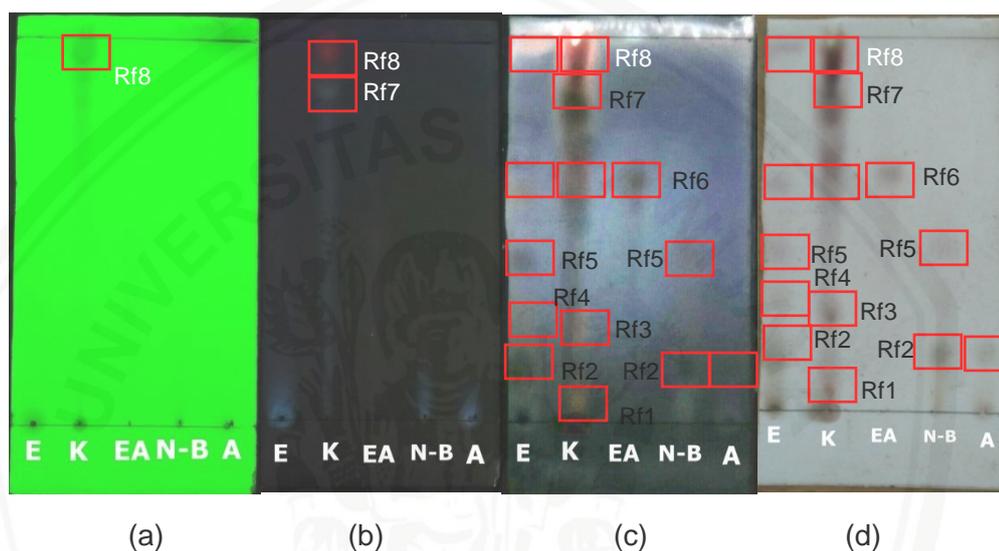
5.4 Hasil Optimasi Fase Gerak KLT

Pada penelitian ini, dilakukan optimasi fase gerak untuk masing-masing sampel ekstrak etanol 80% buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dan fraksinya, fase diam yang digunakan adalah silika GF254nm. Deteksi dilakukan pada UV λ 254 nm dan UV λ 366 nm, dan penampak noda H₂SO₄ 10%. Fase gerak yang digunakan pada proses optimasi adalah N- heksana : etil asetat (0.5 : 9.5), Kloroform : Aseton (2 : 8), N – heksana : Etil asetat (1 : 9), Kloroform : Aseton (1 : 9), Kloroform : Aseton : Asam Formiat (1 : 8,5 : 0,5), Kloroform : Aseton : Asam Formiat (3,5 : 6 : 0,5), Kloroform : Aseton : Asam Formiat (2 : 7,5 : 0,5), Kloroform : Aseton (3 : 7), dan Fase gerak Kloroform : Aseton (4 : 6).

Menurut Sudjadi (1986), pada UV λ 254 nm, lempeng akan berflouresensi sedangkan noda sampel akan tampak berwarna gelap, sedangkan pada UV λ 366 nm noda akan berflouresensi dan lempeng akan berwarna gelap, sehingga noda terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluororesensi. Prinsip penampak noda H₂SO₄ 10% berdasarkan kemampuan asam sulfat yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif sehingga menggeser panjang gelombang ke arah yang lebih panjang (UV menjadi VIS) sehingga noda menjadi tampak oleh mata.

Menurut Markham (2006), spot dari senyawa golongan flavonoid menunjukkan noda gelap pada sinar UV λ 254 nm, berwarna coklat kekuningan pada cahaya tampak, dan berwarna kehijauan/kuning gelap/kebiruan pada UV λ 366 nm. Menurut Debenedetti (2009), spot dari senyawa golongan alkaloid menunjukkan noda gelap pada UV λ 254 nm dan berwarna keunguan/biru/biru kehijauan pada UV λ 366 nm. Spot dari senyawa golongan tanin berwarna oranye pada UV λ 366 nm.

Menurut Sharifa *et al.* (2012), senyawa terpenoid akan membentuk warna merah muda, merah hingga ungu atau violet dengan UV 254 nm dan UV 366 nm setelah disemprot dengan H₂SO₄ 10% dan dipanaskan. Sedangkan menurut Glenks (2005), spot dari senyawa golongan saponin berwarna keunguan pada UV λ 366 nm setelah disemprot H₂SO₄ dan dipanaskan.



Gambar 5.4 Hasil Optimasi Fase Gerak KLT

Keterangan: Fase diam Silika Gel F₂₅₄, Penampak noda: H₂SO₄ 10%, Fase gerak Kloroform : Aseton : Asam Formiat (2 : 7,5 : 0,5) (a) UV 254 nm (b) UV 366 nm (c) UV 366 nm setelah diberi penampak noda (d) secara visual.

Fase gerak dikatakan optimal untuk tiap sampel ditunjukkan dengan jumlah spot dan ketajaman warna spot. Berdasarkan hasil optimasi menggunakan fase gerak Kloroform : Aseton : Asam Formiat (2 : 7,5 : 0,5), dapat dikatakan selektif untuk mengeluasi sampel ekstrak, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan fraksi air.

Nilai Rf dan warna masing-masing spot serta interpretasi senyawa metabolit yang tertarik untuk masing-masing sampel dan fase gerak dapat dilihat pada **Lampiran 15**. Berdasarkan hasil optimasi dengan berbagai macam fase

gerak di atas dilihat dari jumlah spot yang tereluasi, pemisahan spot yang baik, dan ketajaman spot untuk masing-masing sampel, maka fase gerak yang dapat memisahkan spot-spot dari masing-masing sampel ekstrak etanol dan fraksinya dengan baik dapat dilihat pada **Tabel 5.4**.

Tabel 5.4 Fase Gerak Hasil Optimasi untuk Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

Sampel	Fase Gerak	Perbandingan (dalam 10 ml)	Senyawa Metabolit yang Terekstrak
Ekstrak	Kloroform : Aseton : Asam Formiat	2 : 7,5 : 0,5	Flavonoid, Tanin dan Terpenoid
Fraksi Kloroform	Kloroform : Aseton : Asam Formiat	2 : 7,5 : 0,5	Terpenoid, Flavonoid, dan Tanin
Fraksi Etil Asetat	Kloroform : Aseton : Asam Formiat	2 : 7,5 : 0,5	Flavonoid
Fraksi N-butanol	Kloroform : Aseton : Asam Formiat	2 : 7,5 : 0,5	Flavonoid dan Terpenoid
Fraksi Air	Kloroform : Aseton : Asam Formiat	2 : 7,5 : 0,5	Flavonoid

5.5 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

5.5.1 Hasil Uji Kadar Hambat Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini, metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah mikrodilusi. Setelah itu dihitung nilai persen hambatan ekstrak dan fraksi buah jambu wer dengan rumus seperti yang terlampir pada **Lampiran 11**. Dari metode mikrodilusi tersebut, didapatkan hasil:

Tabel 5.5.1.1 Nilai Persen Hambatan Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Sampel	Konsentrasi	OD Sampel	Persen Hambatan (%)
1	Ekstrak	50000 ppm	0.555	201.394
		12.500 ppm	0.650	-57.769
		3.125 ppm	0.574	-95.618
		1.562,5 ppm	0.596	-103.785
		781,3 ppm	0.642	-129.879
2	Fraksi Kloroform	50000 ppm	0.636	245.019
		12.500 ppm	0.779	62.749
		3.125 ppm	0.601	-72.908
		1.562,5 ppm	0.702	-142.629
		781,3 ppm	0.717	-152.590
3	Fraksi Etil Asetat	50000 ppm	0.174	183.865
		12.500 ppm	0.454	15.936
		3.125 ppm	0.622	-114.143
		1.562,5 ppm	0.603	-116.335
		781,3 ppm	0.489	-70.916
4	Fraksi N-Butanol	50000 ppm	0.212	52.988
		12.500 ppm	0.584	-110.558
		3.125 ppm	0.692	-156.574
		1.562,5 ppm	0.732	-172.908
		781,3 ppm	0.716	-165.339
5	Fraksi Air	50000 ppm	0.914	-36.454
		12.500 ppm	0.503	-30.089
		3.125 ppm	0.565	-90.637
		1.562,5 ppm	0.521	-78.884
		781,3 ppm	0.587	-110.159
6	Kontrol Positif	50000 ppm	0.076	98.207
		12.500 ppm	0.455	-61.155
		3.125 ppm	0.465	-65.339
		1.562,5 ppm	0.430	-52.988
		781,3 ppm	0.448	-58.367

Tabel 5.5.1.2 Hasil Uji Kadar Hambat Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)				
		50000	12500	3125	1562.5	781.25
1	Ekstrak	+	-	-	-	-
2	Fraksi Kloroform	+	+	-	-	-
3	Fraksi Etil Asetat	+	+	-	-	-
4	Fraksi N-Butanol	+	-	-	-	-
5	Fraksi Air	-	-	-	-	-
6	Kontrol Positif (Ceftriaxone)	+	-	-	-	-

Keterangan : (+) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga

terdapat aktivitas antibakteri

(-) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga tidak terdapat aktivitas antibakteri

5.5.2 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini dilakukan uji kadar bunuh minimal ekstrak dan fraksi buah jambu wer pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara dilakukan swap sampel pada agar *plate* yang berisi medium *nutrient agar*. Dari uji kadar bunuh minimal didapatkan hasil:

Tabel 5.5.2.1 Hasil Uji Kadar Bunuh Minimal Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Hasil	
			Replikasi 1	Replikasi 2
1	Ekstrak	50000	+	+
		25000	+	+
		12500	-	-
		6250	-	-
2	Fraksi Kloroform	50000	+	+
		25000	+	+
3	Fraksi Etil Asetat	50000	+	+
		25000	-	-
4	Fraksi N-Butanol	50000	+	+
		25000	-	-

		12500	-	-
5	Fraksi Air	50000	-	-
		25000	-	-
		12500	-	-
6	Kontrol Negatif	-	-	-
		-	-	-
		-	-	-
		-	-	-
7	Kontrol Positif	50000	+	+
		25000	+	+
		12500	+	+
		6250	+	+

Keterangan : (+) dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga terdapat aktivitas antibakteri

(-) tidak dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga tidak terdapat aktivitas antibakteri

Tabel 5.5.2.2 Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.)

No.	Sampel Uji	Kadar Bunuh Minimum
1.	Kontrol Positif (Ceftriaxone)	6250 ppm
2.	Ekstrak	25000 ppm
3.	Fraksi Kloroform	25000 ppm
4.	Fraksi Etil Asetat	50000 ppm
5.	Fraksi N-Butanol	50000 ppm
6.	Fraksi Air	-

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) didapatkan melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi dari 151,08 gram serbuk buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dan menggunakan pelarut etanol 80%. Hasil ekstrak yang didapatkan yaitu ekstrak kental seperti pasta dan didapatkan ekstrak kering setelah dilakukan pemanasan. 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*, 2014). Selain itu pengadukan diperlukan untuk mempercepat proses pembasahan simplisia dengan pelarut. 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). Warna ekstrak yang dihasilkan adalah berwarna coklat. Berat hasil ekstraksi yang diperoleh yaitu 56,88 gram. Nilai persen

rendemen yang diperoleh adalah 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* Sieb.&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).

Setelah dilakukan proses maserasi, dilanjutkan dengan fraksinasi. Ekstrak etanol buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) difraksinasi dengan metode cair-cair menggunakan corong pisah untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran antara dua fase pelarut dengan densitas yang berbeda yang tak tercampur. Pelarut yang digunakan adalah kloroform, etil asetat, n-butanol dan air. Berat hasil fraksinasi yang diperoleh berturut-turut fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol, dan fraksi air adalah 1,194 gram;

1,857 gram; 4,0478 gram; dan 11,479 gram. Dalam fraksi kloroform senyawa yang dapat ditarik adalah flavonoid, tanin, dan terpenoid. Pada fraksi etil asetat dan fraksi air adalah senyawa flavonoid. Sedangkan pada fraksi n-butanol senyawa yang dapat ditarik adalah senyawa flavonoid dan terpenoid. Berdasarkan penelitian Tasmin *et al.*, (2014) fraksi kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid. Etil asetat dapat mengekstrak alkaloid, flavonoid, dan glikosida (Houghton dan Raman 1998). N-Butanol dapat mengekstrak senyawa polar, seperti glikosida, flavonoid, dan gula (Liu *et al.*, 2011). Sedangkan air dapat mengekstrak senyawa polar, seperti aglikon, glikosida, asam amino, dan gula (Houghton dan Raman 1998).

Berdasarkan hasil penelitian *screening* fitokimia ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dapat disimpulkan bahwa ekstrak memiliki kandungan senyawa amilum, flavonoid, terpenoid, dan tanin. Senyawa amilum dapat dilihat menggunakan mikroskop perbesaran 400x dan dengan penambahan reagen IKI. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder flavonoid adalah pada Rf 0,2375 dan Rf 0,5 spotnya menunjukkan noda gelap pada sinar UV λ 254 nm dan berwarna coklat kekuningan secara visual. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder terpenoid adalah pada Rf 0,5 spotnya menunjukkan noda berwarna ungu secara visual dan pada UV 366 nm tampak noda berwarna merah keunguan. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder tanin adalah diuji dengan uji gelatin dan uji pewarnaan FeCl_3 yang didapatkan hasilnya endapan putih pada uji gelatin dan perubahan warna menjadi hijau kehitaman pada uji pewarnaan FeCl_3 .

Menurut penelitian Hussain *et al.*, (2015) tentang skrining fitokimia dari ekstrak metanol daun *Prunus persica* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *Prunus persica* mengandung amilum, flavonoid dan tanin. Sedangkan menurut hasil penelitian dari Edrah *et al.*, (2013) ekstrak etanol daun *Prunus persica* memiliki kandungan kimia saponin, tanin, phlobatanin dan flavonoid. Penelitian lainnya juga menyebutkan kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman *Prunus persica* yaitu glikosida sianogenik, amygdalin, dan prunasin (Raerho *et al.*, 2007; Enaam *et al.*, 2003).

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan metode mikrodilusi. Mikroplate akan diinkubasi selama 24 jam dan dibaca 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). Hasil uji kadar hambat minimal ekstrak buah jambu wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 50000 ppm, dimana pada konsentrasi 50000 ppm ekstrak buah jambu wer dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan 201.394. Sedangkan pada konsentrasi 12500 ppm, 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -57.769; -95.618; -103.785; dan -129.88. Hasil uji kadar hambat minimal fraksi kloroform buah jambu wer pada Bakteri

Staphylococcus aureus adalah pada konsentrasi 12500 ppm, dimana pada konsentrasi 12500 ppm fraksi kloroform buah jambu wer dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan 62.749. Dan nilai persen hambatan pada konsentrasi 50000 ppm adalah 245.02. Sedangkan pada konsentrasi 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -72.908; -142.629 dan -152.59. Hasil uji kadar hambat minimal fraksi etil asetat buah jambu wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 12500 ppm, dimana pada konsentrasi 12500 ppm fraksi etil asetat buah jambu wer dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan 15.936. Dan nilai persen hambatan pada konsentrasi 50000 ppm adalah 183.865. Sedangkan pada konsentrasi 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -114.143; -116.335; dan -70.916. Hasil uji kadar hambat minimal fraksi n-butanol buah jambu wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 50000 ppm, dimana pada konsentrasi 50000 ppm fraksi n-butanol buah jambu wer dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan 52.988. Sedangkan pada konsentrasi 12500 ppm, 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -110.558; -156.574; -172.908; dan -165.339. Sedangkan pada fraksi air tidak memiliki kadar hambat minimal, oleh karena pada fraksi air tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* baik pada konsentrasi 50000 ppm, 12500 ppm, 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -36.454; -30.08; -90.637; -78.884; dan -110.159.

Jika dibandingkan dengan kontrol positif (seftriakson), hasil uji kadar hambat minimal kontrol positif dengan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 50000 ppm, dimana pada konsentrasi 50000 ppm seftriakson dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan 98.207. Sedangkan pada konsentrasi 12500 ppm, 3125 ppm, 1563,5 ppm dan 781,25 ppm tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan nilai persen hambatan berturut-turut adalah -61.155; -65.339; -52.988; dan -58.367. Sehingga apabila dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Sieb.&Zucc), fraksi kloroform dan fraksi etil asetat memiliki kadar hambat minimal (KHM) yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif (seftriakson), karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 12500 ppm. Sedangkan ekstrak dan fraksi n-butanol dan fraksi air buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif karena ekstrak dan fraksi n-butanol sama-sama dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 50000 ppm dan fraksi air tidak lebih baik dari kontrol positif karena tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil penelitian ini fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik menurut nilai KHM adalah fraksi kloroform. Penyebabnya karena jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang memberikan aktivitas antibakteri lebih banyak tertarik dalam fraksi ini (Indriyati *et al.*, 2014). Menurut penelitian Rachmawati *et al.*, (2011) hasil uji kualitatif dengan metode KLT mempengaruhi aktivitas farmakologis tanaman sehingga aktivitas antibakterinya diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa yang terdapat didalamnya. Pada

penelitian ini fraksi kloroform menghasilkan metabolit sekunder terpenoid, flavonoid, dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri.

Penentuan nilai kadar bunuh minimal pada penelitian ini dilakukan dengan metode *swab* sampel pada *agar plate* dengan media *Nutrient Agar* (NA). Konsentrasi yang digunakan pada uji ini berbeda-beda. Sampel yang telah dicatat nomor mikroplatanya di *swab* pada *agar plate*. Sampel dibuat dua kali replikasi. Lalu setelah di *swab*, *agar plate* diinkubasi selama 24 jam untuk dilihat pertumbuhan koloni bakterinya. Pada ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) digunakan 4 konsentrasi dengan dua kali replikasi yaitu konsentrasi 50000 ppm, 25000 ppm, 12500 ppm, dan 6250 ppm. Berdasarkan hasil penelitian kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada konsentrasi 25000 ppm. Dimana pada konsentrasi 25000 ppm ekstrak buah jambu wer dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil *swab* dari ekstrak buah jambu wer pada konsentrasi 50000 ppm dan 25000 ppm yaitu jernih pada *agar plate*, pada konsentrasi 12500 ppm dan 6250 ppm *agar plate* yang dihasilkan terdapat pertumbuhan bakteri yang menandakan pada konsentrasi 12500 ppm dan 6250 ppm ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak dapat membunuh bakteri. Sedangkan pada fraksi kloroform, konsentrasi yang digunakan yaitu 50000 ppm dan 25000 ppm dengan dua kali replikasi. Kadar bunuh minimal (KBM) fraksi kloroform buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada konsentrasi 25000 ppm. Dimana pada konsentrasi 25000 ppm fraksi kloroform buah jambu wer dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil *swab* dari fraksi kloroform buah jambu wer pada konsentrasi 50000 ppm dan 25000 ppm yaitu jernih pada *agar plate*, sehingga dapat menandakan bahwa fraksi kloroform buah jambu wer (*Prunus persica*

Zieb&Zucc.) dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50000 ppm dan 25000 ppm. Pada fraksi etil asetat konsentrasi yang digunakan yaitu 50000 ppm dan 25000 ppm dengan dua kali replikasi. Kadar bunuh minimal (KBM) fraksi kloroform buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada konsentrasi 50000 ppm. Dimana pada konsentrasi 50000 ppm fraksi etil asetat buah jambu wer dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil swab dari fraksi etil asetat buah jambu wer pada konsentrasi 50000 ppm yaitu jernih pada agar plate, sehingga dapat menandakan bahwa fraksi etil asetat buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50000 ppm. Sedangkan fraksi etil asetat pada konsentrasi 25000 ppm agar plate yang dihasilkan terdapat pertumbuhan bakteri yang menandakan pada konsentrasi 25000 ppm fraksi etil asetat buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada fraksi n-butanol konsentrasi yang digunakan yaitu 50000 ppm dan 25000 ppm dengan dua kali replikasi. Kadar bunuh minimal (KBM) fraksi kloroform buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada konsentrasi 50000 ppm. Dimana pada konsentrasi 50000 ppm fraksi n-butanol buah jambu wer dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil swab dari fraksi n-butanol buah jambu wer pada konsentrasi 50000 ppm yaitu jernih pada agar plate, sehingga dapat menandakan bahwa fraksi n-butanol buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50000 ppm. Sedangkan fraksi n-butanol pada konsentrasi 25000 ppm agar plate yang dihasilkan terdapat pertumbuhan bakteri yang menandakan pada konsentrasi 25000 ppm fraksi etil asetat buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak dapat membunuh

bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi air buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) digunakan konsentrasi 50000 ppm, 25000 ppm, dan 12500 ppm dengan dua kali replikasi. Fraksi air buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak memiliki nilai kadar bunuh minimal (KBM), hal ini dikarenakan pada agar plate kedua sampel ini menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada ketiga konsentrasi yang digunakan. Sehingga dapat menandakan bahwa fraksi air buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak memiliki aktivitas membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbedaan konsentrasi yang digunakan oleh karena keterbatasan agar plate yang tersedia, sehingga tidak dapat menguji seluruh konsentrasi.

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%. Hasil swab kontrol negatif menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan kontrol negatif tidak diberi perlakuan, sehingga dapat dibandingkan bahwa ekstrak dan fraksi buah jambu wer lebih baik aktivitasnya dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan kontrol negatif. Sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah seftriakson (100 mg/ml). Hasil kadar bunuh minimal (KBM) kontrol positif adalah pada konsentrasi 6250 ppm, dimana pada konsentrasi 6250 ppm seftriakson dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil swab kontrol positif pada keempat konsentrasi yang digunakan yaitu jernih pada agar plate, sehingga dapat menandakan bahwa kontrol positif dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50000 ppm, 25000 ppm, 12500 ppm, dan 6250 ppm. Jika dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi buah jambu wer, kontrol positif memiliki aktivitas membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* yang lebih baik dibandingkan dengan sampel ekstrak dan fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.).

Berdasarkan penelitian terdahulu mengenai antibakteri yang terkait dengan Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yaitu pada ekstrak etanol mahkota bunga Mawar (*Rosa damascena*) yang merupakan famili Rosaceae memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Pada konsentrasi 62.5 µg/ml ekstrak etanol mahkota bunga Mawar (*Rosa damascena*) menghasilkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing–masing sebesar 30 mm dan 34 mm (Halawani, Eman, 2014). Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Raturi, *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak methanol dari kulit batang *Prunus persica* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri gram negative *KleibSELLA pneumonia*, dengan diameter penghambatan bakteri yaitu (22-23.5 mm), (15-19 mm), (15.5-18.5 mm), dan (23-25 mm). Penelitian yang dilakukan Zahoor *et al.*, (2014) menyatakan bahwa madu dari bunga *Prunus persica* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter penghambatan yaitu 7,6 mm yang dilakukan dengan metode difusi sumuran. Sedangkan menurut penelitian Erdogan *et al.*, (2011) menyatakan bahwa ekstrak butanol dari *Prunus armeniaca* (Famili Rosaceae) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Micrococcus luteus* dengan nilai penghambatan yaitu 31.25 µg/mL. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa ekstrak metanol dari *Prunus armeniaca* (Famili Rosaceae) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dengan nilai penghambatan 0.312 mg/MI (Yigit and Mavi, 2009).

Menurut Cushnie (2005), aktivitas antimikroba senyawa flavonoid terhadap mikroorganisme patogen manusia dapat dikelompokkan menjadi tiga mekanisme. Pertama adalah flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat

karena cincin B flavonoid berhubungan dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat. Flavonoid juga mempengaruhi sintesis protein dan lipid namun pada tingkat yang lebih rendah. Mekanisme antimikroba lain dari flavonoid adalah penghambatan fungsi membran sitoplasma dengan mengurangi fluiditas membran sel bakteri, mengubah permeabilitas membran seluler dan merusak fungsi membran. Selain itu, flavonoid menunjukkan efek penghambatan pada bakteri dengan menghambat metabolisme energi yang diperlukan untuk serapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis.

Senyawa terpenoid juga diketahui aktif melawan bakteri, tetapi mekanisme antibakterial triterpenoid masih belum benar-benar diketahui. Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Cowan, 1999 ; Bobbarala, 2012).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tannin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1999). Menurut Sari dan Sari (2011), tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

Perbedaan hasil dari penelitian sebelumnya dan hasil penelitian ini dimungkinkan karena perbedaan sampel yang digunakan walaupun satu genus dan jenis sampel pada penelitian ini adalah fraksi sehingga senyawa metabolitnya sudah terpisah berdasarkan polaritasnya. Selain itu metode

pengujian aktivitas antibakteri juga berbeda, pada penelitian sebelumnya menggunakan metode difusi cakram sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian

Implikasi dari penelitian ini terhadap bidang kefarmasian adalah didapatkannya pelarut yang efektif untuk mengekstrak buah jambu wer yang berpotensi sebagai agen antibakteri baru yang dapat dikembangkan dalam berbagai formulasi dan sistem penghantaran obat sehingga memudahkan senyawa bioaktif dalam menjangkau target didalam sel bakteri. Selain itu, dengan diketahuinya fraksi kloroform memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* sebagai antibakteri, maka dapat dilakukan pemurnian lanjutan untuk didapatkan senyawa bioaktifnya. Dalam bidang kedokteran, fraksi kloroform ekstrak etanol buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) menjadi agen antibakteri terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) berdasarkan hasil *screening* fitokimia memiliki kandungan senyawa amilum, flavonoid, terpenoid, dan tanin. Amilum dapat dilihat menggunakan mikroskop perbesaran 400x dan dengan penambahan reagen IKI. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder flavonoid adalah pada Rf 0,2375 dan Rf 0,5 spotnya menunjukkan noda gelap pada sinar UV λ 254 nm dan berwarna cokelat kekuningan secara visual. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder terpenoid adalah pada Rf 0,5 spotnya menunjukkan noda berwarna ungu secara visual dan pada UV 366 nm tampak noda berwarna merah keunguan. Senyawa yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder tanin adalah diuji dengan uji gelatin dan uji pewarnaan FeCl₃ yang didapatkan hasilnya endapan putih pada uji gelatin dan perubahan warna menjadi hijau kehitaman pada uji pewarnaan FeCl₃.
2. Ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi tertentu pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji kadar



hambat minimal ekstrak dan fraksi n-butanol buah jambu wer pada Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 50000 ppm, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat menghambat pada konsentrasi 12500 ppm, sedangkan pada fraksi air tidak memiliki kadar hambat minimal. Kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak dan fraksi kloroform buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada konsentrasi 25000 ppm. Fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol pada konsentrasi 50000 ppm dan fraksi air buah jambu wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) tidak memiliki nilai kadar bunuh minimal (KBM).

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan untuk kelanjutan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan golongan senyawa dalam ekstrak dan fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* melalui metode bioautografi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhianata, H. 2012. Uji Aktivitas Senyawa Anti mikroba Ekstrak Mikroalga (Tetraselmis chunii) Metode Sonikasi. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Akhyar, 2010. *Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (Rhizophora stylosa Griff.) Terhadap Vibrio harveyi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Andersen, O. & Markham, K., 2006. *Flavonoid: Chemistry, Biochemistry, and Applications*. USA: Taylor and Francis Group.
- Ardiansyah, D., Komala, O. & Wiendarlina, I. Y., 2013. *Analisis KLT-Bioautografi Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Bakteri Salmonella typhi*. Bogor: Universitas Pakuan Press.
- Arista, M., 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynous L.*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, II(2).
- Batoro, J., Setiadi, D., Chikmawati, T. & Purwanto, Y., 2011. Pengetahuan Tentang Tumbuhan Masyarakat Tengger di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur. *Wacana, Jurnal Sosial dan Humaniora*, Volume 14, p. 1.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. 2015 . Molecular Mechanisms Of Antibiotic Resistance. *Nature Microbiology*, 42-51.
- Bobbarala, V., 2012. *Antimicrobial Agents*. Croatia: Intech.
- Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A., 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick & Adelberg*. Jakarta: EGC.

- Byarugaba, D. K., 2009. *Mechanism of Antimicrobial Resistance*. Uganda: Departement of Veterany Microbiology and Parasitology , Faculty of Veteinary Medicine, Makerere University.
- Caldarella, M., 2005. Visceral Sensitivity and Symptoms in Patients with Constipation or Diarrhea-predominant Irritable Bowel Syndrome (IBS). *Journal of Gastroenterology*, II(2), p. 383.
- Ciesla, W. P. & Guerrant, R. L., 2003. *Infectious Diarrhea*. New York: Lange Medical Books.
- Cowan, M. M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Volume XII, p. 564 – 582.
- Cushnie, T. P. T. & Lamb, A. J., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Volume XXVI, p. 343 – 356.
- Debenedetti, S., 2009. *Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals*. Buenos Aires: Penerbit TLC dan PC Publisher.
- Ditjen, P., 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dzen, S. M., Santoso, S., Roekistiningsih & Santosaningsih, D., 2005. Perbedaan Pola Resistensi Staphylococcus Koagulase Negatif Isolat Darah Terhadap Antibiotika Di RSUD Dr Saiful Anwar Malang Tahun 2000-2001 Dengan 2004-2005. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, XXI(3), pp. 127-132.
- ECDC, 2014. *Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe Annual Report of The European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARSNet)*. Eropa: Stockholm.
- Edrah, S., Alafid, F. & 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)*, pp. 2319-7064.
- BIBLIOGRAPHY \m Yul13 \l 1033 Efendi, Y. N. & Hertiani, T., 2013. Antimicrobial Potencet Of Ant-Plant Extract (*Myrmecodia tuberosa* JACK.)

- Againts *Candida albicans*, *Escherichia coli*, And *Staphylococcus aureus*. *Trad. Med. J.*, 18(1), pp. 53-58.
- Glenks, S. M., Wlodarczyk, M., Radom, M. & Cisowski, W., 2005. TLC as a Rapid and Convient Method for Saponin Investigation. *Journal of Planar Convient Method for Saponin Investigation*, XVIII(2), pp. 167-170.
- Grayson, M. L., Cosgrove, S. E., Crowe, S., Hope, W., McCarthy, J. S., Mills, J., . . . Paterson, D. L. 2017 . *Kucers' The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition - Three Volume Set*. USA: CRS Press.
- Halawani, E. M., 2014. Antimicrobial Activity of *Rosa damascena* petals Extracts And Chemical Composition by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC MS) Analysis. *African Journal of Microbiology Research*, Volume XXIV, p. 8.
- Han, W., Xu, J. D., Wei, F. X., Zheng, Y. D., Ma, J. Z., Xu, X. D., . . . Zhang, Y. C. 2015 . Prokinetic Activity of *Prunus persica* (L.) Batsch Flowers Extract and Its Possible Mechanism of Action in Rats. *BioMed Research International*, 1-10.
- Hendayana, S., 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hermawan, A., Hana, W. & Wiwiek, T., 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Journal of Airlangga University*.
- Houghton, P. J. & Raman, A., 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. UK: Chapman and Hall.
- Hussain, Talab., Baba, Irshad Ahmad., Jain, S.M., Wani, Arif. 2015. Phytochemical Screening Of Methanolic Extract of *Prunus persica*. *International Journal of Scientific Research* Vol 4 Issues 3.
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Adelberg., G.F. Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20 (Alih bahasa : Nugroho & R.F.Maulany). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hal. 211,213,215.
- Katzung, B. G., 2007. *Basic & Clinical Pharmacology*. 10th ed. United States: Lange Medical Publications.

- 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.). *Laporan Penelitian*. FMIPA UNSRAT. Manado.
- Kusmayati & Agustini, 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*, VIII(1), pp. 48-53.
- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S. dan Liu, J. (2011). The Antioxidant And Free-Radical Scavenging Activities Of Extract And Fractions From Corn Silk (*Zea mays* L.) And Related flavone Glycosides. *Food Chemistry*. 126:261–269.
- Lowy, F. D., Miller, M., Cook, H. A., Furuya, Y., Bhat, M., Lee, M.-H., . . . Larson, E. 2009 . *Staphylococcus aureus* in the Community: Colonization Versus Infection. *PLoS One*, 1-9.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. & Parker, J., 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. 9th ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- MIMS, 2004. *Medical Microbiology*. 3rd ed. London: Mosby.
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2).
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. NCCLS document M27–A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Villanova, Pa
- Nuria, M. C., Faizatun, A. & Sumantri, 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella Typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*, Volume V, p. 26 – 37.
- Otshudi, L., Vercruyse, A. & Foriers, A., 2000. Contribution To The Ethnobotanical, Phytochemical and Pharmacological Studies of

Traditionally Used Medicinal Plants in The Treatment of Dysentery and Diarrhoea in Lomela Area, Democratic Republic of Congo (DRC). *J Ethnopharmacol*, 71(3), pp. 411-423.

Paul, J. D., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadju, B. T., & Sekimizu, K. 2013 . Antimicrobial Action Mechanism Of Flavonoids From *Dorstenia* Species. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(2):66-72.

Pratiwi, S. T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Rasmussen, R. V., Fowler, V. G., Skov, R. & Bruun, N. E., 2011. Future Challenges And Treatment Of *Staphylococcus aureus* Bacteremia With Emphasis On MRSA. *Future Microbiology*, VI(1), pp. 43-56.

Raturi, Rakesh., Singh, Harpreet., Bahuguna, P., Sati, SC., Badoni, PP. 2011 . Antibacterial and Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Bark of *Prunus persica*, *Journal of Applied and Natural Science*, Vol. 3 (2) : 312-314.

Refdanita, R., Maksum, A., Nurgani & Endang, P., 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *Makara Kesehatan*, VIII(2), pp. 41-48.

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.

Rozalia, M., 2013. Aktivitas Antibakteri Dan Bioautografi Ekstrak Etanol Kulit Kayu Akway (*Drymis piperita* Hook. f.) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* Dan *Salmonella Typhi*. *Universitas Muhammadiyah Surakarta Press*, pp. 1-13.

Sari, F. P. & Sari, S., 2011. *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.

Schiller, L. & Sellin, J., 2016. *Diarrhea*. In: *Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ*, eds. 10th ed. Philadelphia: PA: Elsevier Saunders.

Sharifa, A. A., Jamaludin, J., Kiong, L. S., Chia, L. A., dan Osman, K. 2012. Anti Urolithiatic Terpenoid Compound from *Plantago major* Linn. (Ekor Anjing). *Sains Malaysiana*, Vol. 41(1): 33–39.

Sudjadi, 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: UGM Press.

SUNG, W. S. & LEE, D. G., 2008. The Combination Effect of Korean Red Ginseng Saponins with Kanamycin and Cefotaxime against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol. Pharm. Bull*, 31(8), p. 1614–1617.

Suryantoa, Lumempouwa & Paendonga, 2012. Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (*Zea Mays* L.). *Jurnal MIPA UNSRAT*, Volume I.

Tjay & Rahardja, K., 2007. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT Elex Media.

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

Wibawa, Tri. 2015. Mechanism of Antibiotik Resistance in Bacteria. <http://www.libmed.ugm.ac.id>. Diakses pada 15 Oktober 2017.

World Health Organization. 2017. Antimicrobial Resistance. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. Diakses 30 Juli 2017.

Wulandari, L., 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT Taman Kampus.

Yigit, D., Yigit, D. & Mavi, A., 2009. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Bitter and Sweet Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Kernels. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Volume 42, p. 346–352.

BIBLIOGRAPHY \m Muh14 \l 1033 Zahoor, M., Naz, S., & Sangeen, M. (2014). Antibacterial, antifungal and antioxidant activities of honey

collected from Timergara (Dir, Pakistan) . *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol.27, No.1, 45-50.

