

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Di Indonesia, diare merupakan masalah kesehatan masyarakat karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi. Diare dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus dan parasit. Penyebab diare terbanyak kedua setelah virus adalah infeksi bakteri. Salah satu bakteri yang menyebabkan diare yaitu *Escherichia coli*. Bakteri *E. coli* merupakan salah satu jenis bakteri komensal, patogen intestinal dan patogen ekstraintestinal yang dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius. Sebagian besar dari bakteri *E. coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal. Namun, ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bakri, 2015).

Obat untuk mengatasi infeksi bakteri adalah antibiotik. Penggunaan yang berlebihan pada antibiotik dapat menyebabkan munculnya resistensi bakteri yaitu bakteri yang bertahan pada antibiotik. Sehingga, manfaat dari obat akan berkurang. Bakteri-bakteri yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi masalah kesehatan yang sangat besar. Pada penelitian diberbagai rumah sakit ditemukan sebanyak 30%-80% penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi. Infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik akan menyebabkan meningkatnya angka penyakit dan angka kematian. Untuk mengurangi resistensi, pemilihan antibiotik harus berdasarkan informasi spektrum bakteri penyebab infeksi dan pola kepekaan terhadap antibakteri (Nurmala *et al.*, 2015).

Antibakteri adalah suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri. Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein dan menghambat kerja enzim (Septiani, 2017).

Salah satu tumbuhan yang hidup di Indonesia khususnya di Kalimantan diduga berpotensi sebagai antibakteri adalah Akar Kaik - Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr). Karena mengandung senyawa fenolik dan flavonoid (Abdullah *et al.*, 2016). Menurut Rahmawati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Senyawa yang diperoleh dari isolasi *U. cordata* merupakan golongan terpenoid. Belum pernah ada penelitian tentang *U. cordata* sebagai antibakteri, penelitian yang terdahulu meneliti *U. cordata* sebagai aktivitas sitotoksik oleh (Rahmawati *et al.*, 2016).

Zat antibakteri pada *U. cordata* dapat diperoleh dengan cara dibuat ekstrak, pada penelitian digunakan etil asetat sebagai pelarut. Sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Purwanto (2015) tentang uji antibakteri *E. coli* terhadap daun senggani menggunakan metode fraksinasi dengan pelarut etil asetat dan methanol melalui metode difusi cakram. Pada penelitian tersebut dihasilkan fraksi etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum 250 µg/ml dan 1000 µg/ml. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Ersita dan Kardewi (2016), tentang uji aktivitas antibakteri *E. coli* dengan metode difusi cakram terhadap daun sirsak dan digunakan metode fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Pada penelitian tersebut dihasilkan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 0,250 mg/ml. Sampai sekarang penelitian tentang aktivitas antibakteri pada akar *U. cordata* terhadap bakteri *E. coli* menggunakan pelarut etil asetat belum pernah dilakukan, sehingga peneliti tertarik untuk meneliti.

## 1.2 Rumusan Masalah

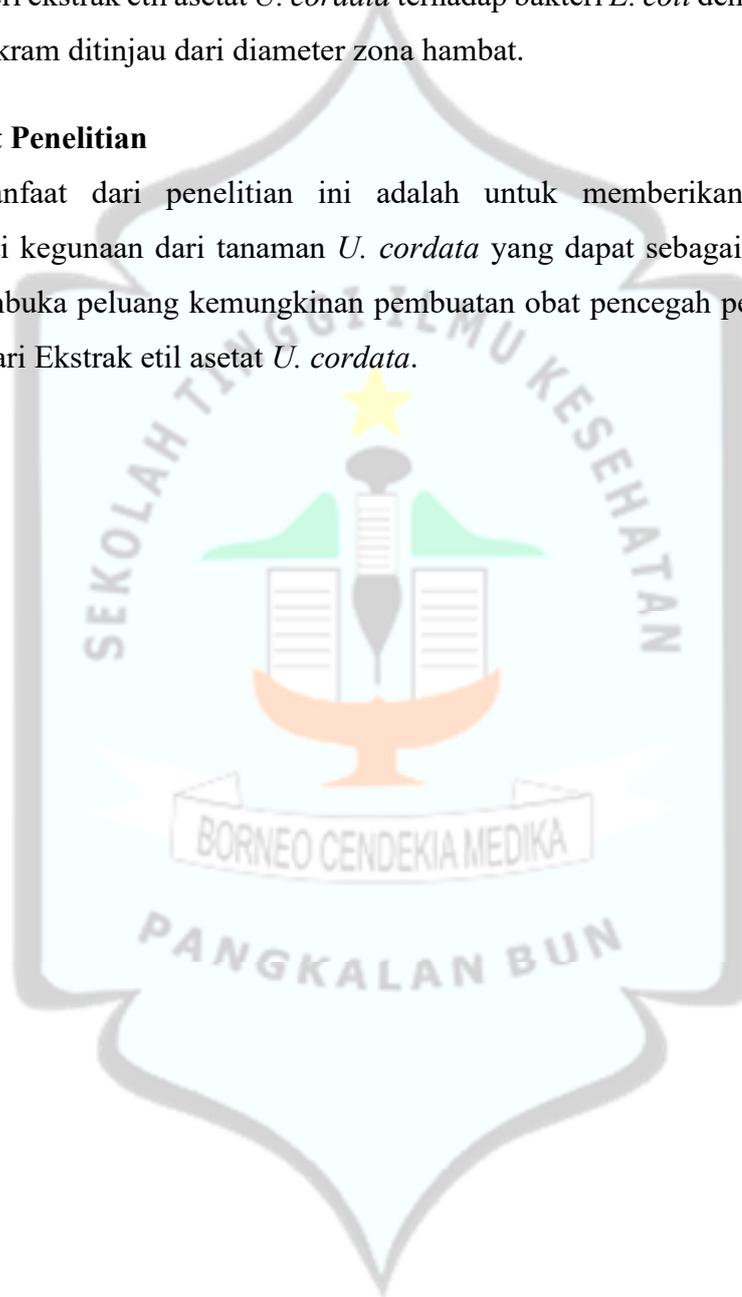
Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat *U. cordata* terhadap bakteri *E. coli* dengan metode difusi cakram ditinjau dari diameter zona hambat?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan data aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat *U. cordata* terhadap bakteri *E. coli* dengan metode difusi cakram ditinjau dari diameter zona hambat.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai kegunaan dari tanaman *U. cordata* yang dapat sebagai antibakteri dan membuka peluang kemungkinan pembuatan obat pencegah pertumbuhan *E. coli* dari Ekstrak etil asetat *U. cordata*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr.

*Uncaria* merupakan salah satu genus tumbuhan yang memiliki khasiat dan kandungan kimia yang berkhasiat obat karena beberapa diantaranya sudah digunakan dalam pengobatan tradisional. Tumbuhan ini banyak diantaranya yang digunakan dalam pengobatan adalah bagian akar. Akar-akaran (Bajakah dalam bahasa Dayak) banyak dimanfaatkan oleh masyarakat suku Dayak dalam pengobatan, beberapa spesies *Uncaria* juga dikenal dengan nama bajakah. Berdasarkan hasil penelusuran literatur ditemukan sedikitnya ada lima spesies *Uncaria* yang terdapat di Kalimantan Timur (Borneo). Kelima spesies *Uncaria* tersebut adalah akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr, *Uncaria longiflora*, bajakah atau gambir (*Uncaria Gambir* Roxb), bajakah (*Uncaria nervosa*) dan *Uncaria tomentosa* (Erwin, 2020).

Pada penelitian ini menggunakan *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang mempunyai morfologi sebagai berikut:



(a)

(b)

(c)

Gambar 2.1. *Uncaria cordata* (Lour.) Merr k a. Daun b. Akar c. Batang (Dokumen Pribadi, 2019)

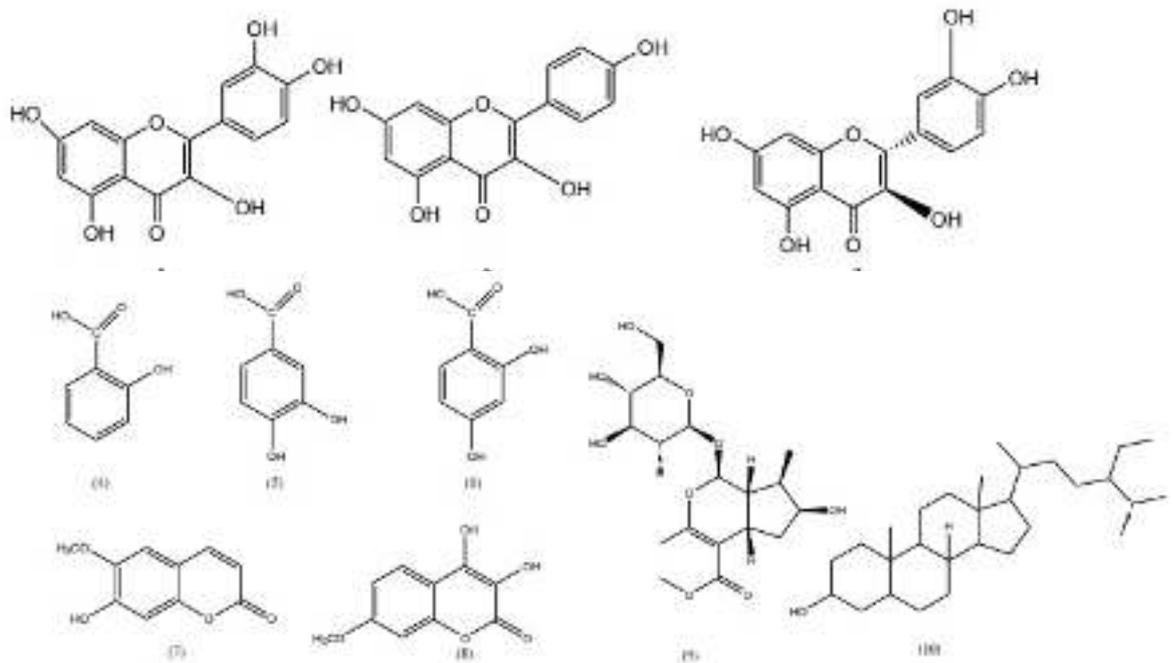
### 2.1.1. Taksonomi

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan *U. cordata* di Lipi Purwodadi pada tanggal 13 Agustus 2020 diketahui klasifikasinya sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Asteridae  
Ordo : Rubiales  
Family : Rubiaceae  
Genus : Uncaria  
Spesies : *Uncaria cordata* (Lour.) Merr.

Menurut Zhang *et al.*, (2015) 19 dari genus *Uncaria* ditemukan sebagai obat tradisional yang penting di Cina, Malaysia, Filipina, Afrika dan Amerika Tenggara dan lain-lain. Tumbuhan ini telah digunakan untuk pengobatan asma, rematik, hiperpireksia, hipertensi dan sakit kepala. Lebih dari 200 senyawa telah diisolasi dari *Uncaria*, termasuk alkaloid indol, triterpen, flavanoid, fenol dan fenilpropanoid dan lain-lain.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Abdullah *et al.*, (2016) diketahui *U. cordata* diperoleh 10 senyawa dengan struktur beragam yang terdiri dari tiga flavanoid: quercetin (1), kaempferol (2) dan taxifolin (3), tiga asam fenolik: asam 2-hidroksibenzoat atau (4) asam 2,4 dihidroksibenzoat (5), asam 3,4-dihidroksibenzoat (6), dua kumarin: skopotelin (7), 3,4 dihidroxy-7-methoxycoumarin (8), 1 glikosida iridoid: loganin (9) dan 1 sterol:  $\beta$ -sitosterol (10). Selain itu hasil penelitian Rahmawati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Senyawa yang diperoleh dari isolasi *U. cordata* merupakan golongan terpenoid dan mempunyai aktivitas sitotoksik kategori sangat kuat yaitu 2,57  $\mu\text{g/mL}$ .



Gambar 2.2. Senyawa metabolit sekunder pada akar Kaik-Kaik *Uncaria cordata* (Lour.) Merr (Abdullah *et al.*, (2016))

### 2.1.2. Habitat Tumbuhan

Akar *Uncaria* merupakan tumbuhan asli Malay, Peninsula, Sumatra, Borneo, dan Philippines (Erwin, 2020). Genus *Uncaria* tidak dapat dibudidayakan karena kandungannya akan berbeda dengan yang tumbuh di habitat aslinya.

### 2.1.3. Kandungan Tumbuhan

Kandungan Senyawa metabolit primer terdiri dari karbohidrat, protein dan lemak. Dalam uji ilmiah menurut Abdullah *et al.*, (2016) akar *U. cordata* positif mengandung senyawa metabolit sekunder terdiri dari fenolik dan flavonoid. Selain itu hasil penelitian Rahmawati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Senyawa yang diperoleh dari isolasi *U. cordata* merupakan golongan terpenoid.

#### 2.1.4. Pemanfaatan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour). Merr).

*U. cordata* telah dikenal masyarakat Kalimantan sebagai tumbuhan obat-obatan alami. Di pedalaman Kalimantan Tengah, warga memanfaatkan seluruh bagian tumbuhan herbal ini. Tumbuhan ini mempunyai potensi nilai ekonomi yang cukup tinggi dan jika dibudidayakan dapat menambah penghasilan masyarakat, selama ini digunakan sebagai ramuan makan sirih, bahan baku industri farmasi, penyamak kulit, zat warna industri tekstil, ramuan cat, pestisida nabati, rempah maupun untuk pengobatan tradisional seperti diare, disentri (Erwin, 2020)

## 2.2. Ekstraksi

Menurut Leba (2017) ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Ekstraksi padat-cair atau *leaching* merupakan proses transfer secara difusi analit dari sampel yang berwujud padat ke dalam pelarutnya. Ekstraksi dari sampel padatan dapat dilakukan jika analit yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi. Pada ekstraksi ini prinsip pemisahan didasarkan pada kemampuan atau daya larut analit dalam pelarut tertentu. Dengan demikian pelarut yang digunakan harus mampu menarik komponen analit dari sampel secara maksimal.

Menurut Depkes RI (2014), tahapan proses pembuatan ekstrak, yaitu:

### a. Pembuatan Serbuk Simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah pembentukan serbuk simplisia kering dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak, karena semakin halus serbuk simplisia proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien.

### b. Cairan Penyari

Cairan penyari proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk zat kandungan berkhasiat, dengan demikian zat tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan zat kandungan lainnya serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar zat kandungan yang diinginkan.

c. Separasi dan Pemurnian

Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan zat yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa dipengaruhi zat kandungan yang dikehendaki. Dalam hal ini termasuk juga pemisahan dari sisa pelarut yang tidak dikehendaki. Sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni.

d. Pemekatan dan Penguapan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah atau konsentrasi zat terlarut dengan cara menguapkan pelarut sampai menjadi kandungan kering sehingga ekstrak menjadi kental dan pekat.

e. Pengeringan Ekstrak

Dilakukan dengan menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering dan rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan.

f. Rendemen

Rendemen adalah perbandingan ekstrak yang diperoleh dengan ekstrak sebenarnya.

Menurut Leba (2017), terdapat berbagai macam metode ekstraksi yang biasa digunakan antara lain yaitu dengan cara panas dan cara dingin, yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi padat cair yang paling sederhana. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Sampel biasanya direndam selama 3-5 hari sambil diaduk sesekali untuk mempercepat proses pelarutan analit. Ekstraksi dilakukan berulang kali sehingga analit terekstraksi secara sempurna. Indikasi bahwa semua analit terekstraksi secara sempurna adalah pelarut yang digunakan tidak berwarna.

Kelebihan ekstraksi ini adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Kelemahannya adalah menggunakan banyak pelarut.

## b. Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu jenis ekstraksi padat cair yang dilakukan dengan jalan mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu pelokator, pada ekstraksi jenis ini, pelarut ditambahkan secara terus menerus, sehingga proses ekstraksi selalu dilakukan dengan pelarut yang baru. Pola penambahan pelarut yang dilakukan adalah menggunakan pola penetasan pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau dilakukan dengan penambahan pelarut dalam jumlah besar secara berkalah.

Proses ekstraksi dilakukan sampai sampel terekstraksi secara sempurna. Indikasi bahwa semua analit telah terekstraksi secara sempurna adalah pelarut yang digunakan tidak berwarna.

Pada proses Ekstraksi digunakan pelarut, salah satunya Etil asetat merupakan cairan jernih, tak berwarna, berbau khas yang digunakan sebagai pelarut tinta, perekat dan resin. Jika dibandingkan dengan etanol, etil asetat memiliki koefisien distribusi yang lebih tinggi dibanding etanol termasuk kelarutannya dalam *gasoline*. Selain dari penggunaannya sebagai pelarut, etil asetat dapat berfungsi sebagai bahan aditif untuk meningkatkan bilangan oktan pada bensin serta dapat berguna sebagai bahan baku kimia serba guna. Pembuatan etil asetat biasanya dilakukan dengan esterifikasi (Azura *et al.*, 2015).

Etil asetat sebagai pelarut semipolar. Setiap tahapan ekstraksi yang dilakukan diharapkan dapat mengekstrak senyawa yang mempunyai kepolaran sesuai dengan kepolaran pelarut. Penggunaan pelarut dipilih karena untuk mendapatkan target senyawa yang tepat, selain itu mampu menarik senyawa berdasarkan tingkat kepolaran dari semi polar hingga non polar, dalam ekstrak yang dikehendaki. Etil asetat yang bersifat semipolar akan menarik senyawa semi polar hingga non polar (Firdiyani, 2015).

### 2.3. *Escherichia coli*

2.3.1. Klasifikasi *E. coli* sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Brooks <i>et al.</i> , 2013).

Bakteri *E. coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7  $\mu\text{m}^3$ . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40  $^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimumnya pada 37 $^{\circ}\text{C}$  dan tergolong bakteri gram negatif (Sutiknowati, 2016).

Struktur dinding sel gram negatif tipis 10 – 15 nm dan lapis tiga (trilayer), komposisi dinding sel Kandungan lipid tinggi (11 - 22%), peptidoglikan jumlahnya sedikit (10% berat kering sel) tidak mengandung asam teikoat, persyaratan nutrisi relatif sederhana, kurang rentan terhadap obat penisilin dan kurang tahan terhadap gangguan fisik (Sutiknowati, 2016).



Gambar 2.3. *Escherichia coli* (Brooks *et al.*, 2013)

#### 2.4. Aktivitas Antibakteri

Menurut Yanling *et al.* (2013) Antibakteri adalah senyawa atau zat yang membunuh atau memperlambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri merupakan kemotraupetik yang memiliki manfaat dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Antibakteri diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya dan spektrum aktivitasnya. Ruang lingkup bakteri yang dipengaruhi oleh zat antibakteri yang disebut sebagai spektrum antibakteri. Umumnya, antibakteri hanya efektif terhadap beberapa bakteri patogen. Berdasarkan spektrumnya antibakteri terbagi mejadi 2 bagian yaitu:

- a. Spektrum luas (*broad spectrum*), zat antibakteri dikatakan berspektrum luas apabila zat tersebut efektif melawan berbagai jenis atau golongan, baik membunuh atau menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif.
- b. Spektrum sempit (*narrow spectrum*), hanya efektif melawan bakteri dalam jumlah terbatas atau satu golongan baik bakteri Gram positif atau Gram negatif.

Dilakukan Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* untuk mengetahui efektivitas suatu ekstrak terhadap bakteri. Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang dibutuhkan oleh mikroba agar mampu hidup, tumbuh dan berkembang biak. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas antibiogram Kirby-Bauer. Pada metode difusi, parameter yang diamati adalah zona hambat yang terbentuk dengan mengukur diameter zona jernih di sekitar sumur dengan penggaris (Ikrom *et al.*, 2014).

Metode difusi sering digunakan dalam pengujian antibakteri untuk mengetahui kerentanan zat murni dengan cara membandingkan senyawa polar dengan non-polar. Metode Cakram Kertas (*Paper disc method*) prinsip dalam metode ini menggunakan cakram kertas filter (diameter sekitar 6 mm), mengandung senyawa uji ditempatkan pada permukaan media agar yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji (harus dihindari jika pengujian dengan cara mencelupkan kertas saring, disarankan dilakukan pada permukaan media agar). Agen antibakteri berdifusi ke media agar dengan

menghambat perkecambahan dan pertumbuhan mikroorganisme uji. Cawan petri diinkubasi dengan waktu dan suhu tertentu, setelah itu dilakukan pengukuran zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Mujipradhana, 2018).

Tabel 1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Rundengan *et al.*, 2017)

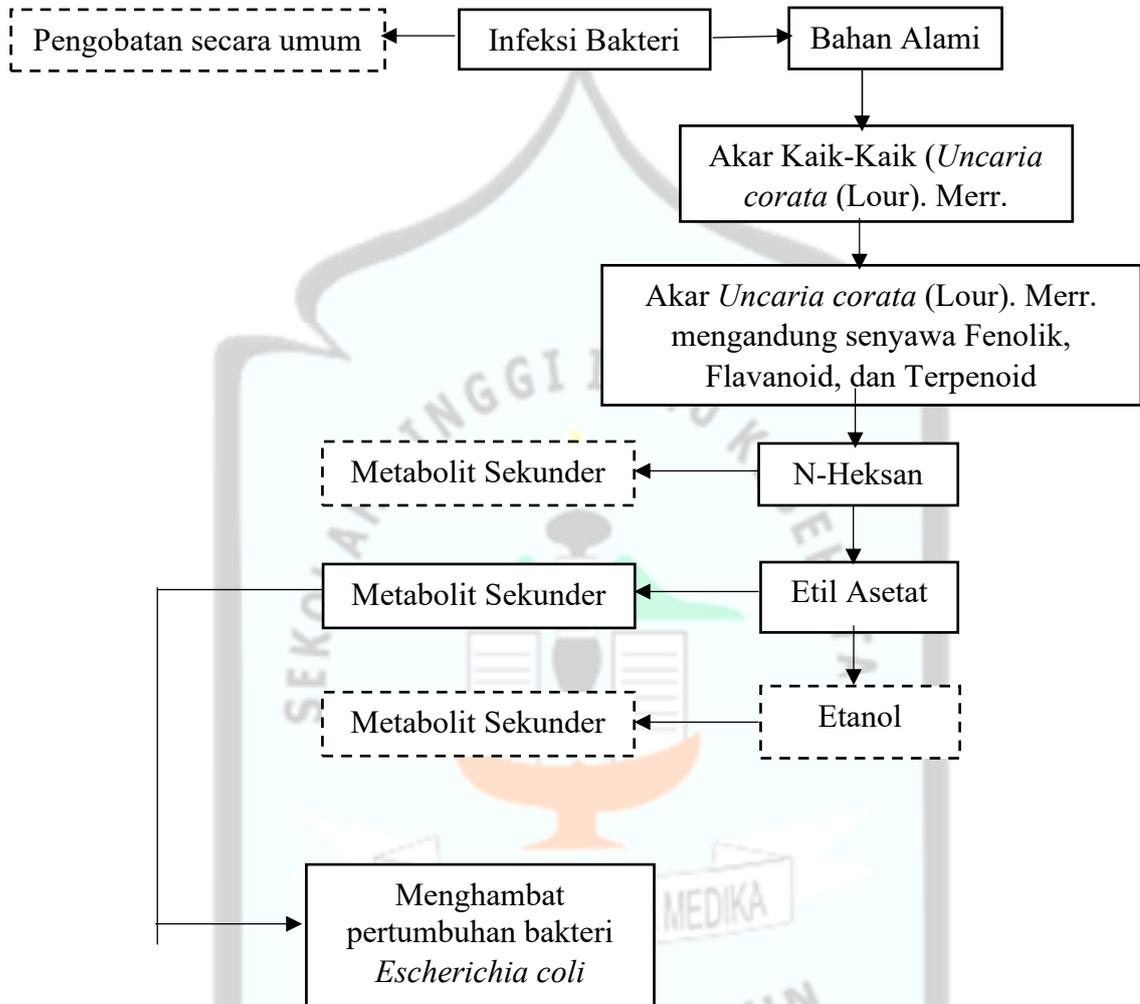
Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Sangat Kuat
11-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah



## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1. Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan ————— : Dilakukan Penelitian

----- : Tidak Dilakukan Penelitian

### 3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Pada umumnya *E. coli* terdapat secara normal dalam alat pencernaan manusia dan hewan. Sebagian besar dari bakteri *E. coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bakri, 2015).

Obat untuk mengatasi infeksi bakteri adalah antibiotik. Penggunaan yang berlebihan pada antibiotik dapat menyebabkan munculnya bakteri yang resisten. Sehingga, manfaat dari obat akan berkurang. Bakteri-bakteri yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi masalah kesehatan yang sangat besar. Pada penelitian di berbagai rumah sakit ditemukan sebanyak 30%-80% penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi. Infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik akan menyebabkan meningkatnya angka kesakitan dan angka kematian. Untuk mengurangi resistensi, pemilihan antibiotik harus berdasarkan informasi spektrum bakteri penyebab infeksi dan pola kepekaan terhadap antibiotik (Nurmala *et al.*, 2015).

Adanya infeksi bakteri *E. coli* pada penelitian ini digunakan Ekstrak Akar *U. cordata* dengan pelarut etil asetat sebagai bahan alami yang akan menjadi antibakteri alami untuk *E. coli*. Diketahui bahwa akar *U. cordata* ini mengandung beberapa senyawa yaitu fenolik, flavonoid, dan terpenoid.

Maka dari itu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari akar *U. cordata* terhadap bakteri *E. coli*. Pada penelitian ini digunakan pelarut etil asetat karena bersifat semipolar dan mampu menarik senyawa – senyawa yang bersifat semipolar sampai non polar untuk menarik senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram yang menggunakan zona hambat sebagai pengukur potensi antibakteri.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 14 Desember 2019 sampai 10 Januari 2020 di Laboratorium Mikrobiologi D3 Analisis Kesehatan STIKes Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.

#### **4.2. Alat Penelitian**

Penelitian ini menggunakan alat antara lain mesin penggiling (blender), timbangan analitik, pengayak, oven, gelas ukur, desikator, cawan porselen, penyaring, pipet tetes, batang pengaduk, sudip, erlenmeyer, *beaker glass*, *rotary evaporator*, autoklaf, inkubator, micropipet, kertas saring, tabung reaksi, bunsen, hot plate, pipet volume, kawat ose, penjepit dan cawan petri.

#### **4.3. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akar *U. cordata*, bakteri *E. coli*, pelarut etil asetat dan *nutrient agar* (NA).

#### **4.4. Metode Penelitian**

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilkan melalui proses sterilisasi yaitu dengan cara sterilisasi kering dan sterilisasi basah. Alat dan bahan yang akan disterilkan antara lain yaitu cawan petri, penjepit, erlenmeyer, spatula, (NA) dan alat serta bahan lain yang akan digunakan pada sterilisasi di autoklaf.

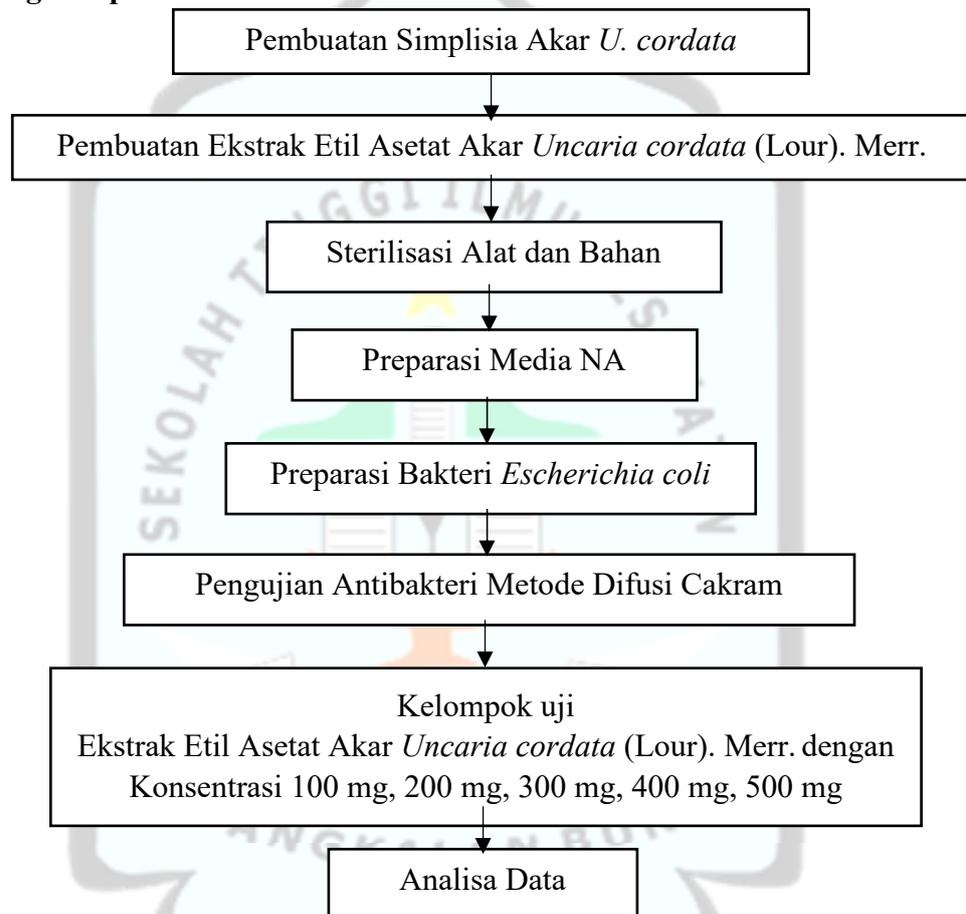
Proses pengeringan dengan cara kering angin tanpa terkena matahari, sotasi kering dilakukan untuk memisahkan kotoran bahan organik asing dan simplisia yang rusak akibat proses sebelumnya, kemudian pencucian dilakukan jika dianggap masih kotor dan dilakukan pengeringan kembali, penyerbukan dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu.

Penelitian ini bersifat eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa dalam Ekstrak etil asetat akar *U. cordata* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* secara *in vitro* dengan metode difusi cakram yang

ditunjukkan dengan zona hambat. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan satu perlakuan yakni kelompok uji yaitu Ekstrak etil asetat. Dalam penelitian ini juga dilakukan melalui beberapa tahap yaitu:

- a. Persiapan simplisia
- b. Penarikan komponen senyawa (ekstraksi bertingkat)
- c. Pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram

#### 4.5. Kerangka Operasional



Gambar 4.1. Kerangka Kerja (*Frame Work*)

## 4.6. Prosedur Kerja

### 4.6.1. Preparasi Simplisia

Sampel yang akan diteliti adalah akar *U. cordata*. Terlebih dahulu sampel dicuci dengan air hingga bersih kemudian dipotong kecil - kecil dan dilakukan pengeringan pada suhu 40°C dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Kemudian, setelah kering dihaluskan dengan mesin penggilingan, sehingga diperoleh serbuk halus. Selanjutnya diayak menggunakan *Shieve Shaker* dengan derajat kehalusan tertentu atau dengan penyaring (Depkes RI, 2014).

### 4.6.2. Proses Ekstraksi Bahan Uji dengan Pelarut Etil Asetat

Menurut Ngazizah *et al.*, (2016) dan Yudiati *et al.*, (2011), ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat, metode yang digunakan dalam pembuatan ekstrak tumbuhan *U. cordata* adalah metode maserasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat, dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:3 (200 gram serbuk *U. cordata* : 674 ml pelarut). Serbuk kering *U. cordata* direndam dengan pelarut n-heksan dimasukkan ke dalam botol kaca bertutup, dan dibiarkan pada suhu kamar selama 2 x 3 hari, sambil di homogenkan setiap hari kemudian disaring, dipisahkan maserat dengan ampas . Hasil penyaringan dikumpulkan menjadi satu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer sedangkan ampas *U. cordata* dikeringkan sampai tidak berbau n-heksan. Masing-masing maserat dievaporasi pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasar n-heksana. Sedangkan ampasnya direndam kembali dengan etil asetat selama 2 x 3 hari, sambil di homogenkan setiap hari kemudian disaring. Ampas hasil maserasi etil asetat dikeringkan. Ekstrak yang dihasilkan dipisahkan dengan pelarut dengan cara diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai dihasilkan ekstrak kental.

Menurut Liswandari 2018 pada penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Alga Hijau (*Ulva sp.*) Dari Pantai Sorido Biak Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak terkecil yaitu 100 ppm sudah mampu menghambat *E. coli* dan Ekstrak yang paling efektif untuk

menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 250 ppm. Pada penelitian ini peneliti menggunakan konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm dengan 3 kali pengulangan.

#### 4.6.3. Preparasi Media

Media yang digunakan sebagai pertumbuhan *E. coli* yaitu media NA. Media dibuat dengan melarutkan bahan NA sebanyak 28 gram ke dalam 1 liter aquadest dan dipanaskan sampai larut. Setelah larut, dituang ke labu erlenmeyer, disumbat dengan kapas dan ditutup dengan aluminium foil kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan dituang ke dalam cawan petri. Jumlah media NA yang dibuat sebagai pertumbuhan *E. coli* sebanyak 250 ml, sehingga digunakan bahan NA sebanyak 7 gram (Astiani *et al.*, 2014).

#### 4.6.4. Preparasi Bakteri (Rahayu dan Gumilar, 2017)

Pada proses peremajaan bakteri *E. coli* yang berasal dari biakan murni disuspensikan dalam NaCl 10 ml fisiologis steril selama 2 jam. Kemudian diambil sebanyak 1 ml dan masukkan pada cawan petri yang berisi media NA aduk perlahan dengan memutar cawan petri hingga homogen kemudian dibekukan dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Ambil bakteri dari hasil peremajaan menggunakan jarum ose steril dan dari tabung 3 larutan diambil dengan *cotton bud* steril, putar *cotton bud* steril dan tekan dengan kuat ke dinding tabung untuk menghilangkan kelebihan cairan, lalu oles inokulum ke seluruh permukaan media NA dengan memutar cawan 60° sebanyak 3 kali. Lalu oleskan ke sekeliling pinggiran agar dan biarkan mengering dengan cawan tertutup.

#### 4.6.5 Pengujian Difusi Cakram.

Proses pengujian antibakteri untuk metode difusi cakram menurut Mujipradhana (2018) sebagai berikut:

- a. Menyiapkan vial yang telah berisi larutan uji dengan beberapa konsentrasi

- b. Menyiapkan preparasi bakteri dalam media cair dengan volume total kurang dari 100 ml.
- c. Bakteri yang telah dipreparasi diambil dengan cara mencelupkan kapas lidi steril satu kali, lalu diletakkan pada tepi tabung reaksi, kemudian kapas lidi steril tersebut diputar agar bakteri yang akan dioleskan tidak terlalu banyak. Setelah itu dioleskan pada NA dan diratakan.
- d. Media NA yang telah dioleskan bakteri *E. coli* dibiarkan dahulu 5 menit sampai mengering. Kertas saring dengan diameter 6 mm sebanyak 3 buah yang telah ditetesi sampel uji 1 buah kemudian diletakkan pada media pembedihan dengan jarak tiap cakram 3 cm dan dari tepi lempeng sebesar 2 cm. Kertas saring ditekan lembut dengan menggunakan pinset pada permukaan lempengan sehingga terdapat kontak yang baik antara disk lempengan agar. Jarak diatur sedemikian rupa sehingga satu disk dengan disk lainnya berjauhan.
- e. Selanjutnya semua media NA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- f. Pengujian senyawa antibakteri dilakukan dengan pengamatan yang dilakukan setiap 24 jam dengan melihat adanya zona jernih disekitar kertas saring. Zona hambatan yang terbentuk diukur dengan penggaris dalam satuan millimeter dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

#### 4.7. Analisis Data

Analisis data diolah menggunakan Uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. Statistik *Kruskal Wallis* adalah salah satu peralatan statistika non-parametrik dalam kelompok prosedur untuk sampel independen. Prosedur ini digunakan ketika kita ingin membandingkan dua variabel yang diukur dari sampel yang tidak sama (bebas), dimana kelompok yang diperbandingkan lebih dari dua. Dalam statistika parametrik ketika kelompok yang ingin diperbandingkan lebih dari dua, dapat digunakan analisis varians (ANOVA). Sebaliknya pada statistik nonparametrik, alternatifnya diantaranya adalah analisis varians satu arah berdasarkan peringkat *Kruskal-Wallis* (Junaidi, 2015).

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Gambaran Lokasi Penelitian

Penelitian ini menggunakan Akar Bajakah yaitu *U. cordata* yang berasal dari Desa Bakonsu Kabupaten Lamandau yang diambil pada tanggal 27 Januari 2020. Selanjutnya, Akar bajakah dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi di Stikes Borneo Cendekia Medika untuk dilakukan penelitian. Penelitian ini berlangsung selama 1 bulan dari tanggal 27 Januari 2020 sampai 27 Februari 2020.

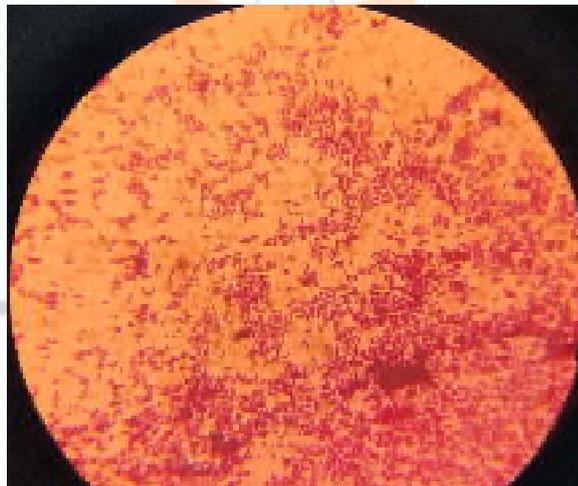
#### 5.2. Hasil Penelitian

##### 5.2.1. Simplisia Akar *Sphatolobus littoralis* Hassk.

Pada penelitian ini digunakan akar *U. cordata* sebanyak 2 kg. Akar *U. cordata* setelah dilakukan proses pengeringan didapatkan simplisia sebanyak 9 ons.

##### 5.2.2. Identifikasi *Escherichia coli*

Identifikasi Mikroskopis dari koloni yang sudah tumbuh pada media EMB.

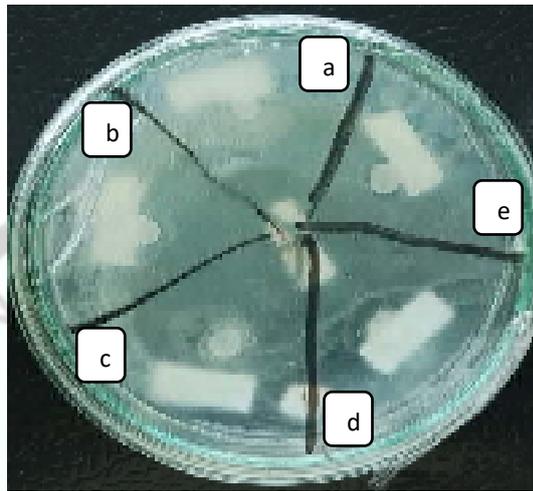


Gambar 5.1. Bakteri *Escherichia coli* Perbesaran 1000x

Pada Gambar 5.1 didapatkan koloni Bakteri *E. coli* yang memiliki ciri *cocobasil* dan merupakan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin (Safrida *et al.*, 2012).

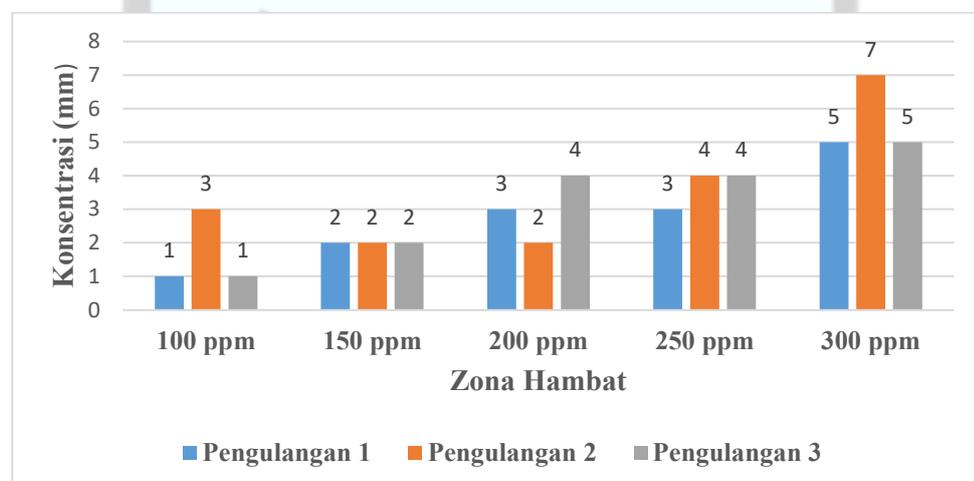
### 5.2.3. Pengujian Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Akar *U. cordata* dengan Metode Difusi Cakram

Hasil uji antibakteri ekstrak etil asetat akar *U. cordata* dapat dilihat dari konsentrasi terkecil hingga terbesar.



Gambar 5.2. Uji Antibakteri Pada Ekstrak Etil Asetat Akar *U. cordata* Pada Bakteri *E. coli*  
a. 100 ppm ; b. 150 ppm ; c. 200 ppm ; d. 250 ppm ; e. 300 ppm.

Pada gambar 5.2. di dapat hasil adanya zona hambat terbentuk dengan ciri – ciri berwarna bening dengan ukuran yang berbeda – beda namun perbedaan zona bening yang terbentuk pada tiap konsentrasi tidak berbeda nyata karna interval konsentrasi yang tidak terlalu jauh. Zona hambat yang ditandai dengan warna bening membuktikan bahwa ekstrak etil asetat memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *E. coli*.



Gambar 5.3. Grafik Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat *U. cordata* Terhadap *E. coli*.

Pada gambar 5.3. didapatkan zona hambat pada masing – masing konsentrasi ekstrak etil asetat *U. cordata* dengan 100 ppm menghasilkan zona hambat dengan rata – rata 1,6 mm, 150 ppm zona hambat dengan rata – rata 2 mm, 200 ppm zona hambat dengan rata – rata 3 mm, 250 ppm menghasilkan rata – rata zona hambat 3,6 mm dan 300 ppm dengan zona hambat 5,6 mm.

## 5.2.PEMBAHASAN

Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit Diare. Diare merupakan masalah kesehatan masyarakat karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi. Masalah diare sering terjadi pada masyarakat, pada tingkatan umur yang berbeda dan prevelensi yang sangat tinggi. Saat ini dalam pengobatan bakteri digunakan antibiotik, sehingga dapat menyebabkan resistensi. Oleh sebab itu digunakan obat herbal untuk alternatif pengobatan anti bakteri menggunakan *U. cordata*. Tanaman *U. cordata* didapatkan di Desa Bakonsu Kabupaten Lamandau Karena tanaman ini tidak dapat dibudidayakan karena kandungannya akan berbeda dengan yang tumbuh di habitat aslinya. Tumbuhan *U. cordata* hidup di asli Malay, Peninsula, Sumatra, Borneo, dan Philippines (Erwin, 2020).

Peneliti melakukan penanaman *E. coli* pada media EMB yang diisolasi dari feses segar pengambilan *E. coli* dari feses karena sebagian besar dari bakteri *E.coli* berada dalam saluran pencernaan hewan maupun manusia dan merupakan flora normal. Namun, ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bakri, 2015). Hasil positif *E. coli* yang ditandai dengan mengkilap hijau dan merupakan bakteri gram negatif yang ditandai dengan bakteri berwarna merah muda (Safrida *et al.*, 2012). Selanjutnya, bakteri diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Untuk uji makroskopis dilakukan dengan pengamatan secara visual pada media agar. Hasil pengamatan *E. coli* secara mikroskop dapat dilihat pada Gambar 5.1. berwarna merah muda dan berbentuk batang pendek *cocobasil* dengan perbesaran mikroskop 1000x. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet, sedangkan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah muda

yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri menggunakan *U. cordata* pada penelitian sebelumnya berpotensi sebagai antibakteri karena menurut Abdullah *et al.*, (2016) akar *U. cordata* positif mengandung senyawa metabolit sekunder terdiri dari fenolik dan flavonoid. Selain itu hasil penelitian Rahmawati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Senyawa yang diperoleh dari isolasi *U. cordata* merupakan golongan terpenoid.

Akar *U. cordata* yang digunakan sebagai antibakteri terlebih dahulu diekstraksi. Menggunakan akar *U. cordata* yang diketahui mengandung senyawa yaitu flavonoid, fenolik, dan terpenoid. Sedangkan untuk bagian *U. cordata* yang lain belum ada penelitian terkait. Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan masa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam larutan tersebut (Rustina, 2016). Tahapan ekstraksi dimulai dari proses pengeringan untuk mengurangi kadar air yang ada dalam tumbuhan *U. cordata* bertujuan menghindari dari bakteri dan jamur penyortiran simplisia untuk menghilangkan kotoran atau benda asing pada simplisia. Simplisia yang telah bersih diserbuk halus menggunakan blender untuk memperkecil ukuran simplisia sehingga lebih mudah diekstraksi (Sari *et al.*, 2017). Serbuk akar *U. cordata* kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Metode ini dapat menghindari kerusakan senyawa yang bersifat termolabil, sifat termolabil adalah sifat yang dipengaruhi suhu (Mukhriani, 2014). Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana (Pratiwi, 2010).

Metode maserasi dilakukan secara bertingkat menggunakan 2 jenis pelarut yaitu n-heksan dan etil asetat. Diharapkan pada metode maserasi bertingkat mendapatkan hasil ekstrak cair yang berkualitas dibandingkan metode maserasi tidak bertingkat. Karena metode maserasi bertingkat senyawa

kimia golongan lain selain flavonoid dapat terdistribusi berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan (Permadi *et al.*, 2018). Hasil yang digunakan uji antibakteri dari pelarut etil asetat karena etil asetat yang bersifat semipolar akan menarik senyawa semi polar, polar hingga non polar (Firdiyani, 2015). Senyawa yang bersifat semi polar adalah flavonoid dan fenolik dan senyawa yang bersifat non polar adalah terpenoid (Fitriah *et al.*, 2017)

Ekstrak etil asetat *U. cordata* selanjutnya diuji aktivitas antibakteri untuk menentukan kadar terendah dari suatu bahan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu cara untuk mengukur aktivitas antibakteri adalah dengan metode difusi cakram, dimana metode ini memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah dan murah karena tidak memiliki alat khusus (Katrin *et al.*, 2015). Metode ini menggunakan kertas cakram yang direndam ekstrak etil asetat *U. cordata* selanjutnya ditempatkan pada permukaan media EMB yang sebelumnya diinokulasi bakteri *E. coli* diinkubasi dengan waktu 24 jam dan suhu 37°C. Menurut Rengganingtyas (2017) pemeriksaan dengan waktu lebih dari 24 jam dinilai kurang efektif karena bakteri tersebut akan berkembang dengan cepat maka dalam waktu lebih dari 24 jam akan memperbanyak jumlah bakteri dan akan menutup zona bening yang ada. Pada suhu lebih dari 37°C di nilai kurang efektif untuk pertumbuhan bakteri.

Ekstrak etil asetat *U. cordata* berdifusi ke media EMB dengan menghambat perkecambahan dan pertumbuhan *E. coli*. Ditandai dengan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Mujipradhana, 2018). Daerah yang terlihat tidak ditumbuhi oleh bakteri disebut sebagai daerah hambatan. Zona hambat ini berwarna bening sehingga disebut juga zona bening.

Pada penelitian diketahui aktivitas antibakteri tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram yang telah di rendam dengan ekstrak etil asetat akar *U. cordata*. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etil asetat akar *U. cordata* tersaji pada Gambar 5.5. Konsentrasi ekstrak etil asetat *U. cordata* 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm memiliki zona hambat berturut – turut adalah 1,6 mm, 2 mm, 3 mm, 3,6 mm, 5,6 mm terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Berdasarkan hasil zona hambat

yang terbentuk hasil menunjukkan kategori lemah pada konsentrasi 100 ppm - 250 ppm dan pada konsentrasi 300 ppm hasil kategori sedang dalam menghambat *E. coli*. Hal ini sesuai dengan pendapat Rundengan *et al*, (2017) bahwa zona hambat >20 mm dimasukkan ke dalam respon hambat sangat kuat, zona hambat 11-20 mm dimasukkan ke dalam respon hambat kuat, zona hambat 5-10 mm dimasukkan ke dalam respon hambat sedang, dan zona hambat <5 mm dimasukkan dalam respon hambat lemah. Lebar daerah hambatan ini tergantung pada daya resap bahan antibakteri ke dalam media agar dan kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri tersebut (Misnadiarly dan Djajaningrat, 2014). Karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat akar *U. cordata*, maka semakin tinggi pula rerata zona hambat yang terbentuk (Fitriah, 2017).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menurut Zeniusa *et al*. (2019), yaitu kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, dan sebaliknya jika suspensi lebih keruh diameter zona hambat akan semakin kecil. Namun, pada penelitian ini pengukuran makroskopis kekeruhan dilakukan hanya secara visual karena keterbatasan alat. Pada penelitian ini hasil dari simplisia kurang halus masih berupa serabut - serabut besar sehingga ketika direndam dengan pelarut etil asetat tidak banyak senyawa yang ditarik oleh pelarut ditunjukkan dengan hasil rendaman selama 3 hari dengan warna hijau bening. Setelah di evaporator mendapat ekstrak kental sedikit. Karena senyawa yang di tarik oleh pelarut semi polar maka ekstrak etil asetat *U. cordata* tidak terlalu homogen dengan aquades ketika sudah dihomogenkan. Hal ini menjadi faktor kekurangan dari penelitian karena tidak menggunakan DMSO untuk membantu ekstrak etil asetat *U. cordata* larut..

Adanya zona hambat ekstrak Etil asetat *U. cordata* terhadap bakteri sejalan dengan penelitian Penelitian sebelumnya yang dilakukan Noorlaili *et al.*, (2019) tentang uji antibakteri *S. littoralis* terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan metode ekstraksi dengan pelarut etanol 70% melalui metode

sumuran. Dihasilkan ekstraksi etanol memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum 25% dan 100%.

Terbentuknya zona hambat pada uji antibakteri ekstrak *U. cordata* terhadap *E. coli* karena senyawa yang terkandung dalam akar *U. cordata* positif mengandung senyawa metabolit sekunder terdiri menurut Abdullah *et al.*, (2016) akar *U. cordata* positif mengandung senyawa metabolit sekunder terdiri dari fenolik dan flavonoid. Selain itu hasil penelitian Rahmawati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Senyawa yang diperoleh dari isolasi *U. cordata* merupakan golongan terpenoid.

Menurut Rijayanti (2014) mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis.

Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri (Rahman *et al.*, 2017).

Berdasarkan uji statistik penelitian ini menggunakan uji alternatif yaitu uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. Statistik *Kruskal Wallis* adalah salah satu peralatan statistika non-parametrik dalam kelompok prosedur untuk sampel independen. Prosedur ini digunakan ketika kita ingin membandingkan dua variabel yang diukur dari sampel yang tidak sama (bebas), dimana kelompok yang diperbandingkan lebih dari dua. Dalam statistika parametrik ketika kelompok yang ingin diperbandingkan lebih dari dua, dapat digunakan analisis varians (ANOVA). Sebaliknya pada statistik nonparametrik, alternatifnya diantaranya adalah analisis varians satu arah berdasarkan peringkat *Kruskal-Wallis* (Junaidi, 2015). Pada uji statistik *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai

$p=0,026$  ( $p<0,05$ ) yang artinya menerima  $H_1$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat *U. cordata* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat pada kelompok perlakuan yang berbeda-beda sesuai konsentrasi ekstrak etil asetat *U. cordata*.



## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil data aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat pada *U. cordata* terhadap bakteri *E. coli* dengan metode difusi cakram ditinjau dari diameter zona hambat didapatkan hasil pada konsentrasi 100 ppm adalah 1,6 mm, 150 ppm adalah 2 mm, 200 ppm adalah 3 mm, 250 ppm adalah 3,6 mm dan 300 ppm adalah 5,6 mm. Data tersebut menunjukkan bahwa akar *U. cordata* pada konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dikategori lemah dalam menghambat bakteri *E. coli* dan 300 ppm kategori sedang dalam menghambat bakteri *E. coli*.

#### **6.2. Saran .**

##### **6.2.1. Bagi Peneliti Selanjutnya**

Melalui penelitian ini diharapkan bagi peneliti selanjutnya dapat mengembangkan penelitiannya dengan akar *U. cordata*. Menggunakan berbagai jenis metode ekstraksi dan uji terhadap hewan uji.

##### **6.2.2. Bagi Institusi (Dosen dan Mahasiswa)**

Dapat dijadikan sebagai literatur untuk melakukan penelitian dan pengabdian masyarakat melalui penyuluhan tentang manfaat dari Akar *U. cordata* terhadap *E. coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N. H., F. Salim dan R. Ahmad. 2016. *Molecules*. 21 (5): 525.
- Astiani, D. P., J. Afghani dan A. Savante. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri *Eucalyptus pellita* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 3 (3): 49-53.
- Azura, S. L., Sutri, Reni, dan Iriany. 2015. Pembuatan Etil Asetat Dari Hasil Hidrolisi, Fermentasi Dan Esterefikasi Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Teknik Kimia*. 4 (1).
- Bakri, Z., M. Hatta dan M. N. Massi. 2015. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan PCR. *JST Kesehatan*. 5 (2) : 184 – 192.
- Basuki, A. T. 2017. *Bahan Ajar Statistika*. Universitas Muhammadiyah. Yogyakarta.
- [Brooks](#), G., K. C. Carroll., J. Butel., dan [S. Morse](#). 2012. *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology*, 26th edition. The McGraw-Hill Companies. New York.
- Depkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia*, Edisi ke-5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Ersita dan Kardewi. 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Fraksi Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 3 (2) : 96-107.
- Erwin. 2020. Review Kandungan Metabolit Sekunder beberapa tumbuhan uncaria yang terdapat di Kalimantan Timur. *Jurnal Atomik*. 05 (1): 18-24.
- Fauzi, Muhammad. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkok (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap *Shigella flexneri* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Tanjung Pura.
- Febrianasari, Florensia. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Firdiyani, F., T. W. Agustini dan W. F. Ma'ruf. 2015. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar Dengan Pelarut yang Berbeda. *PHPI*. 18 (1).
- Fitriah, Mappiratu dan Prismawiryanti. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *Jurnal Riset Kimia Kovalen*. 3 (3) : 242-251.
- Haryati, N. A., S. Chairul dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* W.)

- Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 13 (1) : 35-40.
- Ikrom, D., A. T. R. Reni, W. A. Bintang, P. B. Rafika dan T. N. Wasito. 2014. Studi In Vitro Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sain Veteriner*. 32 (1) : 105-116.
- Ilaiyaraja, N. K. R. Likhith., G. R. S. Babu. dan F. Khanum. 2015. Optimisation Of Extraction Of Bioactive Compounds From *Feronia Limonia* (Wood Apple) Fruit Using Response Surface Methodology (RSM). *Food Chemistry*. 173 : 348–354.
- Junaidi. 2015. Statistik Uji *Kruskal-Wallis*. *Skripsi*. Universitas Jambi
- Katrin, D., N. Idiawati., B. Sitorus. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea gracieae Vidal*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *JKK*. 4 (1) : 7-12.
- Leba, M. A. U. 2017. *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Deepublish. Yogyakarta.
- Liswandari, M. S., D. Lantang dan S. Dirgantara. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Alga Hijau (*Ulva Sp.*) Dari Pantai Sorido Biak Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacy Medical Journal*. 1 (1).
- Misnadiarly dan Djajaningrat, Husjain. 2014. *Mikrobiologi untuk Klinik dan Laboratorium*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Mokoginta, E. P., M. R. J. Runtuwene dan F. Wehantouw. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria Giseke*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 2 (4) : 2302-2493.
- Mujipradhana, V. N., D. S. Wewengkang dan E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba Dari Ekstraksi Ascidian *Herdmania momus* Pada Mikroba Patogen Manusia. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 7 (3).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2)
- Ngazizah, F. N., N. Ekowati dan A. T. Septiana. 2016. Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella Link*) sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Biosfera*. 33 (3): 126133.
- Noorlaili, M. M. A. Saputera. dan E. Kumalasari. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis Hassk*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi*.
- Nurmala, I. G. N. Virgiandhy, Andriani dan D. F. Liana. 2015. Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 3 (1) : 21-28.

- Ninkaew, S. and P. Chantararothai. 2014. The Genus *Spatholobus* Hassk. (*Leguminosae-Papilionoideae*) in Thailand. *Tropical Natural History*. 14 (2): 87-99.
- Permadi, A., Sutanto., S. Wardatun. Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Secara Kolorimetri. *Jurnal Farmasi*.
- Pratiwi, Endah. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif *Andrographolide* Dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Purwanto, Sigit. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*. 2 (2) : 84-92.
- Putri, N. R. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Buah *Limonia acidissima* L. Terhadap bakteri *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahayu, S. A., Gumilar dan M. Hidayat. 2017. Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 4 (2).
- Rahman, F. A., T. Hariastuti., T. W. Utami. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Jurnal UGM*. 3 (1).
- Rahmawati, Noveri., R. Utami dan Azwendah. 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Sitotoksik Senyawa Murni dari Ekstrak Etil Asetat Daun Tumbuhan Akar Kaik-Kaik *Uncaria cordata* (Lour.) Merr. *Scientia*. 6 (2): 122-126.
- Rengganingtiyas, D. S. 2017. Analisis Waktu Inkubasi Dalam Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. ATCC 25922 Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Gas. *Skripsi*. Universitas Setia Budi.
- Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Tanjung Pura.
- Rundengan, CH., Fatmawali, Hery S. 2017. Uji daya hambat ekstrak etanol biji pinangyaki (*Areca vestiaria*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(1):37-46.
- Rustina. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* Duch. Poir). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Sapara, Olivia dan Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 5 (4) : 11-17.

- Safrida, D. Y., Y. Cut., dan D. N. Cut. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Berpotensi Probiotik Pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.). *Depik*. 1 (3) : 200-203.
- Septiani., Dewi, N. Eko dan I. Wijayanti.2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Journal of Fisheries Science and Technology (JFST)*. 13 (1).
- Saputera, M. M. A., T. W. A. Marpaung. Dan N. Ayuhecaria. 2019. Konsentrasi Hambat Minimum (KMH) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Melalui Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(2) : 167-173
- Sari, Rafika., M. Muhani. dan I. Fajriaty. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharm Sci Res ISSN*. 4 : 3
- Sutiknowati, L. I. 2016. Bioindikator Pencemaran, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. 41 (4).
- Yanling, J., L. Xin dan L. Zhiyuan. 2013. *The Antibacterial Drug Discovery*. Intech. United Kingdom.
- Yudiati, E., S. Sri, S. Sunarsih, dan A. Rani. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp. *Ilmu Kelautan*. 16(4): 187192.
- Zhang, Qian., J.J.Zhao., J.Xu., F.Feng dan W. Qu. 2015. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Uncaria*. *Journal of Ethnopharmacology*. 173: 48-80.
- Zeniusa, Popi., M. R. Ramadhan. S. H. Nasution., N. Karima. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escharichia coli* Secara *In Vitro*. *Majority*. 8(2).

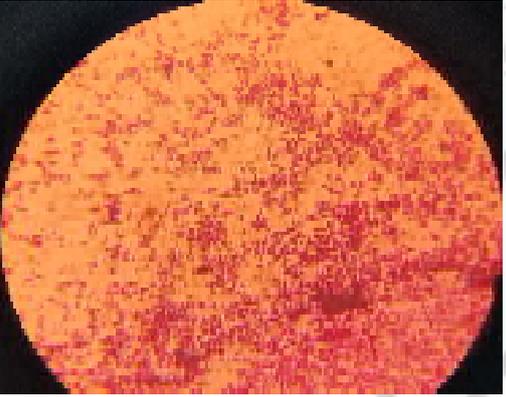
### Lampiran 1 Tahap Penelitian

No	Prosedur Penelitian	Keterangan
1.		Akar <i>U. cordata</i> segar
2.		Akar <i>U. cordata</i> segar di potong – potong kemudian di keringkan dengan kering angin tanpa terkena sinar matahari langsung
3.		Akar <i>U. cordata</i> yang sudah di keringkan kemudian di hancurkan hingga memperoleh bubuk simplisia
4.		Bubuk simplisia dimasukkan ke dalam botol gelap lalu direndam dengan etil asetat selama 4 hari sambil terus dikocok agar homogeny

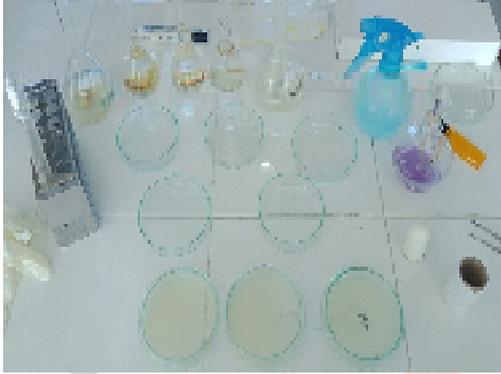
5.		Setelah 4 hari simplisia yang telah direndam dengan etil asetat disaring dan diperoleh ekstrak etil asetat <i>U. cordata</i> .
6.		Ekstrak etil asetat yang telah disaring berwarna hijau muda.
7.		Ekstrak etil asetat yang telah disaring di evaporator dengan suhu 40°C dengan 80 rpm

8.		Diperoleh ekstrak etil asetat <i>U. cordata</i> kental
9.		Ekstrak kental ditimbang sesuai konsentrasi yang di perlukan
10.		Ekstrak ditambahkan aquades 10 ml lalu dihomogenkan dengan labu ukur

11.		Menimbang media EMB
12.		Sterilisasi Media EMB dengan autoclaf suhu 121°C selama 15 menit

13.		Media EMB dimasukan ke dalam cawan petri.
14.		Bakteri <i>E. coli</i> yang telah di isolasi dari feses
15.		Pengamatan mikroskopis <i>E. coli</i> mendapat koloni <i>cocobasil</i> berwarna merah

16.		Menimbang media NA
17.		Media NA dicampur aquades
18.		Media NA setelah disterilisasi dengan autoclave

19.		Media NA dituangkan ke dalam cawan petri
20.		Media NA yang telah diinokulasi dengan <i>E. coli</i>
21.		zona hambat/ zona bening uji ekstrak etil asetat <i>U. cordata</i> terhadap <i>E. coli</i>

## Lampiran 2 Uji Statistik

Hasil Uji Kruskal – Wallis Test

**Hypothesis Test Summary**

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of daya_hambat is the same across categories of konsentrasi.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	,028	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.



### Lampiran 3 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: B-306/IPH.6/KS.02/IX/2020

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Noorhei Alfionita  
 NIM : 163410003  
 Instansi : STIKes Borneo Cendekia Medika  
 Tanggal material diterima : 13 Agustus 2020

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Subclass : Asteridae  
 Order : Rubiales  
 Family : Rubiaceae  
 Genus : Uncaria  
 Species : *Uncaria toadota* (Lour.) Merr.

#### Referensi

1. Backer CA & Boldrinzen van der Brink RC. 1965. Flora of Java Vol II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 300
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII
3. J.J. C.H. van Valkenburg dan Bunyapoprasert. 2002. (ed.) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) : Medicinal and poisonous plants 2 Hal. 569

Dengan surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 1 September 2020

dan Kepala

Kepala Seksi Ekspansi dan Koleksi Tumbuhan

 TT ELEKTRONIK

Rony Irawanto, S.Si, M.T.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSR, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code.