

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 80% DAN
FRAKSI BUAH (*Prunus persica* Zieb& Zucc) TERHADAP
BAKTERI *Streptococcus pneumoniae***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh :

**Regiana Ramadanti Winsukamto
NIM 155070501111032**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI BUAH
(PRUNUS PERSICA ZIEB & ZUCC) TERHADAP BAKTERI
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**

Oleh :

Regiana Ramadanti Winsukamto

155070501111032

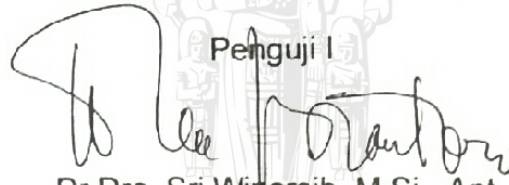
Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 10 April 2019

Dan dinyatakan lulus oleh

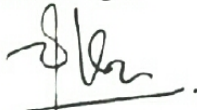
Penguji I



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

NIP. 195408231981032001

Pembimbing I



Uswatun Khasanah, M.Farm., Apt

NIP. 2011068512222001

Pembimbing II



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

NIP. 2009128506121001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Farmasi



Alvan Febrian Shalas, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 2011068502181001



ABSTRAK**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 80% DAN FRAKSI BUAH
(*Prunus persica* Zieb & Zucc) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus
pneumoniae***

Uswatun Khasanah, Rudy Salam, Regiana Ramadanti Winsukamto. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. 0341-551661, 575777, Email : Ramaregiana@gmail.com

Antibiotik merupakan senyawa alami atau senyawa sintetik yang dapat menghambat serta membunuh aktivitas bakteri. Kasus resistensi antibiotik merupakan masalah global yang banyak terjadi baik pada negara maju dan berkembang seperti Indonesia. Seiring meningkatnya resistensi antibiotik, banyak dilakukan penelitian untuk mendapatkan senyawa baru yang berasal dari bahan alam, salah satunya buah *Prunus persica* Zieb & Zucc yang banyak digunakan masyarakat Bromo Tengger Semeru dalam mengobati berbagai penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 80% , fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Pengujian sampel terdiri dari beberapa tahapan yaitu ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 80%, identifikasi fitokimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan diteruskan dengan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM). Hasil penelitian menunjukkan dalam fraksi-fraksi Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) mengandung flavonoid, terpenoid, antrakuinon dan polifenol. Hasil yang diperoleh dari KHM dari setiap sampel yaitu fraksi kloroform sebesar 97.66 ppm, fraksi etil asetat sebesar 390.63 ppm, fraksi n-butanol sebesar 781.25 ppm, fraksi air sebesar 50000 ppm dan ekstrak etanol tidak teramati pada konsentrasi 50000 ppm. Nilai KBM fraksi kloroform sebesar 1562.5 ppm, fraksi etil asetat sebesar 3125 ppm, fraksi n-butanol sebesar 37500 ppm, fraksi air sebesar 50000 ppm.

Kata Kunci : *Streptococcus pneumoniae*, *Prunus persica* Zieb & Zucc, Antibakteri, Mikrodilusi

ABSTRACT**ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF 80% ETHANOL EXTRACTS AND FRUIT FRACTIONS (*Prunus persica* Zieb & Zucc) In BACTERIA *Streptococcus pneumoniae***

Uswatun Khasanah, Rudy Salam, Regiana Ramadanti Winsukamto. Pharmacy Program of Medical Faculty Brawijaya University Jl. Veteran, Malang 65145, Telp. 0341-551661, 575777, Email : Ramaregiana@gmail.com

Antibiotics are natural or synthetic compounds that can inhibit and kill activities of bacterial. Antibiotic resistance is global major problem in many developed and developing countries such as Indonesia. As antibiotic resistance increases, a lot of researches has been done to get new antibiotic compounds from natural ingredients. *Prunus persica* Zieb & Zucc fruit is one of natural ingredients which is widely used by the Bromo Tengger Semeru people in treating various diseases. This study aims to determine the secondary metabolites profile and antibacterial activity of 80% ethanol extract, chloroform fraction, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction and water fraction of *Prunus persica* Zieb & Zucc against *Streptococcus pneumoniae*. The sample was tested by several stages. The first stage was extraction by maceration using 80% ethanol solvent. Phytochemicals identification was done tested by Thin Layer Chromatography (TLC) method and antibacterial activity was tested by the microdilution method to determine the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Killing Concentraon (MKC). The results showed that Fractions in Fruits (*Prunus persica* Zieb & Zucc) contained flavonoids, terpenoids, anthraquinones and polyphenols. MIC value of chloroform fraction was 97.66 ppm, ethyl acetate fraction was 390.63 ppm, n-butanol fraction was 781.25 ppm, water fraction was 50000 ppm and ethanol extract was not observed at concentration of 50000 ppm. The MKC value of chloroform fraction was 1562.5 ppm, the ethyl acetate fraction was 3125 ppm, the n-butanol fraction was 37500 ppm, the water fraction was 50000 ppm.

Keywords : *Streptococcus pneumoniae*, *Prunus persica* Zieb & Zucc,
Antibacterial, Microdilution



DAFTAR ISI

Cover.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik.....	6
2.1.1 Definisi Antibiotik.....	6
2.1.2 Mekanisme Kerja Antibiotik	6
2.1.3 Resistensi Antibiotik	9



2.2 Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	11
2.3 <i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc	14
2.3.1 Klasifikasi	14
2.3.2 Morfologi	14
2.3.3 Kandungan Metabolit Sekunder	15
2.3.4 Aktivitas Farmakologi	15
2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi	16
2.4.1 Definisi Ekstraksi.....	16
2.4.2 Jenis atau Metode Ekstraksi.....	16
2.4.2.1 Ekstraksi Panas.....	17
2.4.2.1.1 Ekstraksi Soxhletasi.....	17
2.4.2.1.2 Refluks.....	17
2.4.2.1.3 Infus.....	18
2.4.2.2 Ekstraksi Dingin.....	18
2.4.2.2.1 Maserasi	18
2.4.2.2.2 Digesti.....	18
2.4.2.2.3 Perkolasi.....	18
2.4.3.1 Fraksinasi.....	19
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	20
2.6 Uji Antibakteri.....	21
2.6.1 Metode Difusi	21
2.6.1.1 Disc diffusion	21
2.6.1.2 E-test.....	21
2.6.1.3 <i>Ditch-plate technique</i>	21
2.6.1.4 <i>Cup-plate technique</i>	22
2.6.1.5 <i>Gradient plate technique</i>	22
2.6.2 Metode Dilusi	22
2.6.2.1 Dilusi Cair	22
2.6.2.2 Dilusi Padat	23
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	24
3.1 Kerangka Konsep.....	25
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	27



4.1 Rancangan Penelitian	27
4.2 Sampel Penelitian	27
4.3 Variabel Penelitian	27
4.3.1 Variabel Bebas	27
4.3.2 Variabel Terikat	28
4.3.3 Variabel Kontrol	28
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	28
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	28
4.5.1 Alat Penelitian	28
4.5.2 Bahan Penelitian	29
4.6 Definisi Operasional	29
4.7 Alur Penelitian	31
4.8 Prosedur Penelitian	31
4.8.1 Maserasi buah (<i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc)	31
4.8.2 Fraksinasi (Kloroform, etil-asetat, n-butanol) Buah (<i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc)	32
4.8.3 Optimasi dan Identifikasi profil metabolit dengan KLT	33
4.8.4 Uji Kepekaan Bakteri	34
4.8.4.1 Preparasi Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	34
4.8.4.2 Pembuatan Medium	35
4.8.5 Mikrodilusi	36
4.8.5.1 Pengenceran Larutan Uji	36
4.9 Analisis Data	37
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	38
5.1 Hasil Penelitian	38
5.1.1 Ekstraksi Buah (<i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc)	38
5.1.2 Fraksinasi Ekstrak Etanol 80%	38
5.1.3 Skrining Fitokimia Fraksinasi Buah	39
5.1.3.1 Identifikasi Antrakuinon	39
5.1.3.2 Identifikasi Terpenoid	39
5.1.3.3 Identifikasi Flavonoid	40
5.1.3.3.1 Penampak Noda H ₂ SO ₄	40
5.1.3.3.2 Penampak Noda Ammonia	41
5.1.3.4 Identifikasi Tanin dan Polifenol	42

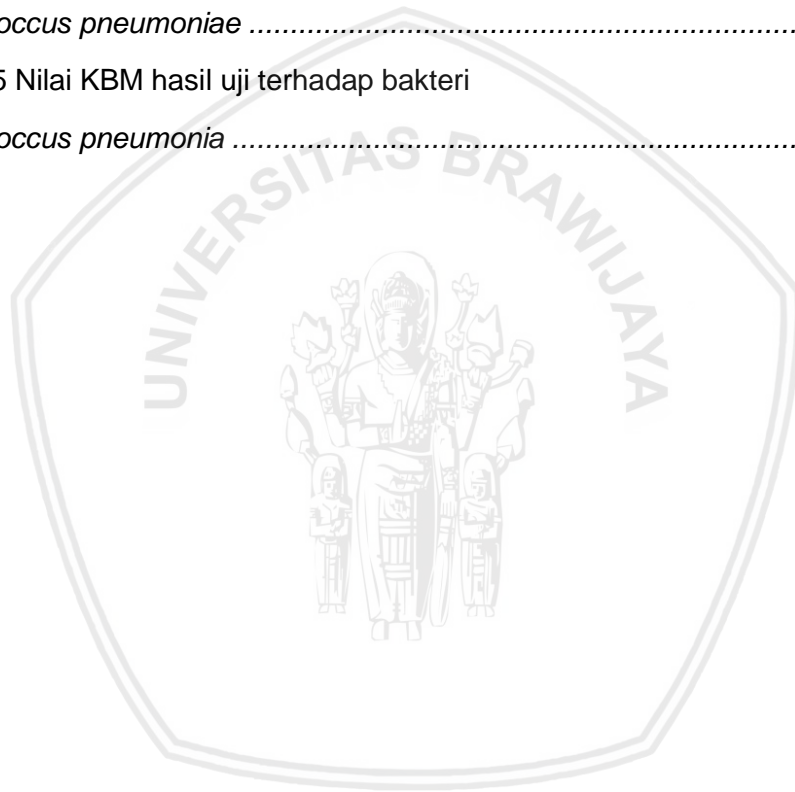


5.1.3.4.1 Tanin	42
5.1.3.4.2 Polifenol	44
5.1.3.5 Identifikasi Alkaloid.....	44
5.1.4 Uji Antibakteri (Mikrodilusi).....	45
BAB 6. PEMBAHASAN.....	51
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	60
7.1 Kesimpulan.....	60
7.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN	72



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi buah (<i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc).....	46
Tabel 5.2 Hasil Fraksinasi Cair-cair	46
Tabel 5.3 Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder	53
Tabel 5.4 Nilai KHM uji mikrodilusi terhadap bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	54
Tabel 5.5 Nilai KBM hasil uji terhadap bakteri <i>Streptococcus pneumonia</i>	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 *Streptococcus pneumoniae* 12

Gambar 2.2 Buah (*Prunus persica Zieb&Zucc*)..... 15

Gambar 3.1 Kerangka Penelitian 24

Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian 31

Gambar 5.1 Hasil Profil KLT Antrakuinon 40

Gambar 5.2 Hasil Profil KLT Terpenoid 41

Gambar 5.3 Hasil Profil KLT Flavonoid 42

Gambar 5.4 Hasil Profil KLT Flavonoid 43

Gambar 5,5 Hasil Identifikasi Tanin dan Polifenol..... 44

Gambar 5.6 Hasil Identifikasi Tanin 44

Gambar 5.7 Hasil Profil KLT Polifenol..... 45

Gambar 5.8 Hasil Profil KLT Alkaloid 46

Gambar 5.9 Koloni Bakteri *Streptococcus pneumonia* 47

Gambar 5.10 Penanaman Bakteri pada Medium BAP 48

Gambar 5.11 Tes Katalase (Negatif)..... 49

Gambar 5.12 Tes Optokin 17 mm..... 49

DAFTAR SINGKATAN

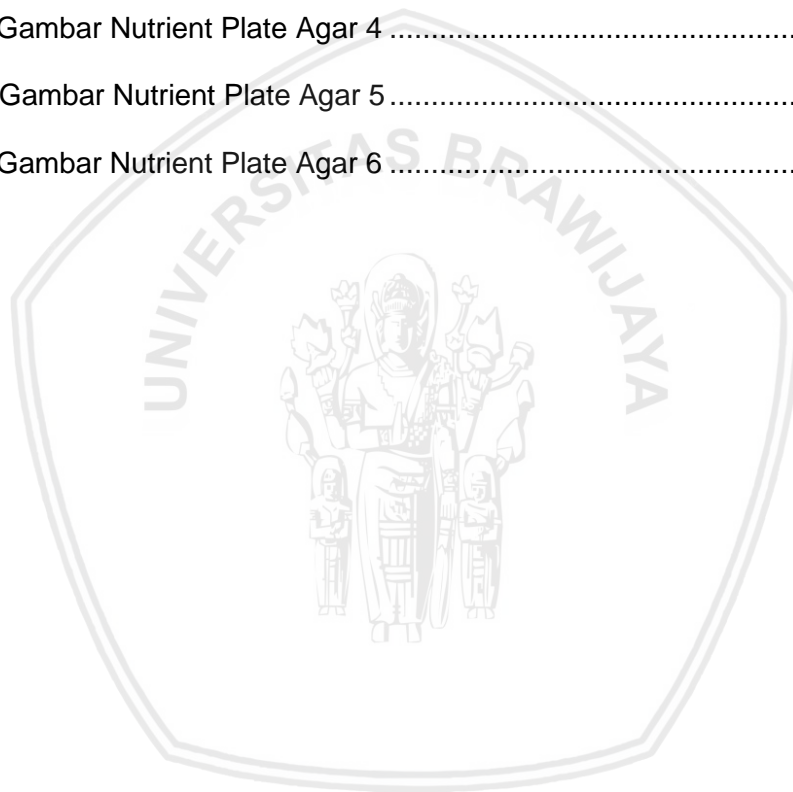
WHO	: <i>World Health Organization</i>
MRSA	: <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
ESBL	: <i>Extended Spectrum Beta Lactamase</i>
CAP	: <i>Community Acquired Pneumonia</i>
PABA	: <i>Para Amino Benzoat</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
KCV	: Kromatografi Cair Vakum
SPE	: <i>Solid-phase Extraction</i>
SEC	: <i>Size-exclusion Chromatography</i>
KK	: Kromatografi Kolom
MIC	: <i>Minimum Inhibitor Concentration</i>
MBC	: <i>Minimum Bactersidal Concentration</i>
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Proses Ekstraksi	71
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 80% Buah (<i>Prunus persica</i> <i>Zieb & Zucc.</i>)	71
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Fraksi Buah (<i>Prunus persica Zieb & Zucc.</i>)	71
Lampiran 4. Perhitungan Pengenceran Bakteri.....	72
Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Sampel Mikrodilusi	72
Lampiran 6. Peta Mikrodilusi pada Mikroplate.....	74
Lampiran 7. Hasil Skrining Fitokimia	75
Lampiran 8. Perhitungan Persen Hambatan Bakteri	76
8.1 Sampel Uji : Kontrol positif (Seftriakson + Bakteri)	76
8.2 Sampel Uji : Ekstrak + Suspensi Bakteri.....	76
8.3 Sampel Uji : Fraksi Kloroform + Suspensi Bakteri	77
8.4 Sampel Uji : Fraksi Etil asetat + Suspensi Bakteri	77
8.5 Sampel Uji : Fraksi N-butanol + Suspensi Bakteri	78
8.6 Sampel Uji : Fraksi Air + Suspensi Bakteri	78
Lampiran 9. Rumus Persen Hambatan	79
Lampiran 10. Grafik Persen Hambatan.....	80
10.1 Sampel Uji : Kontrol positif (Seftriakson + Bakteri)	80
10.2 Sampel Uji : Ekstrak + Suspensi Bakteri.....	80
10.3 Sampel Uji : Fraksi Kloroform + Suspensi Bakteri	81
10.4 Sampel Uji : Fraksi Etil asetat + Suspensi Bakteri	81



10.5 Sampel Uji : Fraksi N-butanol + Suspensi Bakteri	82
10.6 Sampel Uji : Fraksi Air + Suspensi Bakteri	82
Lampiran 11. Gambar Plate Agar	83
11.1 Gambar Nutrient Plate Agar 1	83
11.2 Gambar Nutrient Plate Agar 2	84
11.3 Gambar Nutrient Plate Agar 3	85
11.4 Gambar Nutrient Plate Agar 4	86
11.5 Gambar Nutrient Plate Agar 5	87
11.6 Gambar Nutrient Plate Agar 6	88



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik

2.1.1 Definisi Antibiotik

Antibiotik merupakan senyawa kimia yang memiliki fungsi untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme yang meliputi jamur, virus, dan bakteri. Antibiotik dikatakan baik jika bahan tersebut efektif dalam membunuh mikroorganisme tetapi tidak mengiritasi jaringan sekitarnya (Newman *et al.*, 2001). Antibiotik berasal dari tubuh mikroorganisme yang digunakan untuk menghambat serta membunuh pertumbuhan dari suatu bakteri. Istilah “antibiotik” merujuk pada senyawa yang dihasilkan mikroorganisme lain yang dapat menghambat serta membunuh infeksi yang disebabkan bakteri pada hewan dan manusia. Agen antibiotik tidak hanya berasal dari mikroorganisme saja, namun agen antibiotik bisa berasal dari senyawa sintetis yang dapat menghambat serta membunuh aktivitas dari suatu bakteri. Sehingga dapat disimpulkan bahwa antimikroba dapat berasal dari senyawa kimia dan senyawa sintetis (Katzung,2007).

2.1.2 Mekanisme Kerja Antibiotik

Mekanisme yang dapat menghambat dan membunuh mikroorganisme dikelompokkan menjadi lima yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobial, mengganggu atau menghambat metabolisme sel mikrobial, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikrobial,

menghambat sintesis protein sel mikroba, dan mengganggu permeabilitas membran sel mikroba (Kristanti dan Desy, 2012).

1. Menghambat sintesis dinding sel mikrobia

Antimikroba yang memiliki kemampuan menghambat sintesis dinding mikroba. Kemampuan menghambat sintesis dinding sel menyebabkan hilangnya viabilitas dan menyebabkan lisis. Dinding mikroba memiliki beberapa lapisan yang menentukan bentuk karakteristik dan melindungi bagian dalam sel terhadap perubahan tekanan osmotik. Pada bakteri Gram-positif struktur dinding selnya relatif sederhana, tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal, dikelilingi lapisan teichoic acid, dan beberapa spesies mempunyai lapisan polisakarida. Sedangkan bakteri Gram-negatif struktur dinding selnya relative kompleks, mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, dikelilingi lapisan protein, lipopolisakarida, fosfolipid, dan beberapa protein. Peptidoglikan pada bakteri Gram-positif termasuk komponen yang menentukan rigiditas dan pada bakteri Gram-negatif berperan sebagai integritas. Sehingga gangguan pada sintesis komponen tersebut mengakibatkan lisis dan kematian sel (Setiabudy,2008).

Contoh antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri yaitu penicillin, cephalosporin, carbapenem, monobactam dan polymixin (Wibawa,2015)

2. Mengganggu atau menghambat metabolisme sel mikroba

Salah satu jenis antimikroba yang dapat mengganggu metabolisme sel mikroba adalah sulfonamida yang merupakan analog dari *para amino benzoat*. PABA atau *para amino benzoat* adalah suatu zat penting dalam sintesa asam folat pada mikroba. Senyawa sulfonamide dan PABA

memiliki kesamaan struktur sehingga akan terjadi kompetisi pada kedua senyawa tersebut dalam sintesis asam folat. Jika sulfonamide lebih menang dari PABA maka akan terbentuk analog asam folat yang non fungsional yang dapat mengakibatkan sintesis pada asam folat terhambat sehingga pembentukan basa purin dan primidin juga akan ikut terhambat. Karena hal itu mengakibatkan proses pertumbuhan bakteri akan terhenti dan terjadi kematian bakteri. Pada mekanisme kerja ini termasuk efek bakteristatik (Setyabudi, 2008).

3. Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba

Golongan antimikroba yang dapat menghambat asam nukleat pada sel mikroba adalah golongan rifampisin dan golongan kuinolon. Kerja obat dari golongan rifampisin adalah menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel (Setyabudi, 2008).

4. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Pada kehidupan sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Dengan bantuan mRNA dan tRNA sintesis protein berlangsung di ribosom. Terdapat dua sub unit ribosom pada bakteri, berdasarkan konstanta sedimentasi yaitu ribosom 30S dan 50S. Komponen 30S dan 50S akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S yang berfungsi pada sintesis protein. Terdapat berbagai cara dalam penghambatan sintesis protein, salah satunya adalah streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S yang menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca tRNA saat sintesis protein. Akibatnya, terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba (Setyabudi, 2008). Contoh antibiotik yang

menghambat sintesis protein sel mikroba yaitu kloramfenikol bersifat bakterisidal, tetrasiklin dan klindamycin yang bersifat baktriostatik (Wibawa,2015)

5. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba

Beberapa zat tertentu dapat merusak membran sel bakteri dan jamur tanpa merusak sel inang. Antimikroba golongan *surface active agent* yaitu polymixin, polyene, dan antiseptik dapat merubah tegangan permukaan sehingga dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan yang terjadi pada membran sel menimbulkan kebocoran yang mengakibatkan keluarnya berbagai komponen sel yang esensial sehingga bakteri akan mengalami kematian (Setyabudi, 2008).

2.1.3 Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik merupakan kegagalan dari suatu pengobatan menggunakan antibiotik dengan dosis terapi. Resistensi terjadi karena antimikroba (seperti antimalaria, antibiotik, antivirus) dihentikan kerjanya oleh mikroorganisme (seperti beberapa parasit, virus, bakteri). Sehingga, infeksi pada tubuh manusia dan hewan tetap bertahan dan menyebar (WHO, 2017). Timbulnya resistensi terhadap suatu antibiotika terjadi berdasarkan salah satu atau lebih mekanisme berikut :

1. Bakteri mensintesis suatu enzim inaktivator atau penghancur antibiotika.

Misalnya Stafilokoki, resisten terhadap penisilin G menghasilkan beta-laktamase, yang merusak obat tersebut. Beta-laktamase yang merusak obat tersebut. Beta-laktamase lain dihasilkan oleh bakteri batang Gram-negatif.

2. Bakteri mengubah permeabilitasnya terhadap obat. Misalnya tetrasiklin, tertimbun dalam bakteri yang rentan tetapi tidak pada bakteri yang resisten.
3. Bakteri mengembangkan suatu perubahan struktur sasaran bagi obat. Misalnya resistensi kromosom terhadap aminoglikosida berhubungan dengan hilangnya (atau perubahan) protein spesifik pada subunit 30s ribosom bakteri yang bertindak sebagai reseptor pada organisme yang rentan.
4. Bakteri mengembangkan perubahan jalur metabolik yang langsung dihambat oleh obat. Misalnya beberapa bakteri yang resisten terhadap sulfonamide tidak membutuhkan PABA ekstraseluler, tetapi seperti sel mamalia dapat menggunakan asam folat yang telah dibentuk.
5. Bakteri mengembangkan perubahan enzim yang tetap dapat melakukan fungsi metabolismenya tetapi lebih sedikit dipengaruhi oleh obat dari pada enzim pada kuman yang rentan terhadap sulfonamide, dihidropteroat sintetase, mempunyai afinitas yang jauh lebih tinggi terhadap sulfonamide dari pada PABA (Jawetz, 1997).

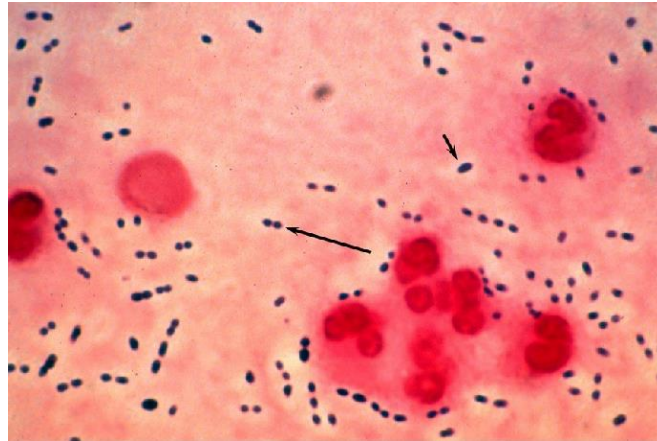
Secara umum ,resistensi antibiotik terjadi karena kurangnya pengetahuan dalam penggunaan antibiotik yang benar dikalangan masyarakat. Faktor-faktor yang dapat memudahkan resistensi yaitu penggunaan antibiotik yang sering, penggunaan antibiotik yang irasional dirumah, penggunaan antibiotik baru yang berlebihan ,serta penggunaannya dalam jangka waktu lama, hal ini dapat menyebabkan bakteri menjadi kebal. Resistensi terhadap bakteri merupakan suatu masalah yang harus diperhatikan khusus karena menyebabkan kegagalan terapi dengan

antibiotik (Byarugaba, 2009). Berbagai strategi dilakukan untuk mengurangi resistensi antibiotik salah satunya menciptakan antibiotik semisintetik. Namun strategi ini belum bisa menyelesaikan masalah resistensi karena antibiotik . Penggunaan bermacam-macam antibiotika dapat menyebabkan resistensi oleh jenis bakteri tertentu.

Terlalu sering menggunakan antibiotik berpotensi membunuh bakteri baik dalam tubuh sehingga menyebabkan ketidakseimbangan mikroorganisme yang berdampak pada mudahnya bakteri, parasit dan jamur menyerang tubuh manusia. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering dapat mengganggu keseimbangan flora normal dalam usus , karena didalam usus terdapat bakteri yang membantu pencernaan serta memproduksi vitamin K (Refdanita dkk, 2004).

2.2 Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Diplococcic
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus pneumoniae</i>



Gambar 2.1 Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri gram positif, alfa-hemolitik dari genus *Streptococcus* (Ryan,2004). Berbentuk lancet atau berbentuk rantai, memiliki kapsul polisakarida yang memudahkan untuk pengelompokan antisera spesifik. Bakteri ini memiliki ukuran diameter antara 0,5 dan 1,25 μm . Merupakan bakteri yang tidak berspora dan non-motil. Bakteri ini tumbuh aerob dan anaerob fakultatif dan termasuk golongan bakteri mesofilik dan tumbuh optimal pada suhu antara 30° - 35° C (Brooks,2005).

Streptococcus pneumoniae banyak ditemukan secara asimtomatik pada nasofaring pembawa yang sehat(Medscape, 2008). Saluran pernafasan, sinus dan rongga hidung merupakan bagian tubuh yang banyak terinfeksi . Namun pada individu yang rentan seperti orang tua, anak-anak dengan *immunocompromised*, bakteri dapat berubah menjadi patogen dan menyebar ke lokasi lain dalam tubuh sehingga menyebabkan penyakit . *Streptococcus pneumoniae* merupakan penyebab paling umum bakteri meningitis pada orang dewasa dan bersamaan dengan *Neisseria meningitis* yang menjadi penyebab utama meningitis di Amerika Serikat. Ini merupakan salah satu dari dua isolat yang paling banyak ditemukan infeksi telinga dan

otitis media (Dagan,2000). Infeksi lain yang paling sering terjadi yaitu pneumonia (infeksi paru-paru), bronchitis, rhinitis, sinusitis akut, otitis media, konjungtivitis, meningitis, bakteremia (infeksi aliran darah), sepsis, osteomyelitis, arthritus septik, endokarditis, peritonitis, perikarditis, selulitis dan abses otak (Siemieniuk et al.,2011). Bakteri *Streptococcus pneumonia* menyebar melalui bersin, batuk, kontak langsung dengan penderita yang terinfeksi. Manifestasi klinis tergantung dari lokasi tubuh yang terinfeksi, yang paling umum terjadi yaitu batuk, sesak nafas, nyeri dada, leher kaku, kebingungan, disorientasi, kepekaan terhadap cahaya, nyeri sendi, menggigil, sakit telinga, sulit tidur (Ryan,2004).

Pemberian antibiotik pada penderita infeksi pneumokokus diindikasikan sesuai dari gejala dan infeksi penyakit yang dialaminya. Antibiotik yang paling sering digunakan dalam mengatasi infeksi pneumokokus yaitu Amoksisilin atau Amoksisilin-klavulanat. Penggunaan amoksisilin-klavulanat diberikan ketika pasien tidak dapat menerima alternative antibiotik lain. Amoksisilin-klavulanat merupakan terobosan baru dari penicillin yang lahir dari derivat penicillin yang mencakup *Eschericia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumonia*, *Haemopholus influenza*, *Neisseria gonorrhoeae*. Penambahan klavulanat sebagai inhibitor beta-laktam memperluas cakupan hingga *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides catarrhalis*. Selain pemberian antibiotik, dapat juga dilakukan terapi suportif seperti pemberian analgesik-antipiretik, antihistamin, kortikosteroid, dekonjestan, bronkhodilator, mukolitik (Binfar,2005).

2.3 *Prunus persica* Zieb & Zucc

2.3.1 Klasifikasi

Berikut merupakan klasifikasi (taksonomi) dari buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) (Van Steenis,1972) :

Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Ordo	: Rosales
Family	: Rosaceae
Genus	: Prunus
Species	: <i>Prunus persica</i> Zieb & Zucc

2.3.2 Morfologi

Prunus persica Zieb & Zucc merupakan pohon gugur dari family Rosaceae dengan ketinggian 5m hingga 10 m dan dibudidayakan di Asia Barat, Eropa, India dan Himalaya dengan ketinggian 1000 kaki. *Prunus persica* Zieb & Zucc memiliki sekitar 100 marga dan 3.000 spesies dalam keluarga Rosaceae (Aziz dan Rahman,2013). *Prunus persica* ini memiliki daun yang mengkilap, kulit buah berwarna kuning kemerahan dan daging buahnya menempel kuat pada biji (Kim et al .,2009). Pada masyarakat suku Tengger tumbuhan *Prunus persica* disebut dengan Jambu Wer (Pamungkas,2010).



Gambar 2.2 Jambu wer (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

2.3.3 Kandungan Metabolit Sekunder

Hasil penelitian Edrah et al.,(2013) diketahui daun Jambu Wer (*Prunus persica* Sieb & Zucc) mengandung senyawa kimia tannin, flavonoid, phlobatanin dan saponin. Pada penelitian sebelumnya oleh Aisyah (2018) melaporkan adanya kandungan flavonoid , amilum, terpenoid pada ekstrak buah jambu wer. Kandungan senyawa yang ditemukan pada kulit batang jambu wer mengandung flavonoid (Christabeli, 2012).

2.3.4 Aktivitas Farmakologi

Pada penelitian Raturi, et al (2013) melaporkan adanya daya hambat dari penggunaan ekstrak metanol dari kulit *Prunus persica* diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan *Prunus persica* memiliki daya hambat (22-23.5 mm), (15-19 mm), (15.5-18.5 mm), dan (23-25 mm) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri gram negatif *Kleibselia pneumonia*. *Prunus persica* juga memiliki aktivitas sebagai antidiare pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan

Escherichia coli dibuktikan dengan nilai UV (Use value) dan ICF (Informan conceus factor) sebesar 0,61 dan 0,83 (Bhagawan ,2011). Selain buah jambu wer yang memiliki aktivitas farmakologi, ekstrak bunga dari tanaman jambu wer memiliki aktivitas prokinetik agen yang dilakukan secara in vitro pada kolon tikus yang menyebabkan kontraksi otot kolon pada tikus dimana disertai peningkatan histamin (Han et al .,2015)

2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.4.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan memisahkan komponen bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan yang dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut. Proses ini berlangsung selama komponen bahan padat yang akan dipisahkan menyebar di antara kedua fase dan akan berakhir bila kedua fase berada dalam kesetimbangan. Kondisi ini dapat tercapai dengan mudah atau sulit tergantung dari struktur zat padatnya. Berikut beberapa pelarut organik yang biasa digunakan dalam ekstraksi yaitu air, eter, heksana, aseton, alkohol, benzene, dan lain-lain(Supriadi,2002).

2.4.2 Jenis atau Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan biasanya tergantung dari pada proses ekstraksi, suhu, pH pelarut, pelarut yang digunakan, ukuran partikel dari tanaman dan rasio sampel yang digunakan : rasio pelarut. Prinsip dasarnya yaitu mengecilkan ukuran partikel hingga kontak pelarut dengan sampel menjadi luas dan didapatkan ekstraksi yang cepat(Das et al .,2010).

Jenis ekstraksi yang sering digunakan pada bahan alam yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Ekstraksi panas dilakukan dengan menggunakan metode refluks dan ekstraksi dengan alat soxhletasi dan infusa sedangkan ekstraksi dingin menggunakan metode maserasi, perkolasi, digesti (Depkes, 2000). Adapun jenis ekstraksi lainnya yaitu ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonik dan ekstraksi energi listrik (Anonim, 2000).

2.4.2.1 Ekstraksi Panas

2.4.2.1.1 Ekstraksi Soxhletasi

Ekstraksi dengan metode ini selalu menggunakan pelarut yang baru dan umumnya menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes, 1986). Keuntungan dari metode ini adalah pelarut yang digunakan lebih sedikit untuk jumlah simplisia yang banyak sehingga lebih efisien waktu, energi dan dapat digunakan dalam skala besar secara kontinu (Handa et al., 2008)

2.4.2.1.2 Refluks

Refluks merupakan ekstraksi menggunakan pelarut pada titik didih tertentu, waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang konstan dan terus-menerus tanpa mengganti atau menambahkan pelarut, hal ini dapat dilakukan karena adanya mekanisme pendingin balik. Umumnya dilakukan 3-5 kali sehingga termasuk ekstraksi sempurna (Depkes,2000).

2.4.2.1.3 Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan temperatur tinggi berkisar 96-98°C dalam waktu tertentu, dimana bejana infus tercelup didalam penangan air yang mendidih(Depkes,2000).

2.4.2.2 Ekstraksi Dingin

2.4.2.2.1 Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian dengan cara perendaman serbuk dalam air atau pelarut organik sampai meresap yang akan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang berada didalamnya akan terlarut (Ansel,2005). Prinsip metode maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel, zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel . Maserasi secara kinetik berarti dilakukan pengadukan yang berulang dan terus-menerus.(Depkes RI,2000). Keuntungan dari penggunaan metode maserasi ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan lebih sederhana dan mudah.

2.4.2.2.2 Digesti

Digesti adalah salah bentuk dari maserasi yang memanfaatkan pemanasan. Penggunaan metode maserasi digesti ini umumnya digunakan pada simplisia dan tanaman yang tidak tahan suhu tinggi. Suhu yang digunakan biasanya 40°-50°C (Handa et al.,2008).

2.4.2.2.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan umumnya dilakukan pada temperature ruangan . Metode ini paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif agar

didapatkan tingtur dan ekstrak cair. Alat yang pada umumnya digunakan dalam perkolasi ini disebut perkolator. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus-menerus hingga didapatkan hasil 1-5kali bahan (Depkes,2000).

Keuntungan metode ini tidak memerlukan langkah tambahan, yaitu sampel awal telah berpisah dari ekstrak. Kerugiannya dapat menyebabkan kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas, dan pelarut dapat menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

2.4.3 Fraksinasi

Ekstrak terdiri dari campuran beberapa senyawa yang sulit dipisahkan. Ekstrak perlu dipisahkan dengan metode fraksinasi yang memiliki ukuran molekul dan polaritas yang sama. Fraksinasi yang umum digunakan pada ekstrak yaitu metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), *solid-phase extraction* (SPE), *size-exclusion chromatography* (SEC), kromatografi kolom (KK) (Sarker SD, et al., 2006).

Fraksinasi dilakukan untuk mengetahui kelarutan zat aktif dalam berbagai pelarut organik yang digunakan. Dengan demikian, dapat diperoleh konsentrasi zat aktif yang paling tinggi dalam pelarut tertentu. Fraksinasi ekstrak etanol tanaman dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dengan corong pisah. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan air sebagai pelarut polar (Rusmiyati,2007).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Prinsip yang terjadi pada KLT yaitu menggunakan prinsip adsorpsi. Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pemisahan secara fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fase gerak /eluen dan fase diam/adsorben dengan perbedaan tingkat kepolaran(Sastrohamidjojo,1991). Secara umum pada KLT, senyawa yang memiliki tingkat kepolaran rendah akan lebih cepat terelusi daripada senyawa dengan kepolaran tinggi, karena senyawa dengan kepolaran tinggi terikat lebih kuat pada silika yang mengandung silanol dengan afinitas kuat pada senyawa polar. (Endarini,2016)

Proses KLT sangat mudah dan cepat sehingga banyak digunakan dalam melihat kandungan metabolit pada senyawa organik. Sampel dikatakan murni apabila analisis yang dilakukan dengan mengubah beberapa kali pelarut (minimum 3 macam)dan hasil eluasinya tetap. Selain itu, KLT juga dapat digunakan untuk memilih pelarut sesuai dalam pemisahan menggunakan kromatografi kolom, analisis fraksi kromatografi kolom serta dapat memonitor jalannya reaksi kimia (Endarini,2016).

Senyawa-senyawa yang terpisah pada Kromatografi Lapis Tipis dapat diidentifikasi menggunakan nilai Rf. Nilai Rf didefinisikan sebagai berikut : (Sastrohamidjojo, 1991)

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{Jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}}$$

Nilai Rf memiliki karakteristik tertentu untuk senyawa tertentu. Nilai Rf dapat mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa dengan nilai kepolaran lebih besar memiliki nilai Rf yang rendah

sedangkan senyawa dengan kepolaran rendah memiliki nilai Rf yang tinggi. Senyawa polar akan teratahan kuat pada fase diam sehingga nilai Rf yang dihasilkan rendah. Nilai Rf yang bagus berkisar antara 0,2-0,8, jika nilai Rf yang dihasilkan terlalu tinggi maka dapat dilakukan modifikasi jumlah eluen dan sebaliknya (Gandjar,2007).

2.6 Uji Antibakteri

2.6.1 Metode Difusi

2.6.1.1 Disc diffusion

Prinsip dari metode ini yaitu menggunakan piringan yang berisikan antimikroba yang didalam piringan tersebut telah ditanami mikroorganisme yang berdifusi pada media agar. Permukaan area agar yang bening mengindikasikan adanya hambatan dari agen antimikroba (Misnadiarly, 2014)

2.6.1.2 E-test

Metode ini digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitor concentration*), adalah konsentrasi minimal antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme . Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dengan kadar rendah dan tinggi. Pengamatan dilakukan pada aera jernih yang dihasilkan (Misnadiarly,2014)

2.6.1.3 Ditch-plate technique

Pada metode ini , sampel uji berupa agen antimikroba diletakkan di parit yang digunakan untuk menggoreskan pada media agar secara membujur dan mikroba uji yang digunakan maksimum 6 macam) (Misnadiarly,2014).

2.6.1.4 Cup-plate technique

Metode ini serupa dengan disc diffusion , dimana dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami mikroorganismenya . Sumuran yang dibuat diberikan agen antimikroba didalamnya untuk diuji (Misnadiarly,2014).

2.6.1.5 Gradient plate technique

Metode ini menggunakan konsentrasi agen antimikroba secara bervariasi dimulai dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan dicampur dengan larutan uji . Campuran dituang dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua kemudian dituang diatasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam agar agen antimikroba berdifusi. Maksimal mikroba yang digunakan yaitu enam macam dengan menggoreskan dari konsentrasi tinggi ke rendah(Misnadiarly,2014).

2.6.2 Metode Dilusi

2.6.2.1 Dilusi Cair

Metode ini dapat digunakan untuk mengukur MIC atau kadar hambat minimum dan MBC atau kadar bunuh minimum. Cara yang dilakukan yaitu medium cair yang telah ditambahkan mikroba uji diberi seri pengenceran agen antimikroba. Larutan uji agen antimikroba dengan konsentrasi rendah ditetapkan sebagai KHM. Larutan uji yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang pada media cair dan diinkubasi selama 24 jam (Pratiwi,2008).

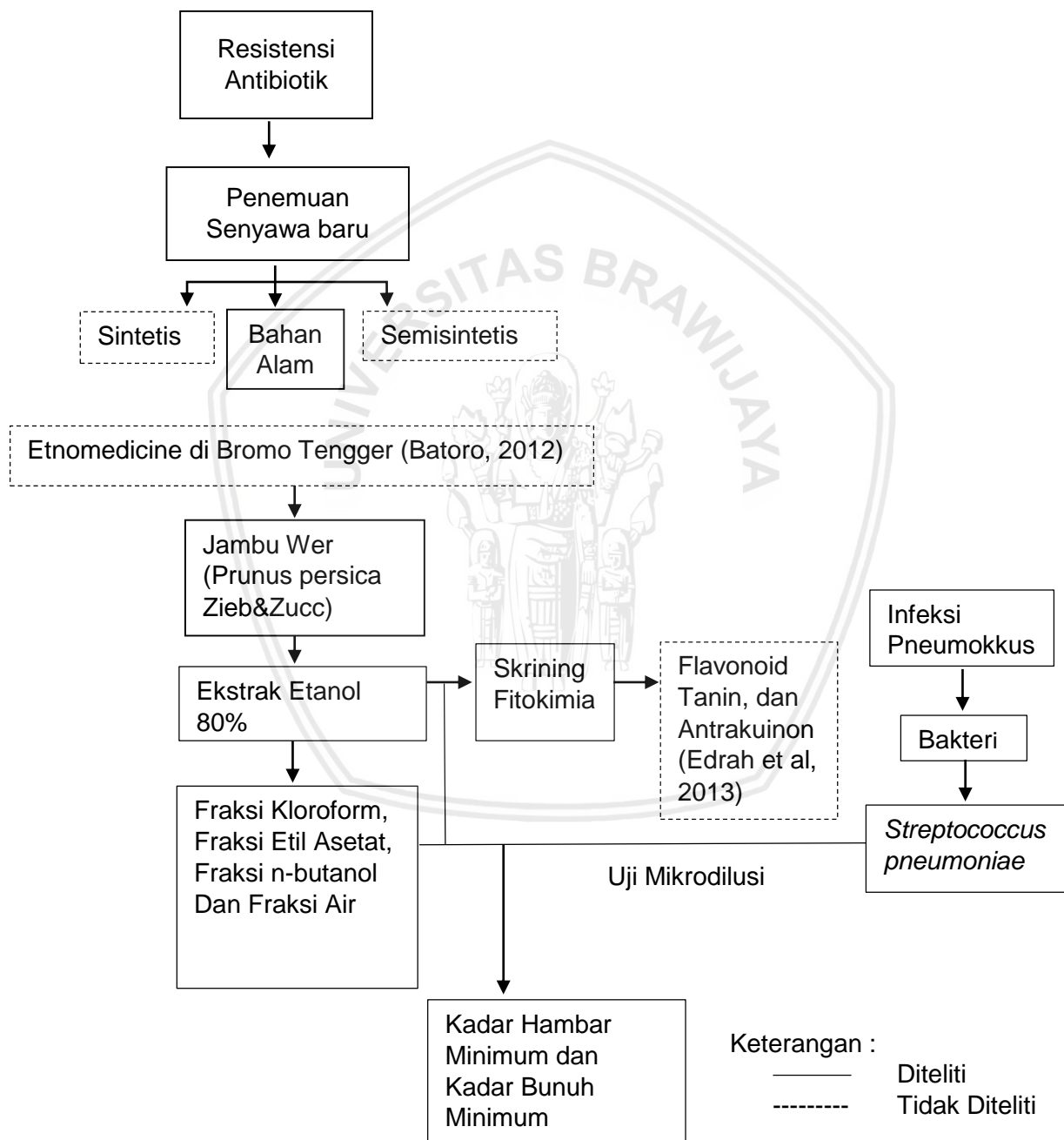
2.6.2.2 Dilusi Padat

Metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair , yang membedakannya yaitu media yang digunakan, media yang digunakan berupa media padat (soil). Kelebihan dari metode ini dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba (Pratiwi,2008).



BAB 3
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada fraksi (etil asetat, kloroform, n-butanol) dari buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) dan ekstrak etanol 80% . Penelitian bermula dari banyaknya kasus resistensi antibiotik yang merupakan salah satu masalah yang dihadapi Indonesia. Berawal dari masalah tersebut, perlu ditemukan senyawa yang mampu memberikan efek antibakteri. Senyawa yang dimaksudkan harus mempunyai aktivitas antibakteri dan dapat berasal dari bahan alam, senyawa sintesis, senyawa semisintesis. Namun belum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas dari buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) baik secara in vitro, in vivo, dan uji klinis.

Penelitian yang akan dilakukan ini, buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) di ekstrak menggunakan etanol 80 % dan di fraksinasi dengan fraksi kloroform, etil-asetat, n-butanol . Setelah ekstraksi dan fraksinasi selesai dilanjutkan dengan uji analisis KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan uji antibakteri untuk melihat aktivitas bakteri pada *Streptococcus pneumoniae*. Dari penelitian akan didapatkan Kadar Hambat Minimum, Kadar Bunuh Minimum, fraksi dan golongan senyawa yang potensial. Sehingga dapat dibuktikan bahwa fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol) buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) memiliki daya hambat terhadap aktivitas bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 80% dan fraksi (kloroform, etil-asetat, n-butanol) buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa bahwa buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, steroid,

tanin, glikosida, dan karbohidrat (Edrah et al .,2013). Beberapa senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid, antraquinon dan tanin dengan mekanisme penghambatan bakteri yang berbeda.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian laboratorium *secara in vitro*, yaitu menguji efek antibakteri ekstrak etanol 80% dan fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental*, dan *control group design*. Pengujian efek antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan (KHM) Kadar Hambat Minimal dan (KBM) Kadar Bunuh Minimal.

4.2 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan sampel kultur bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sampel fraksi kloroform, etil asetat, n-butanol, dan air yang diperoleh melalui fraksinasi cair-cair serta ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica Zieb & Zucc*.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Pada pengujian aktivitas antibakteri, variabel bebas yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak etanol 80% buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*),

konsentrasi fraksi kloroform, konsentrasi fraksi n-butanol, 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 (*Prunus persica Zieb & Zucc*), fraksi kloroform, fraksi butanol dan fraksi etil asetat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

4.3.3 Variabel Kontrol

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

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2017 hingga Maret 2019.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah tabung reaksi, bunsen, vortex, alcohol, ose, cawan petri, penggaris, korek api, rak tabung, autoclave, incubator, corong pisah, botol eluen, pipa kapiler, lempeng KLT

(silika GF_{254 nm}), pipet tetes, batang pengaduk, gelas kimia, pinset, gelas ukur, corong baki, *aluminium foil*, swab kapas, erlenmeyer, inkubator, oven, penggaris, label, alat tulis, *laminar air flow*, *rotary evaporator*, tisu, pinset, dan kamera.

4.5.2 Bahan Penelitian

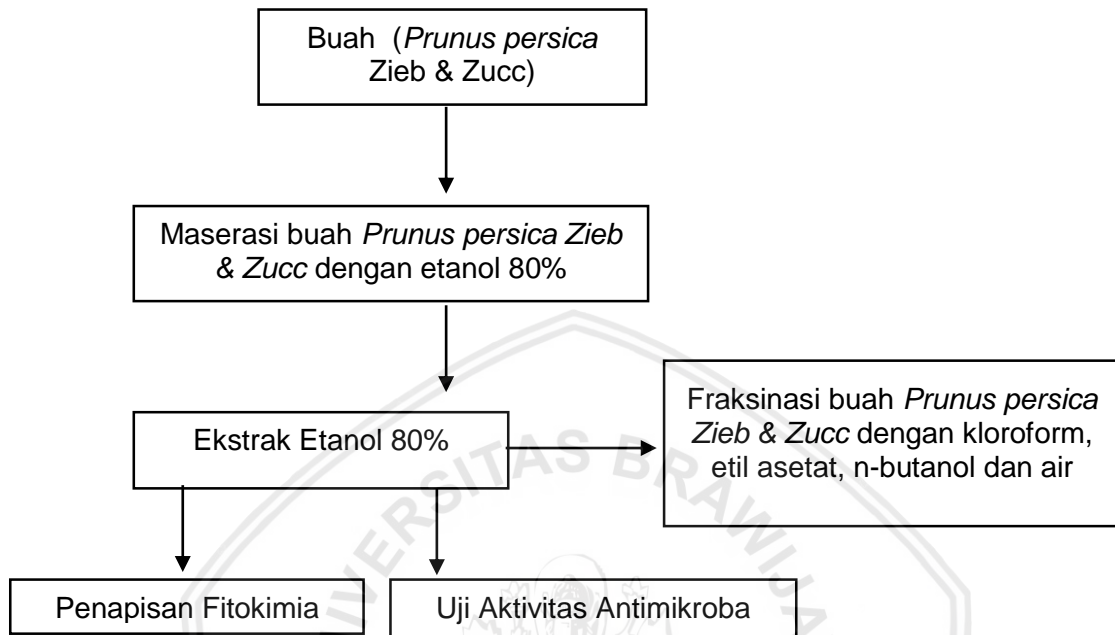
Bahan penelitian yang digunakan adalah buah (*Prunus persica Sieb.&Zucc*), etanol, n-butanol, n-heksana, etil asetat, penampak noda dragendorf, penampak noda H₂SO₄ 10%, penampak noda anisaldehyda-sulfat, penampak noda KOH 10%, penampak noda uap ammonia, penampak noda vanillin, media Muller Hinton Broth (MERCK), Nutrient Agar (MERCK), Nutrient Broth (MERCK), biakan *Streptococcus pneumoniae*, DMSO, Water For Inject (WFI) dan antibiotik seftriakson (HEXPARM JAYA).

4.6 Definisi Operasional

- 1) Bakteri *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diperoleh dari stok kultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan jumlah isolat bakteri yang digunakan 1 isolat.
- 2) Buah (*Prunus persica Zieb &Zucc*) adalah diperoleh dari Buah (*Prunus persica Zieb &Zucc*) di Bromo Tengger Semeru, Malang.
- 3) Ekstrak buah (*Prunus persica Zieb &Zucc*) adalah serbuk buah (*Prunus persica Zieb &Zucc*) yang diekstraksi dengan etanol 80% menggunakan metode maserasi.

- 4) Fraksinasi buah (*Prunus persica Zieb.&Zucc*) adalah ekstrak etanol 80% buah (*Prunus persica Zieb &Zucc*) yang difraksinasi dengan berbagai macam pelarut, yaitu kloroform, n-butanol, etil asetat .
- 5) Uji aktivitas antibakteri merupakan uji mikrodilusi yang dilakukan untuk memperoleh nilai *Optical Density* (OD) sebagai parameter untuk penentuan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM).
- 6) Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
- 7) Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah kadar minimal dari ekstrak dan fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
- 8) Kontrol Positif menggunakan seftriakson dengan bentuk sediaan serbuk injeksi 40 mg yang dilarutkan dalam DMSO 10%.
- 9) Kontrol Negatif menggunakan larutan yang dibuat dengan mencampurkan DMSO 10 % (0,1 mg dan *water for injection* ad 1 ml).

4.7 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Maserasi buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

1. Ditimbang serbuk buah *Prunus persica* Zieb & Zucc sebanyak 200 gram menggunakan neraca analitik dan kemudian dimasukkan dalam beaker glass 1 L dan dicampur dengan etanol 80% sebanyak 500 ml.
2. Kemudian campuran serbuk buah *Prunus persica* Zieb & Zucc dan etanol 80% diaduk menggunakan stirrer dengan kecepatan 400 rpm selama 30 menit.
3. Beakerglass kemudia ditutup rapt menggunakan alumunium foil dan disimpan pada suhu ruangan 1 x 24 jam.

4. Larutan hasil rendemen dipisahkan dari ampasnya dan dipindahkan ke beakerglass 1 L yang baru, kemudian disaring menggunakan corong *Buchner* yang terhubung dengan *vacuum*.
5. Proses remaserasi dilakukan sebanyak dua kali
6. Proses remaserasi pertama yaitu mencampurkan ampas maserasi awal dengan etanol 80% sebanyak 500 ml dan disimpan pada suhu ruang selama 1 x 24 jam. Hasil maserat disaring kembali menggunakan corong *Buchner* yang terhubung dengan *vacuum* dan ditampung pada beakerglass 1L baru. Prosedur yang sama diulang untuk proses remaserasi yang kedua. Setelah disaring, kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan *vacuum rotavapor* dengan suhu 40°C dengan kecepatan 30-35 rpm, kemudian ekstrak kental dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C.

4.8.2 Fraksinasi (Kloroform, etil-asetat, n-butanol) Buah (*Prunus persica* Zieb &Zucc)

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut kloroform, etil asetat, n-butanol, dan air.

1. Ekstrak etanol ditimbang menggunakan neraca analitik sebanyak 20 gram.
2. Ekstrak etanol kemudian disuspensikan dalam aquadest 100 ml dalam mortar.
3. Ditambahkan pelarut kloroform sebanyak 100 ml dalam suspensi air.
4. Campuran larutan yang terbentuk dipindah dalam corong pisah dan dikocok selama 5 menit sambil sesekali dikeluarkan gas dalam corong pisah.

5. Lapisan pelarut kloroform diambil, residu ditambahkan kloroform sebanyak 100ml.
6. Prosedur diatas diulang hingga fase kloroform jernih dan ditampung dalam satu wadah.
7. Residu fase air ditambah 100 ml etil asetat, kemudian dilakukan sesuai dengan prosedur diatas. Etil asetat ditambahkan hingga fase etil asetat menjadi jernih atau warna terlihat mulai konstan. Fase etil asetat dari ekstrak etanol buah *Prunus persica Zieb & Zucc* ditampung dalam satu wadah.
8. Fase air kemudian ditambahkan dengan larutan n-butanol sebanyak 100 ml, dikocok hingga 5 menit sambil dikeluarkan gas sesekali dengan membuka kran corong pisah dan ditampung dalam satu wadah khusus n-butanol. Prosedur diulangi hingga warna lapisan n-butanol hingga konstan.
9. Fraksi kloroform, etil asetat, n-butanol dan air dipekatkan menggunakan vacuum rotavapor dengan suhu yang sesuai dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C.
10. Setelah kering, masing-masing fraksi dari ekstrak etanol ditimbang beratnya.
11. Disimpan dalam pendingin 2-8°C

4.8.3 Optimasi dan Identifikasi profil metabolit dengan KLT

Optimasi dilakukan terhadap fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri, screening fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel dan fase gerak yang sesuai.

1. Ditimbang masing-masing fraksi ekstrak etanol sebanyak 10 mg dalam mikrotube dan dilarutkan ke dalam 1 ml etanol.
2. Kemudian campuran fraksi dan etanol di vortex hingga larut.
3. Masing-masing sampel ditotolkan pada lempeng KLT (10cm x 5cm x 1mm) dan dimasukkan dalam fase gerak yang sesuai.
4. Setelah dieluasi lempeng KLT diangin-anginkan dan diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

4.8.4 Uji Kepekaan Antibakteri

Uji kepekaan antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk memperoleh Kadar Hambat Minimal (KHM). Sedangkan untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) dilakukan dengan metode difusi padat dengan menggunakan media Nutrient Agar.

4.8.4.1 Preparasi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

1. Alat di sterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.
2. Bakteri ditumbuhkan terlebih dahulu dengan media agar dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
3. Diambil satu koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan ditumbuhkan kembali dalam media agar cair dan diinkubasi kembali dalam kondisi yang sama.
4. Suspensi bakteri diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 620 nm.
5. Bakteri diencerkan menggunakan rumus pengenceran hingga konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan :

- V1 : Volume bakteri yang akan ditambah pengencer
- N1 : Nilai absorbansi suspense (hasil spektrofotometri)
- V2 : Volume suspense bakteri uji diharapkan (10 ml)
- N2 : Optical density (0,1 setara dengan 10^8 CFU/ml)

Volume bakteri (ml) diperoleh dari hasil perhitungan tersebut yang akan ditambahkan dengan pengenceran untuk memperoleh bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml.

6. Suspensi bakteri diencerkan sebesar 1/100 dari konsentrasi lama untuk memperoleh bakteri dengan konsentrasi sebesar 10^6 CFU/ml dengan mengambil 1 ml larutan dalam 10 ml bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml, kemudian larutan dimasukkan dalam tabung yang telah diisi dengan 9 ml NaCl, diaduk rata hingga larutan homogen sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^7 CFU/ml. Dari larutan dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml kemudian diambil 1 ml larutan dan kemudian dimasukkan dalam tabung yang telah diisi dengan 9 ml MHB, diaduk rata hingga larutan homogen, sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^8 CFU/ml (Susilowati,2007).

4.8.4.2 Pembuatan Medium

Medium yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri uji adalah Mueller-Hinton Broth (MHB) . Medium dibuat dengan melarutkan 2,1 gram MHB dalam 100 ml aquades .

4.8.5 Mikrodilusi

Metode mikrodilusi menggunakan microplate sebagai instrumennya. Setiap sumur pada microplate diisi dengan media pertumbuhan, hasil fraksinasi oleh masing-masing pelarut yang akan diuji aktivitasnya, dan kultur bakteri. Jumlah kultur bakteri yang biasa digunakan pada metode mikrodilusi biasanya 10^6 CFU/ml. Melalui metode mikrodilusi maka akan diperoleh data Kadar Hambat Minimal (KHM) (Reni *et al.*,2016).

4.8.5.1 Pengenceran Larutan Uji

1. Dibuat larutan sampel uji dengan konsentrasi 100 mg/ml yang dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%.
2. Suspensi bakteri dibuat 10^6 CFU dengan media MHB
3. Disiapkan media MHB tanpa bakteri dan disiapkan pula mikroplate yang steril.
4. Kemudian well 1-11 dimasukkan 50 μ L MHB
5. Setelah well terisi MHB 50 μ L, kemudian dimasukkan sampel uji 50 μ L (100mg/ml) pada well 1
6. Well 1 yang berisi MHB 50 μ L dan sampel uji 50 μ L dihomogenkan dengan mikropipet.
7. Diambil 50 μ L dari well 1 yang telah homogen dan dimasukkan ke well 2 dilanjutkan dengan dihomogenkan kembali dengan mikropipet (dilakukan hingga well 11).
8. Diambil 50 μ L dari well 11 lalu dibuang
9. Dimasukkan bakteri 50 μ L pada semua well yang telah homogeny (well 1-11)
10. Dilakukan replikasi 2 kali untuk semua sampel uji

11. Micoplate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C
12. Dilakukan pembacaan pada ELISA *reader*
13. Dipilih well yang terlihat jernih untuk di swab
14. Well yang terlihat jernih di swab pada media agar NA dan diinkubasi selama 24 jam.
15. Diamati media agar, bila jernih menandakan tidak terjadi pertumbuhan bakteri.

4.9 Analisis Data

Analisis data penelitian ini menggunakan analisis deskriptif untuk menggambarkan nilai KHM dan KBM. Perhitungan persen hambatan bakteri didapatkan dari nilai Optical Density (OD). Nilai OD merupakan nilai rata-rata yang diperoleh dari tiga kali replikasi .

Rumus Persen Hambat Bakteri

$$\% \text{ Hambat} = 1 - \frac{OD (\text{Sampel} + \text{Suspensi Bakteri}) - OD (\text{Sampel} + \text{MHB})}{OD \text{ Kontrol Negatif} (OD \text{ DMSO} + \text{Suspensi Bakteri}) - OD \text{ DMSO} + \text{MHB}} \times 100\%$$

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstraksi Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Setelah proses maserasi selesai dilakukan diperoleh hasil ekstraksi buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) pada table 5.1.

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

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

5.1.2 Fraksinasi Ekstrak Etanol 80% Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc)

Setelah maserasi dilakukan, proses selanjutnya yaitu fraksinasi. Metode fraksinasi yang digunakan yaitu fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi ini yaitu kloroform, etil asetat, n-butanol dan air. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 5.2.

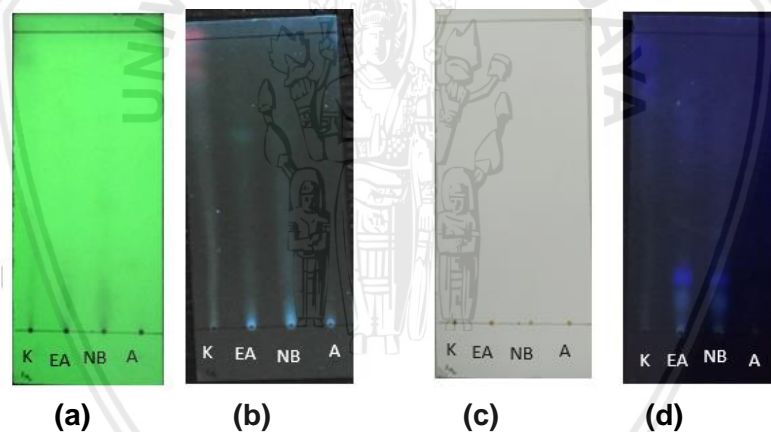
Tabel 5.2 Hasil Fraksinasi Cair-cair

Fraksi	Berat Hasil	Rendemen	Warna	Konsistensi
Kloroform	1,194 gram	5,97%	Hijau tua	Pasta
Etil Asetat	1,867 gram	9,29%	Coklat Tua	Pasta
N-butanol	4,048 gram	20,24%	Coklat Tua	Kental
Air	11,497 gram	57,40%	Coklat	Kental

1.1.3 Skrining Fitokimia Fraksinasi Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*)

5.1.3.1 Identifikasi Antrakuinon

Hasil Identifikasi antrakuinon dapat dilihat pada gambar 5.1. Pada identifikasi antrakuinon hasil dikatakan positif apabila terdapat tumpukan noda berwarna kuning pada plat yang telah dieluasi. Hasil masing-masing fraksi menggunakan penampak noda KOH 10% tidak menunjukkan spot berwarna kuning pada KLT yang telah dieluasi dan diberi penampak noda, sehingga dapat dinyatakan bahwa semua sampel fraksi Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) negatif mengandung antrakuinon.

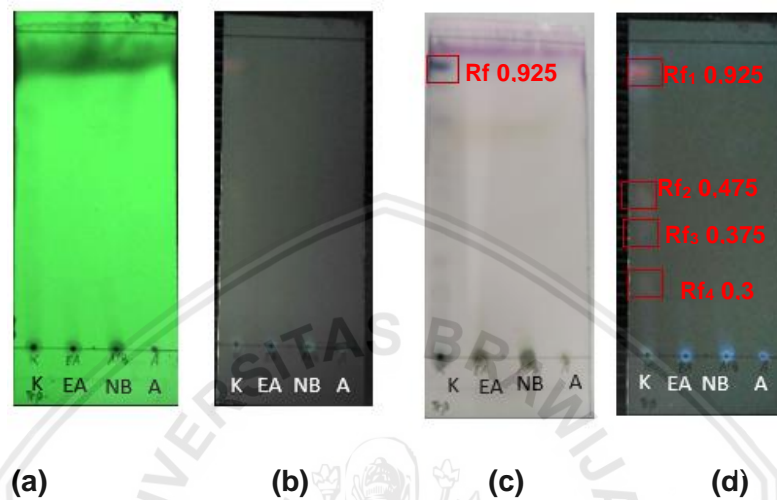


Gambar 5.1 Profil KLT identifikasi antrakuinon pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*). Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : etil asetat : metanol : air (100:13,5:10). Penampak noda : KOH 10% (a) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada sinar UV 254nm (b) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada sinar UV 366 (c) Setelah diberi penampak noda dan diamati secara visual (d) Pengamatan setelah diberi penampak noda pada λ 366 nm.

1.1.3.2 Identifikasi Terpenoid

Hasil identifikasi terpenoid dapat dilihat pada Gambar 5.2. Hasil identifikasi menunjukkan adanya spot berwarna merah ungu pada fraksi kloroform yang diamati setelah diberi penampak noda anisaldehyd asam sulfat, spot merah yang

nampak memiliki nilai Rf_1 0,925 ; Rf_2 0,475 ; Rf_3 0,375 ; Rf_4 0,3 , sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) positif mengandung terpenoid.



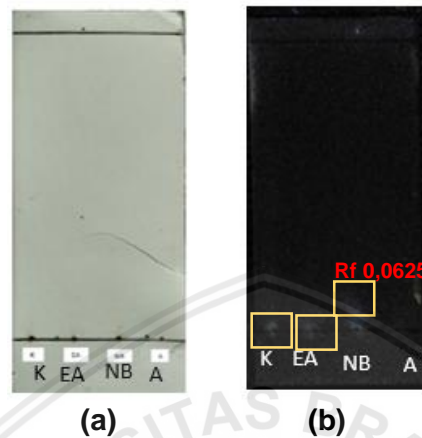
Gambar 5.2 Profil KLT identifikasi terpenoid pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc). Fase diam: Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : N-heksana : Etil asetat (1:9). Penampak noda : anisaldehyd asam sulfat (a) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 254 nm, (b) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 366 nm, (c) Setelah diberi penampak noda dan diamati secara visual (d) Pengamatan setelah diberi penampak noda pada λ 366 nm.

1.1.3.3 Identifikasi Flavonoid

1.1.3.3.1 Penampak noda H₂SO₄

Hasil identifikasi flavonoid dapat dilihat pada Gambar 5.3. Hasil identifikasi menunjukkan adanya noda berwarna kuning pada fraksi kloroform, etil asetat dan n-butanol yang diamati setelah diberi penampak noda H₂SO₄. Kemudian, dilakukan pengamatan pada sinar UV 366 nm setelah dilakukan pemanasan terdapat noda berwarna biru pada fraksi kloroform, etil asetat dan n-butanol yang menandakan adanya senyawa flavonoid, tetapi noda pada fraksi kloroform dan etil asetat tersebut nampak berekor sehingga nilai Rf tidak dapat dihitung sedangkan pada fraksi n-butanol diperoleh nilai Rf 0,0625. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa

kloroform, etil asetat dan n-butanol Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) positif mengandung flavonoid.



Gambar 5.3 Profil KLT identifikasi flavonoid. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak ; N-heksana : Etil asetat (1:9). (a) Pengamatan setelah diberi penampak noda dan dipanaskan; (b) Pengamatan setelah diberi penampak noda pada λ 366 nm.

1.1.3.3.2 Penampak noda Ammonia

5.1.3.3.2.1 Pelarut Etil asetat : Aseton (2:8)

Hasil identifikasi flavonoid dapat dilihat pada Gambar 5.4. Hasil identifikasi menunjukkan adanya noda berwarna kuning pada fraksi kloroform, etil asetat dan n-butanol yang diamati setelah diberi penampak noda uap ammonia. Kemudian, dilakukan pengamatan pada sinar UV 366 nm setelah dilakukan pemanasan terdapat noda berwarna biru pada fraksi kloroform, etil asetat dan n-butanol yang menandakan adanya senyawa flavonoid, namun pada fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol spot nampak tailing. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa kloroform, etil asetat dan n-butanol Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) positif mengandung flavonoid.



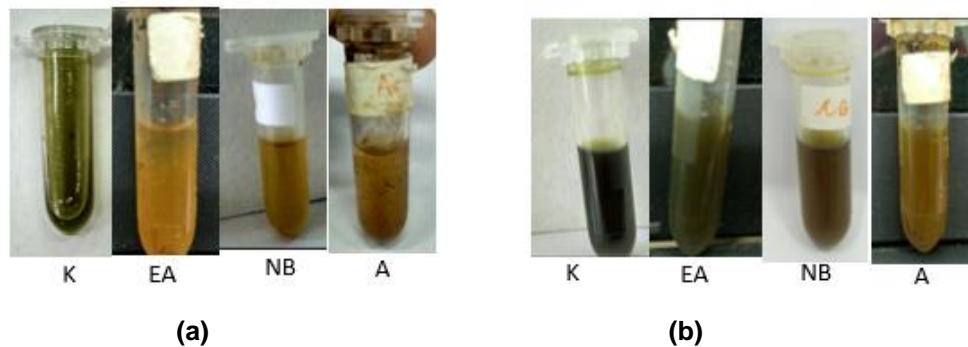
(a)

Gambar 5.4 Profil KLT identifikasi flavonoid. Fase diam : Silica gel F₂₅₄. Fase gerak ; etil asetat : aseton (2:8). (a) Setelah diberi penampak noda dan dipanaskan

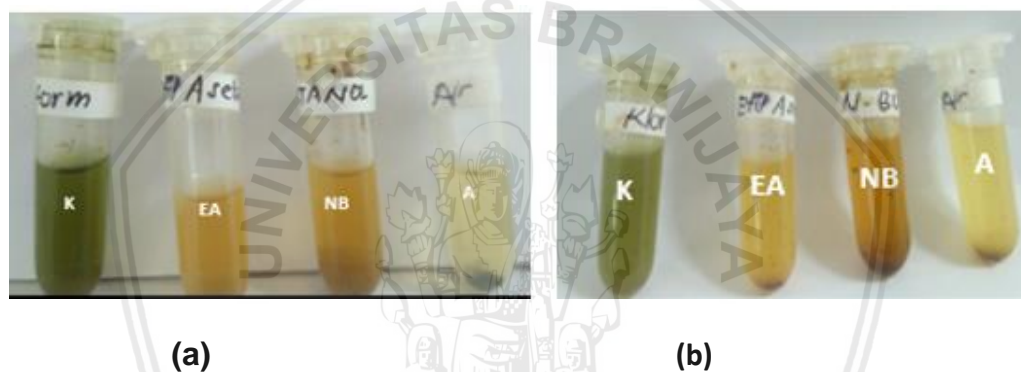
5.1.3.4 Identifikasi Tanin dan Polifenol

5.1.3.4.1 Tanin

Hasil Identifikasi tanin dapat dilihat pada gambar 5.5 dan 5.6 . Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan metode pewarnaan menggunakan dua reagen yaitu FeCl_3 dan gelatin 10%. Hasil uji menunjukkan bahwa terjadi perubahan warna sampel fraksi kloroform dan fraksi etil asetat menjadi hijau kehitaman tetapi pada uji gelatin 10% tidak terdapat endapan putih pada sampel, sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi N-butanol dan fraksi air negatif mengandung tanin, namun pada uji FeCl_3 terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman menunjukkan positif mengandung polifenol.



Gambar 5.5 Identifikasi tanin dan polifenol menggunakan FeCl₃ pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*). (a) Pengamatan sebelum diberi FeCl₃, (b) Pengamatan setelah diberi 3 tetes FeCl₃.

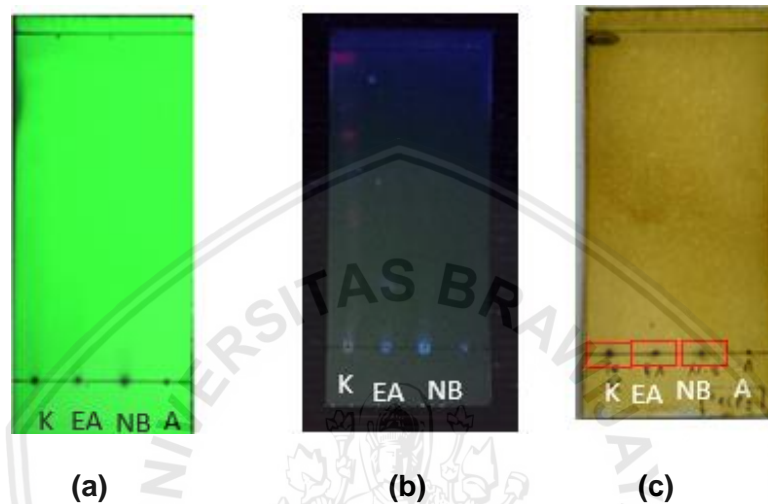


Gambar 5.6 Identifikasi tanin menggunakan Gelatin 10% pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*). (a) Pengamatan sebelum diberi Gelatin 10% , (b) Pengamatan setelah diberi 10 tetes Gelatin 10% .

5.1.3.4.2 Polifenol

Hasil Identifikasi polifenol dapat dilihat pada gambar 5.5 dan 5.7. Pada identifikasi polifenol hasil dikatakan positif apabila terdapat perubahan warna sampel menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman apabila ditetesi dengan FeCl₃ dan tampak noda berwarna hitam pada plat yang telah dieluasi dan disemprot dengan penampak noda FeCl₃. Berdasarkan hasil pengujian pada gambar 5.6 terjadi perubahan warna sampel menjadi hijau kehitaman pada fraksi kloroform , fraksi etil asetat dan fraksi N-butanol serta terdapat spot berwarna hitam pada fraksi kloroform, fraksi etil asetat ,fraksi N-butanol pada plat KLT yang

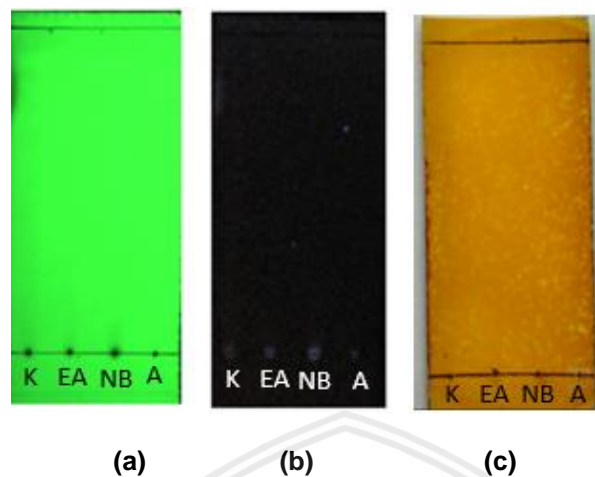
telah diekstraksi dan disemprot reagen FeCl_3 sehingga dapat dinyatakan bahwa sampel fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi N-butanol Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) positif mengandung polifenol sedangkan fraksi air negatif mengandung polifenol.



Gambar 5.7 Profil KLT identifikasi polifenol pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc). Fase diam: Silica gel F_{254} . Fase gerak : N-heksana : Etil asetat (1:9). Penampak noda : FeCl_3 (a) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 254 nm, (b) Pengamatan sebelum diberi penampak noda λ 366 nm, (c) Setelah diberi penampak noda dan diamati secara visual.

5.1.3.5 Identifikasi Alkaloid

Alkaloid dapat diidentifikasi menggunakan penampak noda dragendorf. Hasil masing-masing fraksi menggunakan penampak noda dragendorf tidak menunjukkan spot berwarna kuning pada KLT yang telah diekstraksi dan diberi penampak noda. Disimpulkan bahwa fraksi kloroform, etil asetat, n-butanol dan air Buah (*Prunus persica* Zieb & Zucc) negatif mengandung alkaloid. Hasil identifikasi alkaloid dapat dilihat pada Gambar 5.8.



Gambar 5.8 Profil KLT identifikasi alkaloid pada fraksi (kloroform, etil asetat, n-butanol, air) Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*). Fase diam: Silica gel F₂₅₄. Fase gerak : N-heksana : Etil asetat (1:9). Penampak noda : dragendorff (a) Pengamatan sebelum diberi penampak noda pada λ 254 nm, (b) Pengamatan sebelum diberi penampak noda λ 366 nm, (c) Setelah diberi penampak noda dan diamati secara visual.

Tabel 5.3 Tabel Hasil Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa	Hasil			
	Kloroform	Etil Asetat	N-Butanol	Air
Antrakuinon	-	-	-	-
Terpenoid	+	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	-
Tanin	-	-	-	-
Polifenol	+	+	+	-
Alkaloid	-	-	-	-

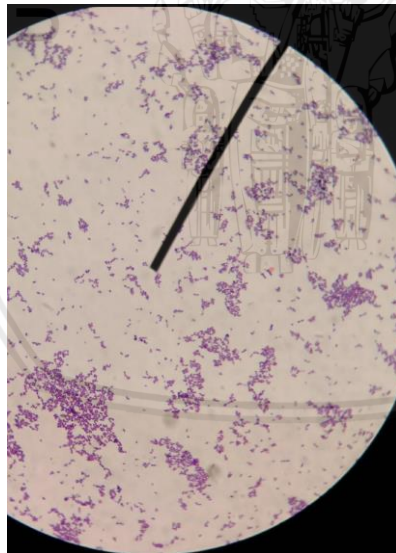
5.1.4 Uji Antibakteri (Mikrodilusi)

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan uji antibakteri, terlebih dahulu dilakuka identifikasi bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang tersedia Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Streptococcus pneumoniae* yang

digunakan adalah hasil isolate yang berasal dari pasien yang terinfeksi *Streptococcus pneumoniae* dari Malang. Identifikasi bakteri dilakukan melalui 4 tahap, yaitu :

- Pewarnaan Gram
- Kultur pada *Medium Blood Agar Plate (BAP)*
- Tes Katalase
- Tes Optokin

Tahap pertama adalah pewarnaan Gram. Dari Pewarnaan Gram, diperoleh hasil kokus Gram positif yang ditandai dengan warna ungu pada bakteri (Gambar 5.9).

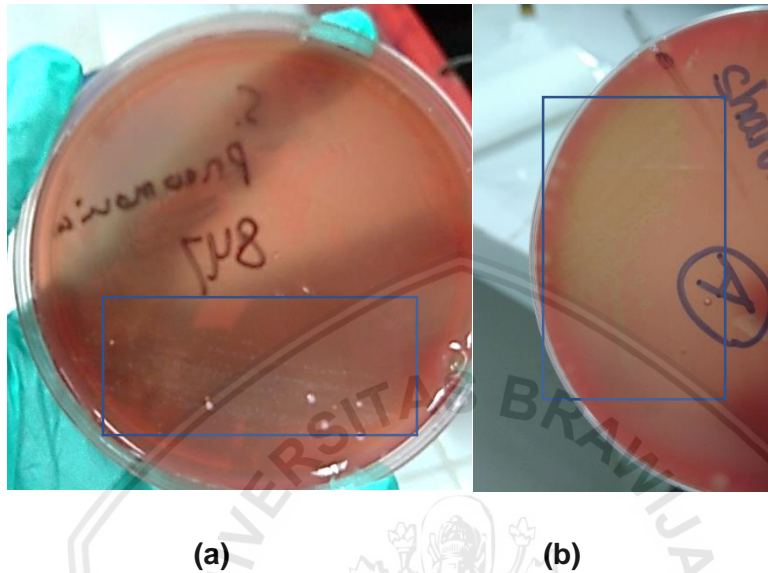


Gambar 5.9 Morfologi *Streptococcus pneumoniae*

Keterangan : Perbesaran 1000x, berbentuk kokus, berwarna ungu, berderet atau berpasang dua

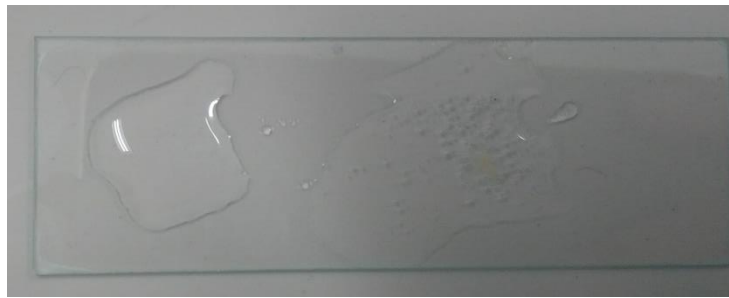
Tahap kedua adalah penanaman pada medium *Blood Agar Plate (BAP)*, pada medium *BAP*, *Streptococcus pneumoniae* akan memberikan karakteristik

khas , yaitu adanya koloni berwarna abu-abu, mukoid dan dikelilingi area alfa hemolitik berwarna hijau (Gambar 5.10).



Gambar 5.10 Koloni *Streptococcus pneumoniae* pada Medium *Blood Agar Plate*. (a) Koloni *Streptococcus pneumoniae* berwarna abu-abu, (b) Area alfa-hemolisis berwarna hijau

Tahap Ketiga adalah tes katalase, hasil positif ditunjukkan dengan penampakan gelembung udara. Proses ini merupakan hasil dari pemecahan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Semua bakteri streptococcus tidak memiliki aktivitas tersebut, sehingga pada tes katalase hasil negatif (Gambar 5.11)



Gambar 5. 11 Tes Katalase Negatif (Kiri)

Tahap Keempat adalah tes optokin menggunakan *Optochin* (P) disks (6 mm, 5 μ g). *Optochin disk* mempunyai aktivitas inhibisi pertumbuhan *S.pneumoniae*. Pada zona inhibisi 14 mm atau lebih mengindikasikan hasil positif *Streptococcus pneumoniae* . Hasil *Optochin* menunjukkan zona inhibisi 17 mm (Gambar 5.12).



Gambar 5. 12 Tes Optokin (Zona Inhibisi 17 mm)

Selanjutnya dilakukan uji antibakteri untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol 80% dan fraksi buah *Prunus persica* Zieb & Zucc. Metode yang digunakan yaitu mikrodilusi untuk mendapatkan Kadar Hambat Minimum

(KHM) dan swab pada media agar NA untuk mendapatkan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Hasil uji antibakteri menggunakan metode mikrodilusi dapat dilihat pada Tabel 5.4 . Hasil uji antibakteri untuk mendapatkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dapat dilihat pada Tabel 5.5.

5.4 Hasil KHM uji mikrodilusi terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)									
		50000	25000	12500	6250	3125	1562.5	781.25	390.63	195.31	97.66
1	Ekstrak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Fraksi Kloroform	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
3	Fraksi Etil Asetat	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
4	Fraksi N-Butanol	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
5	Fraksi Air	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) : Terjadi Hambatan Pertumbuhan Bakteri
 (-) : Tidak Terjadi Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Hasil uji mikrodilusi dari fraksi kloroform diketahui dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 97.66 ppm. Fraksi Etil asetat memiliki nilai KHM sebesar 781.25 ppm. Fraksi N-butanol menunjukkan hambatan bakteri pada konsentrasi 781.25 ppm. Fraksi air menunjukkan hambatan pada konsentrasi terbesar yaitu 50000 ppm.

Tabel 5.5 Nilai KBM Hasil uji terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*

Sampel Uji	Kadar Bunuh Minimum		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Rata-Rata
Ekstrak	-	-	-
Fraksi Kloroform	1562.5 ppm	1562.5 ppm	1562.5 ppm
Fraksi Etil Asetat	3125 ppm	3125 ppm	3125 ppm
Fraksi N-Butanol	50000ppm	25000 ppm	37500 ppm
Fraksi Air	50000 ppm	50000 ppm	50000 ppm

Kadar Bunuh Minimum pada tiap sampel berbeda-beda. Fraksi kloroform menunjukkan kadar bunuh minimum pada konsentrasi 1562.5 ppm. Fraksi etil asetat menunjukkan kadar bunuh minimum pada konsentrasi 3125 ppm. Fraksi n-butanol menunjukkan kadar bunuh minimum pada replikasi 1 50000 ppm dan replikasi 2 25000 ppm. Ekstrak etanol 80% tidak teramati aktivitas membunuh bakterinya pada konsentrasi uji maksimal 50000 ppm.

BAB 6

PEMBAHASAN

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 80% , karena etanol 80% merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar, hal ini disebabkan etanol memiliki gugus OH⁻ dan CH₂CH₃ yang memiliki gugus polar dan non polar (Aziz, dkk, 2014). Selain etanol 80% merupakan pelarut universal, pelarut dapat menentukan nilai rendemen yang dihasilkan apabila pelarut (etanol 80%) memiliki sifat kepolaran yang sama dengan sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia buah *Prunus persica Zieb & Zucc.* Menurut Adhinata (2012) Senyawa tanin, flavonoid serta terpenoid merupakan senyawa yang dapat larut dalam pelarut polar sehingga senyawa yang terekstrak dalam pelarut etanol 80% cukup banyak dan menghasilkan nilai rendemen cukup tinggi. Hasil maserasi (maserat) diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dengan tekanan rendah, diharapkan dengan suhu 40°C pelarut etanol dalam ekstrak dapat menguap (Waziroh *et al*,2017). Hasil ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat dan bertekstur kental . Berat hasil ekstraksi yang diperoleh yaitu 56,88 gram dengan nilai persen rendemennya yang diperoleh adalah 37,65%.

Proses selanjutnya yang digunakan dalam penelitian ini adalah proses fraksinasi bertingkat dengan tujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Harbone,1987). Proses fraksinasi bertingkat dimulai dari pelarut nonpolar kemudian dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar, penggunaan pelarut non polar terlebih dahulu dimaksudkan untuk menarik

senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pemakaian pelarut yang memiliki perbedaan sifat kepolaran dapat berpengaruh pada jenis senyawa yang akan di ekstraksi (Houghton dan Rahman, 1998). Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah pelarut kloroform, pelarut etil-asetat, pelarut n-butanol dan pelarut air.

Hasil rendemen dari fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air berturut-turut adalah 5,97%, 9,29%, 20,24% dan 57,40%. Hasil rendemen yang diperoleh berbeda-beda karena tergantung jenis pelarut dan kandungan metabolit pada tiap fraksi berbeda. Dari hasil rendemen diketahui bahwa air memiliki nilai rendemen yang tinggi dibandingkan dengan n-butanol, etil asetat, kloroform. Fraksi air menghasilkan rendemen yang besar, karena senyawa polar lebih terkonsentrasi pada fraksi tersebut. Menurut Nur & Astawan (2011) mengemukakan bahwa tingginya nilai rendemen ekstrak pada pelarut polar dikarenakan makromolekul gula sederhana seperti monosakarida dan oligosakarida ikut terlarut dalam pelarut polar namun tidak larut dalam pelarut nonpolar.

Identifikasi golongan senyawa pada fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air dari buah *Prunus persica Zieb & Zucc* dilakukan dengan menggunakan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari masing-masing fraksi. Identifikasi ini dilakukan dengan menggunakan reagen kimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji KLT dipilih karena merupakan metode yang sederhana, membutuhkan jumlah sampel yang sedikit dan biasa digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang ada pada sampel. Data yang didapatkan dari KLT berupa nilai R_f, nilai R_f diperoleh dari jarak penotolan dengan noda yang tampak, untuk menampakkan noda pada plat KLT

biasanya menggunakan reagen penampak noda tertentu sesuai dengan identifikasi senyawa yang diharapkan dan juga menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm untuk menampakkan noda. Pada pengujian ini golongan senyawa yang diidentifikasi adalah antrakuinon, flavonoid, terpenoid, tanin, polifenol dan alkaloid.

Skринing fitokimia senyawa golongan antrakuinon dilakukan menggunakan reagen semprot KOH 10%, hasil dikatakan positif apabila terdapat spot noda berwarna kuning pada plat KLT yang telah di eluasi dan di semprot KOH 10%, warna kuning ini terbentuk apabila sampel mengandung gugus kromofor sehingga meningkatkan intensif warna karena dapat mengabsorpsi radiasi sinar spektrofotometer (Harborne, 1987). Hasil dari fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air tidak menunjukkan adanya spot noda kuning sehingga negatif mengandung antrakuinon.

Uji senyawa terpenoid menunjukkan hasil positif jika penyemprotan menggunakan anisaldehyda-sulfat menghasilkan spot noda berwarna merah dengan visualisasi pada sinar UV 366nm. Fraksi kloroform menunjukkan spot noda berwarna merah pada sinar UV 366nm (Harborne, 1987). Nilai R_f yang diperoleh dari spot noda yaitu R_{f1} 0,925 ; R_{f2} 0,475; R_{f3} 0,375 ; R_{f4} 0,3 sehingga positif mengandung terpenoid.

Uji senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif jika penyemprotan menggunakan H_2SO_4 dan uap ammonia menghasilkan spot noda berwarna kuning. Menurut Robinson (1995) spot kuning yang terbentuk setelah di beri uap ammonia terjadi karena adanya pembentukan garam serta struktur kinoid pada cincin B yang akan membuat ikatan rangkap terkonjugasi menjadi lebih panjang sehingga

meningkatkan intensitas warna. Fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol masing-masing menunjukkan noda kuning pada reagen semprot H_2SO_4 dan pemberian uap ammonia. Nilai R_f yang dihasilkan pada fraksi kloroform yaitu 0,95 dan fraksi N-butanol dengan nilai R_f 0,0625.

Uji senyawa tanin menunjukkan hasil positif jika terjadi perubahan warna pada sampel menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman setelah pemberian $FeCl_3$ dan terjadi endapan putih setelah pemberian gelatin 10%. Perubahan warna setelah ditetesi $FeCl_3$ diakibatkan karena terjadinya kompleks dengan ion Fe sehingga terjadi perubahan warna menjadi biru kehitaman. Pemberian gelatin 10% akan terbentuk endapan karena tanin akan melarutkan protein pada gelatin hingga terbentuk endapan putih (Harborne, 1987). Fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman namun setelah di uji menggunakan gelatin 10% tidak terjadi endapan putih sehingga sampel yang dideteksi terjadi perubahan warna menjadi kehitaman tidak mengandung tanin melainkan mengandung senyawa polifenol. Senyawa polifenol dapat diperjelas dengan dilakukan uji KLT menggunakan reagen semprot $FeCl_3$ menghasilkan spot berwarna hitam.

Uji senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif jika penyemprotan reagen dragendorf menghasilkan spot noda berwarna kuning. Senyawa alkaloid mempunyai kemampuan untuk bereaksi dalam Dragendorff, hal itu dikarenakan dalam senyawa alkaloid terdapat gugus nitrogen yang masih memiliki satu pasang elektron bebas yang menyebabkan senyawa-senyawa alkaloid bersifat nukleofilik dan cenderung bersifat basa. Akibatnya, senyawa-senyawa alkaloid mampu untuk mengikat ion-ion logam berat yang bermuatan positif dan membentuk senyawa-senyawa kompleks tertentu yang berwarna.

Reagen Dragendorff dibuat dari senyawa yang mengandung ion-ion logam berat (Marliana dkk, 2005). Uji alkaloid pada fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air tidak menunjukkan spot kuning sehingga negatif mengandung alkaloid.

Hasil dari skrining fitokimia yaitu didapatkan fraksi kloroform dapat menarik senyawa terpenoid, flavonoid dan polifenol. Fraksi etil asetat dan fraksi N-butanol dapat menarik senyawa flavonoid dan polifenol, sedangkan pada fraksi air tidak ditemukan teridentifikasi senyawa apapun. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Zhulkaq M (2017) menunjukkan fraksi etanol, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat buah Jambu Wer (*Prunus persica Zieb & Zucc*) dapat menarik senyawa metabolit sekunder, fraksi etanol dan kloroform dapat menarik alkaloid dan flavonoid, fraksi etil asetat menarik senyawa flavonoid. Penelitian lainnya oleh Talab *et al.*, (2015) menunjukkan pada ekstrak air daun *Prunus persica* dapat menarik senyawa flavonoid, steroid, tanin dan karbohidrat. Hasil skrining fitokimia fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) dengan berbagai penelitian yang telah dilakukan diketahui memiliki persamaan pada senyawa yang dapat ditarik yaitu senyawa flavonoid, namun senyawa alkaloid tidak dapat ditarik oleh fraksi-fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) sedangkan pada fraksi air tidak teridentifikasi senyawa apapun, hal ini dimungkinkan pada fraksi air menarik senyawa lainnya seperti aglikon, glikosida, asam amino dan gula (Houghton dan Raman, 1998)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 80%, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol dan fraksi air terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol 80% dan fraksi buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*) yaitu metode mikrodilusi dengan menggunakan

mikroplate 96 well. Metode mikrodilusi dipilih karena jumlah sampel yang digunakan tidak terlalu banyak, hal ini dikarenakan jumlah dari salah satu sampel uji yaitu fraksi kloroform yang diperoleh hanya 1 gram. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO. DMSO merupakan pelarut yang mampu melarutkan berbagai senyawa, polar, non polar, larutan DMSO tidak memiliki efek menghambat ataupun membunuh bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik seftriakson, seftriakson merupakan antibiotik dengan aktivitas luas (*broad-spectrum*) yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri, baik jenis bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif (Tjay,2002). Menurut hasil penelitian M.Phil Sonia Akhter dkk, (2014) *Streptococcus pneumoniae* ditemukan peka terhadap antibiotik seftriakson sebesar 80% setelah amoxicillin klavulanat dan ampisilin. Media yang digunakan untuk melihat adanya hambatan bakteri pada mikrodilusi adalah media *Muller Hinton Broth (MHB)*.

Uji antibakteri dengan metode mikrodilusi dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang merupakan bakteri gram positif. Digunakan bakteri *Streptococcus pneumoniae* karena bakteri tersebut merupakan bakteri penyebab infeksi pneumokokkus. Jumlah bakteri yang digunakan untuk metode ini yaitu 10^6 CFU. Penggunaan media *Mueller-Hilton Broth (MHB)* merupakan media yang direkomendasikan untuk menentukan KHM dengan metode mikrodilusi cair oleh *National Committee for Clinical Laboratory (NCCLS)*. Teknik *ELISA Reader* dapat mengukur secara kuantitatif berdasarkan perubahan warna yang disebabkan reaksi enzimatik dalam mendeteksi adanya suatu protein dalam sampel (Srimulyati,2015). Dari penggunaan *ELISA Reader* didapatkan nilai *Optical Density (OD)* yang akan digunakan sebagai parameter penentuan nilai KHM.

Pengujian KHM dilakukan dengan menggunakan 10 konsentrasi berbeda yaitu pada 50000 ppm, 25000 ppm, 12500 ppm, 6250 ppm, 3125 ppm, 1562.5 ppm, 781.25 ppm, 390.63 ppm, 195.31 ppm, 97.66 ppm, untuk sampel ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi. Penggunaan variasi konsentrasi tersebut untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol 80% dan fraksi-fraksi dapat dilihat pada Tabel 5.4. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, diketahui bahwa fraksi kloroform dapat menghambat aktivitas bakteri pada konsentrasi 97.66 ppm. Fraksi etil asetat pada konsentrasi 390.63 ppm telah menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Fraksi n-butanol dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 781.25 ppm. Fraksi air baru menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50000 ppm sedangkan pada ekstrak etanol 80% tidak teramati aktivitas antibakteri pada konsentrasi tertinggi.

Sampel uji ekstrak etanol 80% tidak teramati adanya aktivitas antibakteri. Hal ini dikarenakan pada ekstrak etanol 80% buah *Prunus persica Zieb & Zucc* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder dan senyawa metabolit primer. Kandungan senyawa metabolit primer yang diketahui terdapat dalam ekstrak etanol 80% adalah amilum. Amilum menjadi media pertumbuhan bakteri karena bakteri memiliki kemampuan menghidrolisis amilum menjadi molekul lebih sederhana sehingga dapat digunakan sebagai nutrisi untuk bakteri tetap tumbuh (Nangin dkk., 2015). Menurut (Aziz & Rahman, 2013) kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak buah *Prunus persica Zieb & Zucc* adalah tanin, flavonoid dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol 80% memiliki aktivitas antibakteri yang kecil jika dibandingkan dengan fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol. Hal ini disebabkan karena adanya

interaksi yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder dan metabolit primer yang terkandung dalam ekstrak etanol 80%.

Sampel uji fraksi kloroform memiliki nilai KHM 97.66 ppm dan KBM 1562.5 ppm. Fraksi kloroform ekstrak etanol 80% *Prunus persica Zieb & Zucc* mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid, flavonoid dan polifenol yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menghambat aktivitas autolysin dengan cara membentuk interaksi atom yang kuat dengan sisi aktif residu (Daisy *et al*, 2008).

Sampel uji fraksi etil asetat memiliki nilai KHM 781.25 ppm dan KBM 3125 ppm. Terdapat beberapa penelitian yang menyatakan bahwa fraksi etil asetat diketahui memiliki profil aktivitas antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Teresa *et al.*, (2018) menggunakan fraksi etil asetat akar *Prunus persica* pada beberapa bakteri, seperti pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan nilai KHM 312 µg/ml dan nilai KBM sebesar 625 µg/ml. Fraksi etil asetat etanol 80% *Prunus persica Zieb & Zucc* mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan polifenol. Senyawa polifenol memiliki aktivitas antibakteri dengan berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri, senyawa fenolik yang bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim essensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah (Heyne, 1987).

Sampel uji fraksi n-butanol memiliki nilai KHM 781.25 ppm dan KBM 37500 ppm. Fraksi n-butanol diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan polifenol sama dengan fraksi etil asetat, namun keduanya memiliki efek antibakteri yang berbeda, menurut Sujatha *et al.*, (2013) efek antibakteri

paling kuat dimiliki oleh fraksinasi non polar, karena pada pelarut etil asetat dapat menarik senyawa metabolit lebih banyak daripada pelarut n-butanol, sehingga efek antibakteri yang didapatkan berbeda antara fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat pembentukan biofilm serta merubah permeabilitas membran (Xie *et al*, 2015).

Sampel uji fraksi air memiliki nilai KHM dan KBM pada konsentrasi 50000 ppm. Hal ini dikarenakan fraksi air merupakan fraksi terakhir dan mampu melarutkan senyawa-senyawa yang tertinggal dari fraksi sebelumnya. Efek antibakteri yang dihasilkan pun merupakan akumulasi dari berbagai macam senyawa yang bukan merupakan senyawa tunggal. Dalam fraksi air terdapat senyawa yang bersifat antibakteri, namun juga terdapat senyawa yang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Salem *et al.*, (2013) fraksi air dari tanaman *Prunus persica Zieb & Zucc* mengandung beberapa metabolit sekunder seperti tanin, saponin, flavonoid dan phlobatanin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Selanjutnya, menurut Houghton dan Rahman, (1998) pelarut air mampu mengikat senyawa asam amino, glikosida, dan amilum. Terdapat salah satu senyawa yang belum diketahui aktivitasnya yaitu amilum. Amilum merupakan senyawa polar yang lebih banyak terlarut pada pelarut polar.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa

1. Fraksi kloroform mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpenoid, dan polifenol. Fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan polifenol, sedangkan fraksi air tidak teridentifikasi mengandung senyawa metabolit sekunder.
2. Fraksi kloroform buah *Prunus persica* Zieb & Zucc memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM 97.66 ppm, fraksi etil asetat memiliki nilai KHM 390.63 ppm, fraksi n-butanol memiliki nilai KHM sebesar 781.25 ppm, fraksi air memiliki nilai KHM 50000 ppm. Penentuan nilai KBM menunjukkan bahwa fraksi kloroform memiliki nilai KBM tertinggi yaitu pada konsentrasi 1562.5 ppm, fraksi etil asetat sebesar 3125 ppm, fraksi n-butanol sebesar 37500 dan fraksi air sebesar 50000 ppm, sedangkan pada ekstrak etanol 80% tidak teramati pada konsentrasi maksimal.

7.2 Saran

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

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



DAFTAR PUSTAKA

- Aberg, J.A., Lacy, C.F, Amstrong, L.L, Goldman, M.P. and Lance, L.L., 2009, Drug Information Handbook, 17th edition, Lexi-Comp for the American Phammacist Association
- Adhinata, H. 2012. Uji Aktivitas Senyawa Antimikroba Ekstrak Mikroalga (Tetrachelmis culi) Metode Sonikasi. *Tugas Akhir* . Tidak diterbitkan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Ahn, S.M., Ryu, H. Y., Kang, D.K., Jung, I. C. 2009. Antimicrobial and Antioxidant Activity Of The Fruit Of *Prunus avium* L.(Abstract). *Korean Journal Of Microbiology and Bioctechonology* : 1598-642
- Ansel, H.C. ,2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi keempat. Jakarta.UI Press. Hal 103-105.
- Antoieta, Claudia. 2018. *Pneumococcal Infections (Streptococcus pneumonia*. Medscape. Diakses dari <https://emedicine.medscape.com/article/225811-overview> . Pada tanggal 02 November 2018
- Aziz, S. & Habib-ur-Rahman. 2013. *Biological activities of Prunus persica L. batch* *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(15).pp.947-951.
- Aziz, Tamzil., Febrizky, Sendry., Mario, Aris. 2014. *Pengaruh Pelarut terhadap Persen Yield Alkaloid dari Daun Salam India (Murraya koenigii)*. Jurnal Teknik Kimia Volume 2.
- Bahar,Azril, 2003. Peningkatan Prevalensi ISPA di Indonesia[Online](http://pdpi.ispa_indonesia.ac.id/?hal=detailartikel.com/2018,diakses tanggal 22 April 2019)

- Bakhiriansyah, Mohammad., Febria, Aswin, Rahmah, Defiyanti. 2011. *Efek Antibakteri in vitro dan Antidiare in vivo Akar Sago (Metroxylon sago)*. Majalah Farmasi Indonesia Volume 22
- Balitbang Kemenkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar, RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Bhagawan, W.S., 2011. *Etnobiologi Masyarakat Tengger Di Bromo Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang*. Skripsi , Farmasi Fakultas Farmasi Universitas , Jember.
- Brooks, G.F., Butel, J.S. & Morse, S.A., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz Melnick & Adelberg*. Jakarta: EGC.
- Botoro, 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.
- Byarugaba, D. K., 2009. *Mechanism of Antimicrobial Resistance*. *Departement of Veterany Microbiology and Parasitology*, Faculty of Veteinary Medicine, Makerere University.
- Cardozo, D.M., Carvalho, C.M.N., Andrade, A.L.S.S., Neto, A.M.S., Daltro, C.H.C., Brandao, M.A.S., 2008. Prevalence and risk factors for nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumonia* among adolescents. *J Med Microbiol*, 57(2): 185-9.
- CDC. 2013. *Antibiotik Resistance Threats in the United States, 2013*. US Department of Health and Human Service, Centers for Diseases Control and Prevention,Atlanta.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C.I ., Huang, Y. W., Wei, C.I. 1993. Growth Inhibition Of Selected Food-Bome Bacteria bt Tannic Acid, Propyl Gallate and Related Compounds. *Letters in Applied Microbiology* 17, p 29-30 in Akiyama, Hisanori., Fujii, Kazuyasu., Yamasaki, Osamu., Oono, Takashi.,

Iwatsuki, Keiji. 2001. Antibacterial Action Of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotraphy* 2 (48):487-491

Dagan R 2000. "Treatment of acute otitis media—challenges in the era of antibiotic resistance". *Vaccine* 19 (Suppl 1): S9–S16.

Daisy, P., Mathew, Salu., Rayan, Nirmala., Suveena, S., 2008, *A Novel Terpenoid from Elefantopus scaber-Antibacterial Activity on Staphylococcus aureus: A Substantiate Computational Approach*, *International Journal of Biomedical Science* Volume 4,

Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral POM-Depkes RI.

Departemen Kesehatan RI. 2000. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta : Direktorat Jendral POM-Depkes RI.

De Vos P, Garrity M G, Jones D, Krieg N, Ludwig W, Rainey A, Sclifer H Karl, Witman W. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteria Second Edition*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.

Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Saluran Pernafasan*, Jakarta, DEPKES RI

Edawati, Zulfa. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Ascidia didemnum sp. Dari Kepulauan Seribu dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dari Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif*. *Jurnal FMIPA Universitas Indonesia* Volume 3,

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.

- Endarini, dan Lully, Hanni, 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta. Pusdik SDM Kesehatan.
- Fitriani, Ana., Narulita, Rizkita., Sapri.2014. *Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Anona muricata L.) dengan Metode Maserasi*. Prosiding Seminar Nasional Kimia
- Gandjar., Ibnu, Gholib. & Abdul, Rohman., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, pustaka pelajar, Yogyakarta.
- Guenther, E.2006. *Minyak Atsiri Jilid Empat*. UI Press.Jakarta.
- Handa, S.S., 2008. An overview of Extraction Techniques for Medical and Aromatic Plants in Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International centre for science and high technology*, Trieste hal 21-25
- Han, W., Xu, J.D., Wei, F. X., 2015. Prokinetic Activity of *Prunus persica* (L.) Batsch Flowers Extract and Its Possible Mechanism of Action in Rats. *BioMed Research International*, 2015(2), 1-10.
- Harborne JB., 1987. *Metoda Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata. (Edisi II). Bandung: Penerbit ITB.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*.Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Hikmawati. Perbedaan Pola Kolonisasi Bakteri Potensial Patogen Respiratori Pada Nasofaring Anak-Anak dan Orang Tua Sehat.2010
- Houghton, P. J.& Raman, A., 1998. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. UK:Chapman and Hall

- Jawetz, E. 1997. *Principle of Antimicrobial Drug Action*. Basic and Clinical Pharmacology Third Edition. Appleton and Lange, Norwalk.
- Katzung, B.G. *Basic & Clinical Pharmacology, Tenth Edition*. United States. Lange Medical Publications.
- Kemkes RI. 2011. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 Tahun 2011, Jakarta.
- Kemkes RI. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemkes RI. 2015. *PENGGUNAAN ANTIBIOTIK BIJAK DAN RASIONAL KURANGIBEBANPENYAKITINFEKSI*. <http://www.depkes.go.id/article/print/1081100001/penggunaanantibiotik-bijak-dan-rasional-kurangi-beban-penyakit-infeksi.html>. Diakses 28 Mei 2018.
- 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
- Kristanti, Y. & Desy. 2012. *Pengaruh Ozonated Water sebagai Antiseptik dalam Menghambat Pertumbuhan Staphilococcus aureus (in vitro)*. Majalah Kedokteran Gigi. Juni 2012; 19 (1): 25-28
- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S. dan Liu, J.(2011). The Antioxidant And Free-Radical Scavenging Activities Of Extract And Fractinations From Corn Silk (*Zea mays*. L) And Rrelated flavone Glycosides. *Food Chemistry*. 126:261-269
- Mandell, G.L., 2000. *Principles and Practice of Infectious Diseases 5th Ed*. Churcill Livingstone: New York.
- Marliana, E. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*, Volume 11, Nomor 1, April 2012 ISSN 1412-498X.

- Misnadiarly ,Djajaningrat,H. 2014. *Mikrobiologi untuk Klinik dan Laboratorium*, Jakarta, Rineka Cipta
- M. Phil Sonia Akter, SM Shamsuzzaman M. Phil, PhD., Ferdush Jahan, M.Phil., 2014. *Community Acquired Bacterial Pneumonia: Aetiology, Laboratory detection and Antibiotic Susceptibility pattern*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>. Diakses tanggal 26 April 2019
- Ncube, Afolayan, and Okoh. 2007 Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends, *African Journal of Biotechnology*.
- Noorhamdani. 2014. *Uropathogen and Antibiotics Resistant Pattern of Bacteria Isolated from Urine of Urinary Tract Infection Patients in RSUD Dr. Saiful Anwar Malang*. Prosiding Annual Scientific Meeting 2014: Implementasi Antibiotic Stewardship Untuk Peningkatan Kualitas Manajemen Pasien, Yogyakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, *Prosiding*
- Nugroho RK. 2010. *Faktor resiko kolonisasi penicillin-nonsusceptible Streptococcus pneumoniae pada nasofaring balita*. Semarang : Universitas Diponegoro
- Oyetayo, A. M., Bada, S.O. 2017. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Of Prunus avium Extracts Against Selected Human Pathogens. *Journal of Complementary and Alternative Medical Research* 4(1) : 1-8
- Pamungkas, Rizky. T. P.2010. *Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang*. Skripsi. S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember: tidak diterbitkan.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES /PER/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika

Permawati, Mia. 2008. *Karakterisasi Ekstrak Air Daun Gandarusa (Justicia ganderussa Burm. F.) dan pengaruhnya terhadap Kadar Asam Urat Plasma Tikus Putih Jantan yang Dinduksi Kalium Oksonat*. FMIPA UI.

Pratiwi, ST., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta, Penerbit Erlangga.

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, Vol.8, No.2, 41-48.

Riskesdas 2007. Riset Kesehatan Dasar Laporan Nasional 2007. <http://terbitan.litbang.depkes.go.id/penerbitan/index.php>

Rusmiyati, D., S. A. F. Kusuma, Y. Susilawati, dan Sulistianingsih. 2007. *Pemanfaatan Kubis (Brassica oleracea Var. capitata alba) Sebagai Kandidat Anti Keputihan*. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran.

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

Ryan K.J., .Ray C.G .2004. *Sherris Medical Microbiology*. McGraw Hill.

Sarker SD, Latif Z, and Gray AI, 2006, *Natural Products Isolation*, New Jersey, Humana Press Inc

Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam* . Yogyakarta: Gajah Mada. University Press.

Setiabudy R., 2008. Antimikroba. In: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 5th Ed Farmakologi dan Terapi. Balai Penerbit FK UI, Jakarta

Severin J.A., Mertaniasih N.M., Kuntaman K., Lestari E.S., Den Toom N.L., et al. 2010. *Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases in clinical Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Surabaya, Indonesia*. J. Antimicrob. Chemother 65(3): 465-469.

Siemieniuk, Reed A.C.; Gregson, Dan B.; Gill, M. John (Nov 2011). "The persisting burden of invasive pneumococcal disease in HIV patients: an observational cohort study". *BMC Infectious Diseases* 11: 314

Supriadi. 2002. *Optimalisasi Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Tabat Barito (Ficus deltoidea)*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB

Teresa M., Meyanungsang K., Emma C.B., Wendy L., Joseph J.B., Imchawati I., Subramanyan V., Joanne F.J., 2018. Antimicrobial Properties of Plants of Chungtia Village Used Customarily to Treat Skin Related Ailments : From Antimicrobial Screening to Isolation of Active Compounds. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences*, 3(1)-2018.

Tenover fc. 2006. *Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria*. *AM J Med.* 119(6 Suppl 1):S3-S10.

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

Van Steenis. 2008. *Flora*. Jakarta : Pradnya Pramita.

Waziroh, Elok., Ali, Dego, Y., Isrianah, 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 03 November 2018.

World Health Organization. 2017. *Antimicrobial resistance*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. Diakses 20 September 2018.

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

Zulkhaq M. 2017. *Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Jambu Wer (Prunus persica Zieb & Zucc) Terhadap Eschericia coli*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Proses Ekstraksi

Perhitungan Jumlah Pelarut Yang Dibutuhkan Untuk Proses Maserasi

Berat Simplisia Serbuk *Prunus persica Zieb & Zucc.* x 10 = Jumlah Etanol 80%

151,08 gram x 10 = Jumlah Etanol 80%

1510.8 ml = Jumlah Etanol 80%

Pembuatan pelarut etanol 80%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$96\% \times V_1 = 80\% \times 1510.8 \text{ ml}$$

$$96\% \times V_1 = 129928.8 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1353.425 \text{ ml}$$

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol 80% Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc.*)

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% = \frac{56,88}{151,08} \times 100\% = 37,65\%$$

Ekstrak	Berat Simplisia Serbuk	Pelarut	Jumlah X Pelarut dan Total Volume Pelarut	Berat Hasil Ekstraksi	Rendemen	Warna
Jambu Wer	151,08 gram	Etanol 80%	3 kali dan 1510,8 ml	56,88 gram	37,65%	Coklat

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Fraksi Buah (*Prunus persica Zieb & Zucc*)

$$\% \text{ Rendemen Fraksi Kloroform} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% = \frac{1,194}{20} \times 100\% = 5,97\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi Etil Asetat} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% = \frac{1,857}{20} \times 100\% = 9,29\%$$

$$\% \text{ Rendemen Fraksi N-butanol} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% = \frac{4,048}{20} \times 100\% = 20,24\%$$

Jenis Fraksi	Jumlah X Pelarut	Volume Pelarut Total	Berat Fraksi	Rendemen
Klororform	4kali	400 ml	1,194	5,97%
Etil Asetat	6kali	600 ml	1,857	9,29%
N-Butanol	6kali	600 ml	4,048	20,24%

Lampiran 4. Perhitungan Pengenceran Bakteri

Nilai absorbansi terhadap *Streptococcus pneumoniae* bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada panjang gelombang 620 nm adalah 0,594

Konsentrasi bakteri $10^8 = \frac{1}{0,594} = 1,683$ (diambil 1,68 mikro ke dalam 10 ml media cair)

Konsentrasi bakteri $10^7 = M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$10^8 \times V_1 = 10^7 \times 10\text{ml} = 1\text{mL}$ (diambil 1 mikro kedalam 10 ml media cair).

Konsentrasi bakteri $10^6 = M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$10^8 \times V_1 = 10^6 \times 10\text{ml} = 1\text{mL}$ (diambil 1 mikro kedalam 10 ml media cair).

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Sampel Mikrodilusi

Well 1 = $(10^5 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$

$$5 \times 10^6 = M \cdot 10^2$$

$$M = 5 \times 10^4 = 50000 \text{ ppm}$$

Well 2 = $(5 \times 10^4 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$

$$25 \times 10^5 = M \cdot 10^2$$

$$M = 25 \times 10^3 = 25000 \text{ ppm}$$

Well 3 = $(25 \times 10^3 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$

$$125 \times 10^4 = M \cdot 10^2$$

$$M = 12500 \text{ ppm}$$

Well 4 = $(12500 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$

$$625 \times 10^3 = M \cdot 10^2$$

$$M = 6250 \text{ ppm}$$

Well 5 = $(6250 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$

$$3125 \times 10^2 = M \cdot 10^2$$

$$M = 3125 \text{ ppm}$$

$$\text{Well 6} = (3125 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$$

$$156250 = M \cdot 10^2$$

$$M = 1562,5 \text{ ppm}$$

$$\text{Well 7} = (1562,5 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$$

$$78125 = M \cdot 10^2$$

$$M = 781,25 \text{ ppm}$$

$$\text{Well 8} = (781,25 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$$

$$39062,5 = M \cdot 10^2$$

$$M = 390,625 \text{ ppm}$$

$$\text{Well 9} = (390,625 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$$

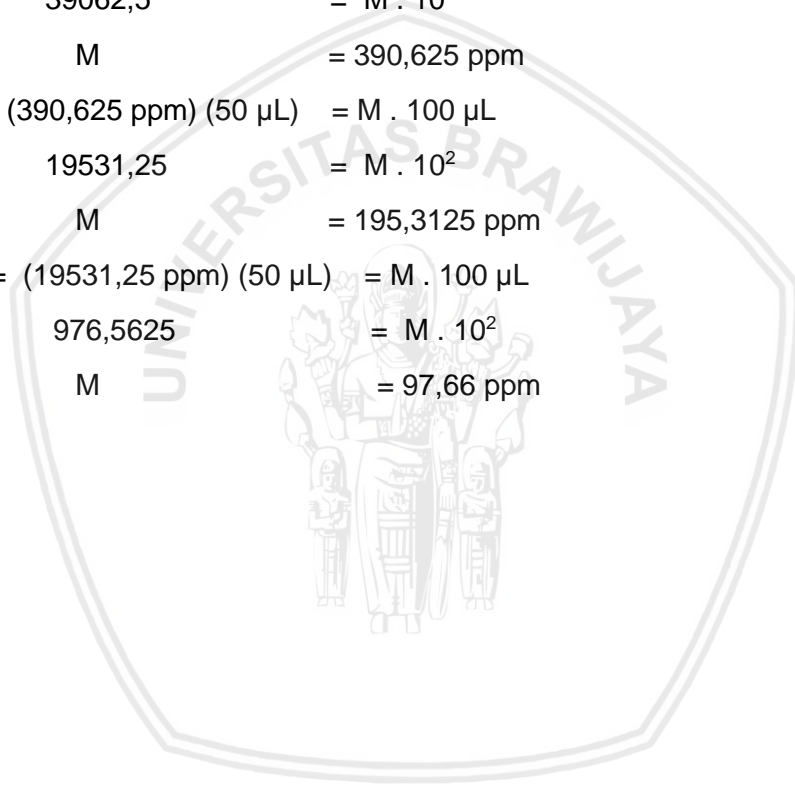
$$19531,25 = M \cdot 10^2$$

$$M = 195,3125 \text{ ppm}$$

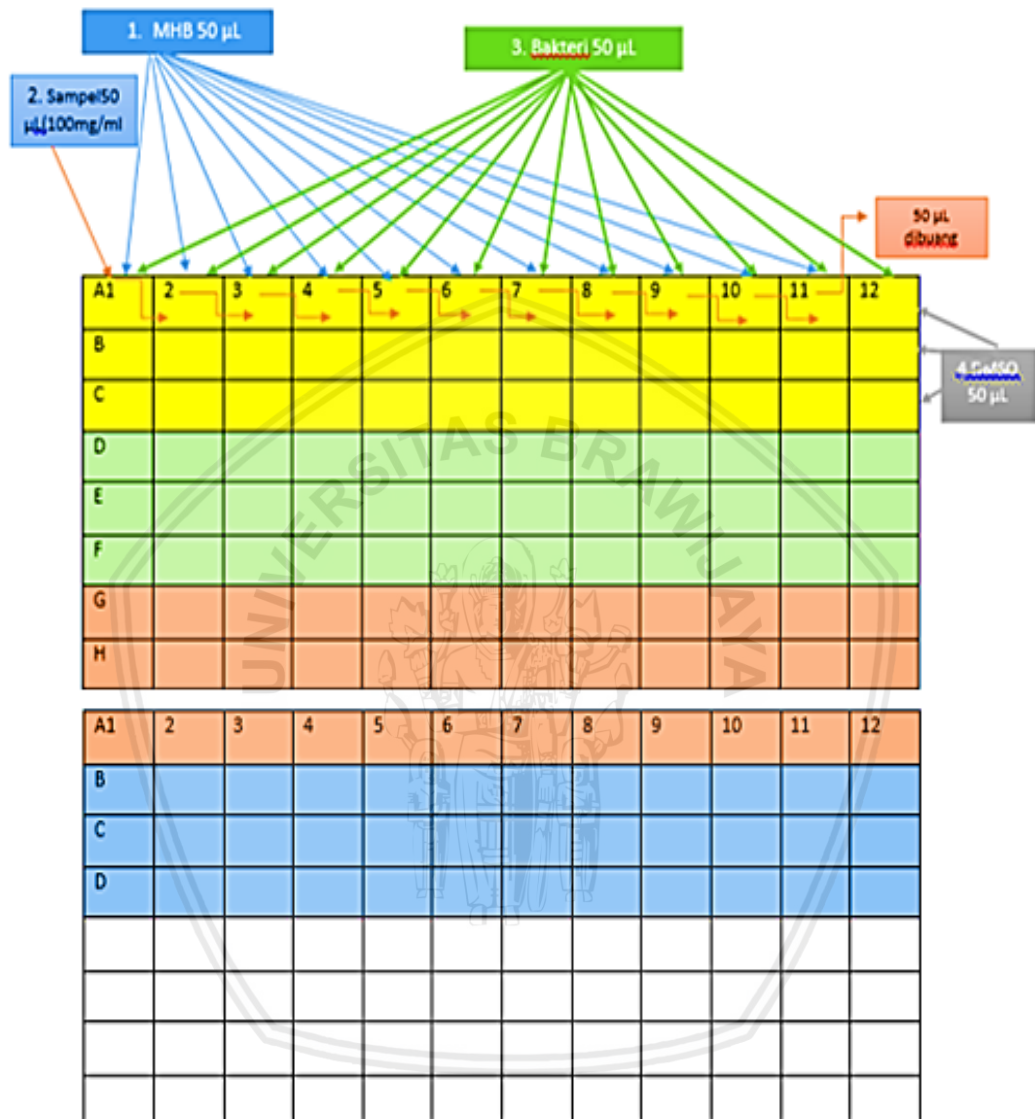
$$\text{Well 10} = (19531,25 \text{ ppm}) (50 \mu\text{L}) = M \cdot 100 \mu\text{L}$$

$$976,5625 = M \cdot 10^2$$

$$M = 97,66 \text{ ppm}$$



Lampiran 6. Tabel Mikrodilusi pada Mikroplate



Lampiran 7. Hasil Skrining Fitokimia

Parameter Uji	Metode	Hasil	Kesimpulan
Antrakuinon	Eluasi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10) pada λ 245 nm	Tidak tampak noda berwarna kuning	-
Flavonoid	Penampak noda uap ammonia	Tampak noda kuning	+
	Penampak noda H ₂ SO ₄ 10% pada panjang gelombang 254 nm	Tampak noda kuning	+
Terpenoid	Eluasi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (1 : 9) pada λ 366 nm	Tampak noda merah	+
Tanin	Uji FeCl ₃	Larutan berwarna hijau kehitaman	+
	Uji Gelatin 10%	Tidak terjadi endapan putih	-
Polifenol	Penampak noda FeCl ₃ diamati pada λ 254 nm	Noda berwarna hitam	+
	Penampak noda FeCl ₃ diamati pada λ 366 nm	Noda berwarna hitam	+
Alkaloid	Penampak noda dragendorf diamati secara visual	Tidak tampak noda kekuningan	-

Lampiran 8. Perhitungan Persen Hambatan Bakteri

Tabel L8.1 Sampel Uji : Kontrol positif (Seftriakson+Bakteri)

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	0,067	0,075	0,001	1,342	87,619
		0,082				
2	25000 ppm	0,069	0,072	0,003	3,496	73,470
		0,074				
3	12500 ppm	0,062	0,056	0,006	10,714	78,776
		0,050				
4	6250 ppm	0,053	0,060	0,007	11,667	85,850
		0,067				
5	3125 ppm	0,052	0,055	0,003	5,454	82,313
		0,058				
6	1562.5 ppm	0,063	0,060	0,003	5	50,477
		0,057				
7	781.3 ppm	0,058	0,063	0,005	7,2	55,783
		0,067				
8	390.63 ppm	0,058	0,058	0,001	0,869	80,544
		0,057				
9	195.31 ppm	0,055	0,056	0,001	0,900	73,470
		0,056				
10	97.66 ppm	0,049	0,056	0,000	0	61,089
		0,063				

Tabel L8.2 Sampel Uji : Ekstrak + Suspensi Bakteri

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	1	0,96	0,040	4,166	-462,434
		0,92				
2	25000 ppm	0,676	0,673	0,004	0,520	-382,844
		0,069				
3	12500 ppm	0,286	0,285	0,001	0,350	-112,239
		0,284				
4	6250 ppm	0,23	0,292	0,063	21,367	-404,068
		0,355				
5	3125 ppm	0,265	0,259	0,006	2,119	-524,337
		0,254				
6	1562.5 ppm	0,378	0,303	0,075	24,546	-676,441
		0,229				
7	781.3 ppm	0,262	0,229	0,033	14,161	-481,889
		0,197				
8	390.63 ppm	0,149	0,167	0,019	11,044	-290,874
		0,186				
9	195.31 ppm	0,267	0,350	0,083	23,714	-954,121
		0,433				

10	97.66 ppm	0,549	0,333	0,216	64,864	-915,210
		0,117				

Tabel L8.3 Sampel Uji : Fraksi Kloroform + Suspensi Bakteri

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	1,079	1,098	0,019	1,730	2027,838
		1,117				
2	25000 ppm	1,07	1,111	0,041	3,647	1460,990
		1,151				
3	12500 ppm	0,543	0,550	0,007	1,182	579,306
		0,556				
4	6250 ppm	0,119	0,151	0,032	20,930	876,441
		0,182				
5	3125 ppm	0,103	0,096	0,007	7,291	351,149
		0,089				
6	1562.5 ppm	0,093	0,087	0,007	7,514	122,992
		0,08				
7	781.3 ppm	0,107	0,414	0,307	74,154	-1070,852
		0,721				
8	390.63 ppm	0,096	0,095	0,002	1,587	23,947
		0,093				
9	195.31 ppm	0,09	0,087	0,003	3,448	64,642
		0,084				
10	97.66 ppm	0,089	0,088	0,001	1,136	89,388
		0,087				

Tabel L8.4 Sampel Uji : Fraksi Etil Asetat + Suspensi Bakteri

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	0,18	0,163	0,017	10,429	881,747
		0,146				
2	25000 ppm	0,195	0,179	0,016	8,938	998,478
		0,163				
3	12500 ppm	0,112	0,107	0,005	4,672	581,075
		0,102				
4	6250 ppm	0,083	0,087	0,004	4,597	248,567
		0,091				
5	3125 ppm	0,088	0,082	0,006	7,317	100
		0,076				
6	1562.5 ppm	0,106	0,089	0,017	19,101	-2,582
		0,072				
7	781.3 ppm	0,082	0,084	0,002	1,796	16,873
		0,085				
8	390.63 ppm	0,084	0,081	0,003	3,703	0,955
		0,078				

9	195.31 ppm	0,085	0,082	0,004	4,294	-18,500
		0,078				
10	97.66 ppm	0,081	0,080	0,002	1,886	-18,500
		0,078				

Tabel L8.5 Sampel Uji : Fraksi N-butanol + Suspensi Bakteri

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	0,076	0,073	0,004	4,827	119,455
		0,069				
2	25000 ppm	0,360	0,223	0,137	61,435	-228,970
		0,086				
3	12500 ppm	0,111	0,198	0,087	43,797	-404,067
		0,284				
4	6250 ppm	0,128	0,283	0,016	5,477	-731,269
		0,097				
5	3125 ppm	0,092	0,090	0,002	2,222	-48,567
		0,088				
6	1562.5 ppm	0,077	0,074	0,003	4,054	4,492
		0,071				
7	781.3 ppm	0,062	0,070	0,008	11,428	8,029
		0,078				
8	390.63 ppm	0,08	0,079	0,002	1,910	-25,574
		0,077				
9	195.31 ppm	0,073	0,235	0,162	68,869	-577,396
		0,396				
10	97.66 ppm	0,078	0,077	0,001	1,298	0,955
		0,076				

Tabel L8.6 Sampel Uji : Fraksi Air + Suspensi Bakteri

No	Konsentrasi	OD	Rata-rata	SD	RSD	% Hambatan
1	50000 ppm	0,262	0,469	0,207	44,076	466,112
		0,675				
2	25000 ppm	0,794	0,680	0,115	16,850	-1125,680
		0,565				
3	12500 ppm	0,876	0,958	0,082	8,559	-2666,183
		1,040				
4	6250 ppm	0,875	0,866	0,010	1,097	-2512,309
		0,856				
5	3125 ppm	0,778	0,810	0,032	3,950	-2461,018
		0,842				
6	1562.5 ppm	0,764	0,712	0,053	7,378	-2162.115
		0,659				
7	781.3 ppm	1,007	0,998	0,009	0,901	-3228,616
		0,989				

8	390.63 ppm	0,765	0,793	0,028	3,530	-2510,541
		0,821				
9	195.31 ppm	0,876	0,776	0,101	12,959	-2480,474
		0,675				
10	97.66 ppm	0,457	0,565	0,108	19,043	-1727,025
		0,672				

Lampiran 9. Rumus Persen Hambatan

Contoh perhitungan % Hambat (Sampel Ekstrak + Seftriakson) 50000 ppm

$$\text{Rumus \% Hambat} = 1 - \frac{OD (\text{Sampel+Suspensi Bakteri}) - OD (\text{Sampel+MHB})}{OD \text{ Kontrol Negatif } (OD \text{ DMSO+Suspensi Bakteri} - OD \text{ DMSO+MHB})} \times 100\%$$

Keterangan :

$$OD (\text{Sampel+Suspensi Bakteri}) = 0,96$$

$$OD (\text{Sampel+ MHB}) = 0,801$$

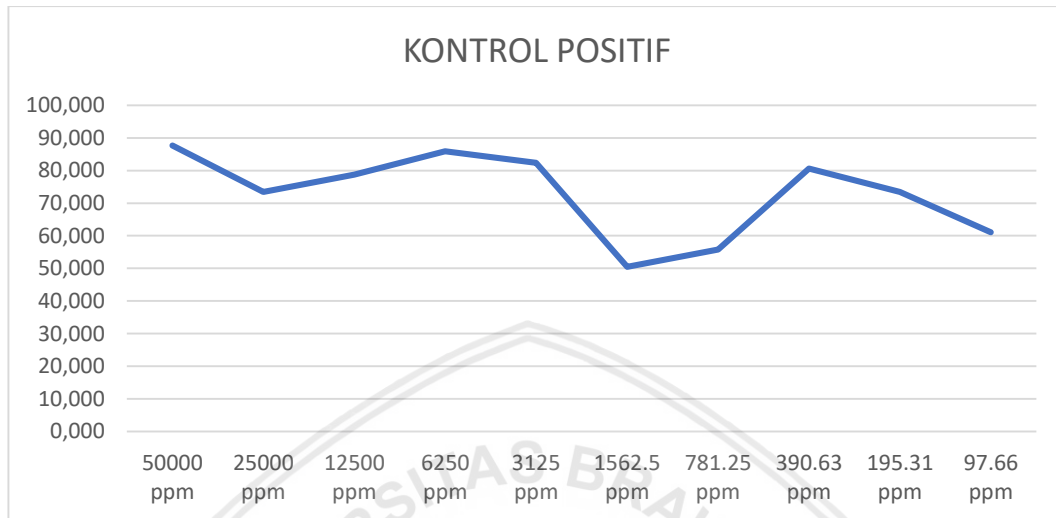
$$OD \text{ Kontrol Negatif} = 0,06487 - 0,036 = 0,02887$$

$$\% \text{ Hambat} = 1 - \left(\frac{0,159}{0,02887} \right) \times 100\%$$

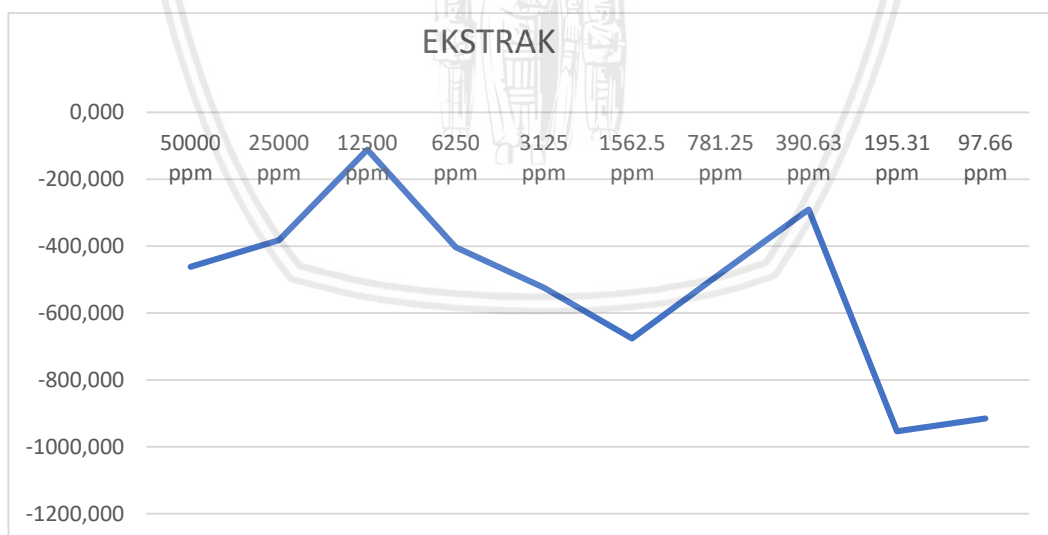
$$= 1 - (5.5074) \times 100\%$$

$$= -450,74\%$$

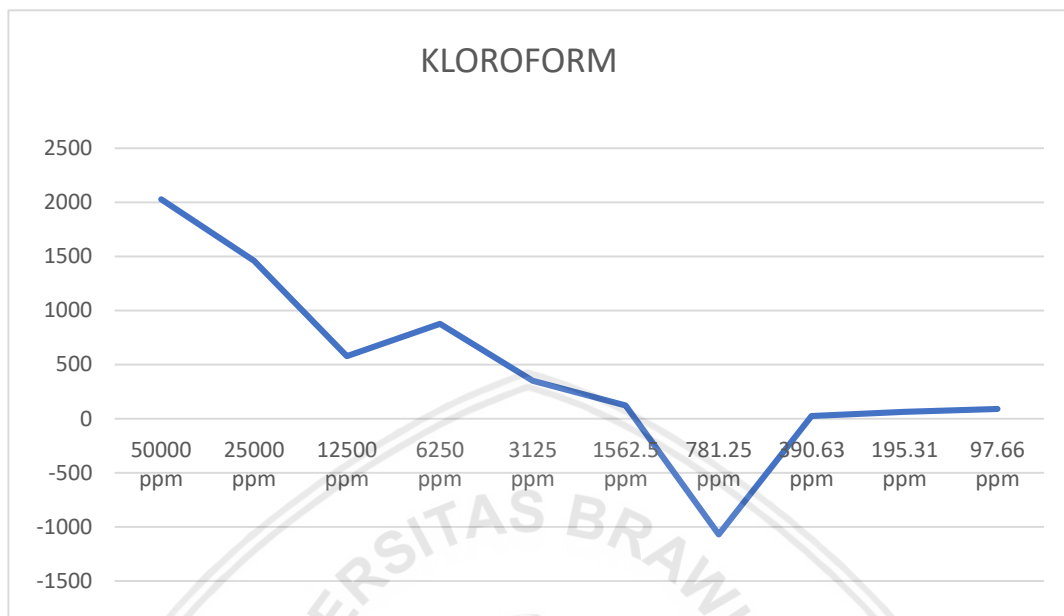
Lampiran 10. Grafik Persen Hambatan Bakteri



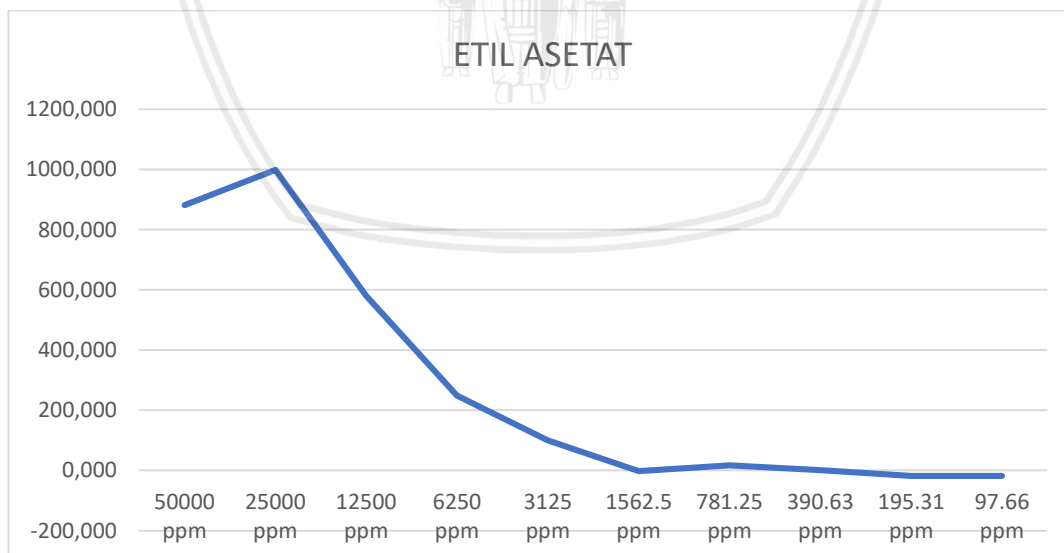
Gambar L10.1 Grafik Sampel Uji : Seftriakson + Suspensi Bakteri



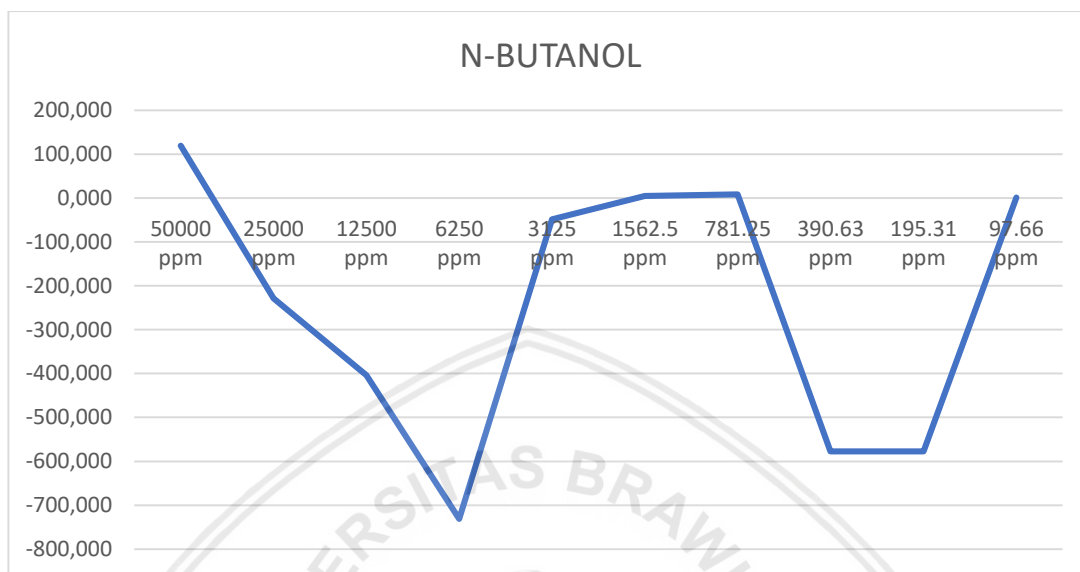
Gambar L10.2 Grafik Sampel Uji : Ekstrak + Suspensi Bakteri



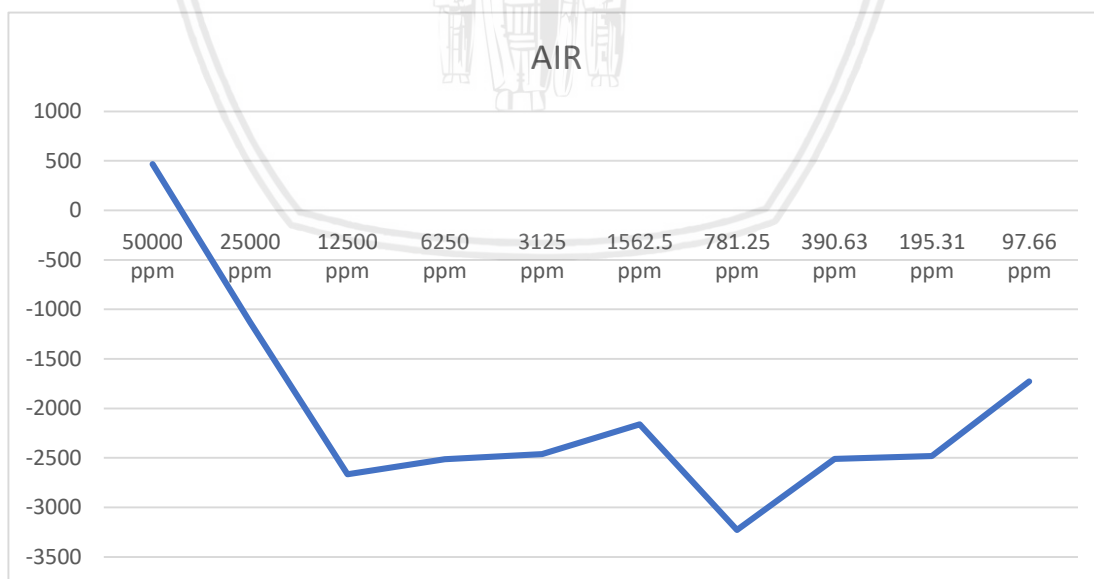
Gambar L10.3 Grafik Sampel Uji :Fraksi Kloroform + Suspensi Bakteri



Gambar L10.4 Grafik Sampel Uji : Fraksi Etil asetat + Suspensi Bakteri



Gambar L10.5 Grafik Sampel Uji : Fraksi N-Butanol + Suspensi Bakteri



Gambar L10.6 Grafik Sampel Uji : Fraksi Air + Suspensi Bakteri