

**ANALISA EKSTRAK ETANOL DAUN BAJAKAH KAIT-KAIT
(*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
MENGUNAKAN METODE KIRBY BAUER**

KARYA TULIS ILMIAH



**MIA IRAWAN
183.41.0008**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
BORNEO CENDEKIA MEDIKA
PANGKALAN BUN
2021**

**ANALISA EKSTRAK ETANOL DAUN BAJAKAH KAIT-KAIT
(*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
MENGUNAKAN METODE KIRBY BAUER**

Karya Tulis Ilmiah
Diajukan Dalam rangka memenuhi persyaratan
Menyelesaikan studi program Diploma III Analis Kesehatan



**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
BORNEO CENDEKIA MEDIKA
PANGKALAN BUN
2021**

INTISARI

ANALISA EKSTRAK ETANOL DAUN BAJAKAH KAIT-KAIT (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* MENGUNAKAN METODE KIRBY BAUER

Oleh : Mia Irawan

Hutan Kalimantan merupakan hutan hujan tropis terluas yang menjadi salah satu tempat dengan keanekaragaman hayati. Dengan keanekaragaman hayati yang sangat besar berpotensi untuk pengembangan dalam bidang kesehatan. Masyarakat Kalimantan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat untuk suatu penyakit salah satunya adalah akar kait-kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.). Tumbuhan ini memiliki senyawa alkaloid indol, triterpen, flavonoid dan fenilpropanoid berperan sebagai antibakteri. Pada penelitian ini dilakukan uji antibakteri menggunakan metode Kirby Bauer untuk menentukan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Bakteri yang diuji adalah *E. coli*. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang dapat menyebabkan diare ringan. Ekstrak yang diuji pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun *U. acida* dengan perlakuan 5 variasi konsentrasi (5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml dan 50 mg/ml). Hasil rata-rata zona hambat ekstrak etanol daun *U. acida* dalam konsentrasi 5 mg/ml yaitu 8,1 mm dalam kategori lemah, konsentrasi 15 mg/ml yaitu 8,3 mm dalam kategori lemah, konsentrasi 30 mg/ml yaitu 9,1 mm dalam kategori lemah, 40 mg/ml yaitu 9,2 mm dalam kategori lemah dan 50 mg/ml dalam kategori sedang. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*, dengan signifikansi ($\alpha > 0.05$) yang berarti bahwa data zona hambat pada uji pertumbuhan bakteri *E. coli* pada ke 5 konsentrasi tersebut berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *E. coli*.

Kata kunci : *Uncaria acida* (Hunt.) Roxb, *Escherichia coli*, metode Kirby Bauer

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE ETHANOL EXTRACT OF THE CLOTHING LEAVES (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) ON *Escherichia coli* BACTERIA USING BAUER KIRBY METHOD

By: Mia Irawan

Kalimantan forest is the largest tropical rain forest which is one of the places with biodiversity. With a very large biodiversity has the potential for development in the health sector. The people of Kalimantan use plants as medicine for a disease, one of which is the root of hooks (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.). This plant has indole alkaloid compounds, triterpenes, flavonoids and phenylpropanoids that act as antibacterials. In this study, an antibacterial test was carried out using the Kirby Bauer method to determine the antibacterial activity which is indicated by the formation of an inhibition zone around the disc paper. The bacteria tested were *E. coli*. *E. coli* is a gram-negative rod-shaped bacteria that can cause mild diarrhea. The extract tested in this study was the ethanol extract of *U. acida* with 5 variations of concentration treatment (5 mg / ml, 15 mg / ml, 30 mg / ml, 40 mg / ml and 50 mg / ml). The average yield of the inhibition zone of the ethanol extract of *U. acida* leaves in a concentration of 5 mg / ml is 8.1 mm in the weak category, the concentration of 15 mg / ml is 8.3 mm in the weak category, the concentration of 30 mg / ml is 9.1 mm in the weak category, 40 mg / ml that is 9.2 mm in the weak category and 50 mg / ml in the moderate category. This study is an experimental study and analyzed using the One Way ANOVA test, with significance ($\alpha > 0.05$), which means that the inhibition zone data on the *E. coli* bacterial growth test at these 5 concentrations have an effect on the inhibition zone of *E. coli* bacteria.

Keywords : *Uncaria acida* (Hunt.) Roxb, *Escherichia coli*, Kirby Bauer method

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul KTI : Analisa Ekstrak Etanol Daun Bajakah Kait-Kait
(*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) Terhadap Bakteri
Escherichia coli Menggunakan Metode Kirby Bauer


Nama Mahasiswa : Mia Irawan

NIM : 183410008

Program Studi : D-III Analis Kesehatan

Menyetujui
Komisi Pembimbing

Febri Nur Ngazizah, S.pd., M.Si
NIDN : 1108029102
Pembimbing Utama


Riky, S.Si., M.Si
NIDN : 115019004
Pembimbing Anggota

LEMBAR PENGESAHAN KTI

Analisa Ekstrak Etanol Daun Bajakah Kait-Kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.)
Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby Bauer
Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Mencapai Gelar
Ahli Madya Analis Kesehatan

Disusun Oleh
Mia Irawan

Komisi Penguji

Penguji Utama

Iqlila Romaidha, S.Si., M.Sc ()
NIDN: 1112039301

Penguji Anggota

1. Febri Nur Ngazizah, S.Pd., M.Si ()
NIDN: 1108029102

2. Riky, S. Si., M.Si ()
NIDN: 115019004

Pangkalan Bun, 08 Februari 2021

Mengetahui,

Ketua STIKes BCM

Ketua Program Studi
D3 Analis Kesehatan

Dr.Ir.Luluk Sulistiyono, M.Si
NIK : 01.04024

Febri Nur Ngazizah, S.Pd., M.Si
NIDN : 1108029102

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mia Irawan
NIM : 183410008
Program Studi : Program Studi D III Analis Kesehatan

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul : “Analisa Ekstrak Etanol Daun Bajakah Kait-Kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby Bauer” adalah bukan Karya Ilmiah orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila tidak benar saya bersedia mendapatkan sanksi.

Pangkalan Bun, 25 Februari 2021

Yang menyatakan

Mia Irawan

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pangkalan Bun pada tanggal 8 Juni 1997 dari seorang Ibu bernama Rosdiana Wati dan seorang Ayah bernama Wawan Irawan. Penulis merupakan putri ketiga dari tiga bersaudara.

Tahun 2009 penulis menyelesaikan pendidikan di SD Negeri 4 Baru Kabupaten Kotawaringin Barat. Tahun 2012 penulis menyelesaikan pendidikan di SMP Negeri 6 Arut Selatan Kabupaten Kotawaringin Barat. Tahun 2015 penulis menyelesaikan pendidikan di SMK Bhakti Indonesia Medika Pangkalan Bun. Tahun 2018 Penulis memilih Progran Studi D-III Analis Kesehatan dari empat pilihan program studi yang ada di STIKES Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.

Pengalaman berorganisasi penulis selama di STIKES Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun ialah menjadi Bendahara Himpunan Mahasiswa (HIMA) D III Analis Kesehatan periode 2019/2020.

Demikian riwayat hidup ini dibuat dengan sebenarnya.

Pangkalan Bun, 25 Februari 2021

Mia Irawan

MOTO HIDUP

Ketika kita tak lagi bisa mengubah situasi, kita ditantang untuk mengubah diri kita.

(Mia Irawan)



KATA PENGANTAR

Puja dan puji syukur kehadiran Allah SWT penulis haturkan atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga Karya tulis ilmiah karya ilmiah yang berjudul “Analisa Ekstrak Etanol Daun Bajakah Kait-Kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby Bauer” dapat selesai tepat pada waktunya.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diajukan sebagai syarat menyelesaikan pendidikan Diploma III Analis Kesehatan. Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis banyak mendapat bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan tulus penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Luluk Sulistiyono, M.Si. Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.
2. Lieni Lestari, SST., M.Tr.Keb. Wakil Ketua 1 Bidang Akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.
3. Rahaju Wiludjeng,SE., MM. Wakil Ketua II Bidang Keuangan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.
4. Febri Nur Ngazizah, S.Pd., M.Si. Ketua Program Studi Diploma III Analis Kesehatan dan Pembimbing utama yang banyak membantu dan memberikan masukan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
5. Riky, S.Si., M.Si. Pembimbing anggota Karya Tulis Ilmiah penulis yang dengan penuh kesabaran dan ketekunan memberikan dorongan, perhatian, bimbingan, pengarahan serta saran positif dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dari awal hingga akhir.
6. Iqlila Romaidha, S.Si.,M.Sc. Penguji utama yang telah banyak memberikan saran dalam pembuatan Karya Tulis Ilmiah.
7. Bapak, Ibu, Kakak dan seluruh keluarga atas cinta, do'a dan dukungan moral dan material yang selalu diberikan sehingga Karya Tulis Ilmiah dapat selesai pada waktunya.

8. Teman-teman Mahasiswa Diploma III Analis Kesehatan, atas dukungan dan do'a yang selalu terpanjatkan untuk penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah sehingga lancar dan dimudahkan tepat pada waktunya.
9. Bapak Wawan mispohatmo dan dr. Widiastuti, M. Si, Med. Sp.PK sebagai pimpinan di Laboratorium Klinik Terra, yang telah mendukung moral yang selalu diberikan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai pada waktunya.
10. Andri Safardi, A.md. AK selaku koordinator di Laboratorium Klinik Terra yang telah memberikan dukungan moral, bimbingan, pengarahan serta saran positif dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai pada waktunya.
11. Teman-teman di Laboratorium Klinik Terra yang telah memberikan dukungan waktu, pengarahan serta saran positif dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai pada waktunya.

Harapan penulis bahwa Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk menambah wawasan dan pengetahuan baru tentang “Analisa Ekstrak Etanol Daun Kait-Kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Kirby Bauer”

Penulis menyadari dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna. Maka saran dan kritik yang membangun penulis terima dengan tangan terbuka demi perbaikan dan penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Pangkalan Bun, 25 Februari 2021

Mia Irawan

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
INTISARI	iii
ABSTRAK	iv
LEMBAR PERSETUJUAN	v
LEMBAR PENGESAHAN KTI	vi
SURAT PERNYATAAN	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.4.1 Manfaat Teoritis	2
1.4.4 Manfaat Praktis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Bajakah Kait-Kait (<i>Uncaria acida</i> (Hunt.) Roxb.).....	4
2.2 <i>Escherichia coli</i>	7
2.3 Teknik Ekstraksi	9
2.4 Uji Anti Mikroba	13
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	15
3.1 Kerangka Konseptual	15
3.2 Hipotesis (Tentatif)	16
BAB IV METODE PENELITIAN	17
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
4.1.1 Waktu Penelitian	17
4.1.2 Tempat Penelitian	17
4.2 Desain Penelitian.....	17
4.3 Kerangka Kerja (<i>Frame Work</i>)	18
4.4 Instrumen Penelitian	19
4.4.1 Alat	19
4.4.2 Bahan	19
4.5 Prosedur Kerja.....	19

4.5.1 Alat- Alat Non Gelas	19
4.5.2 Pembuatan Simplisia	19
4.5.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun <i>U. acida</i>	20
4.5.4 Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak dan Kontrol (perlakuan)	20
4.5.5 Pengulangan Perlakuan	21
4.5.6 Pembuatan Media <i>Nutrien Agar</i> (NA)	21
4.5.7 Medium <i>Nutrient broth</i>	22
4.5.8 Cara Isolasi Bakteri <i>E. coli</i>	22
4.5.9 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>E. coli</i>	23
4.5.10 Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Kirby Bauer	24
4.6 Variabel Penelitian	24
4.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisa	24
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Gambaran Lokasi Penelitian dan Pengambilan Sampel	28
5.2 Hasil Penelitian	28
5.2.1 Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	28
5.2.2 Data Penelitian	28
5.3 Pembahasan	30
BAB VI PENUTUP	37
6.1 Kesimpulan	37
6.2 Saran	37
6.2.1 Bagi Masyarakat	37
6.2.2 Bagi Peneliti Selanjutnya	37
6.2.3 Bagi Institusi Pendidikan	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	44

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Morfologi tumbuhan <i>Uncaria acida</i> (Hunt.) Roxb.....	5
Gambar 2.2. <i>Escherichia coli</i>	7
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	15
Gambar 4.3 Kerangka Kerja (<i>Research Frame Work</i>)	18
Gambar 5.1 Bakteri <i>Echerichia coli</i> Perbesaran 100×	28
Gambar 5.2 Zona Hambat Pada Uji Pertumbuhan Bakteri <i>Echerichia coli</i>	29
Gambar 5.3 Grafik Zona Hambat Pada Uji Ekstrak Etanol Daun U. <i>acida</i>	29



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.5.1 Klasifikasi Respon Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri	24
--	----



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Tahapan Pembuatan Simplisia <i>U. acida</i>	44
Lampiran 2 Tahapan Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun <i>U. acida</i>	46
Lampiran 3 Tahapan Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun <i>U. acida</i>	47
Lampiran 4 Tahapan Membuat Variasi Konsentrasi	49
Lampiran 5 Tahapan Pembuatan Media NA.....	50
Lampiran 6 Tahapan Uji Antibakteri	51
Lampiran 7 Output Hasil Analisis Data <i>One Way ANOVA</i>	53
Lampiran 8 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan.....	57
Lampiran 9 Kartu Bimbingan	58



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hutan Kalimantan merupakan hutan hujan tropis terluas yang menjadi salah satu tempat dengan keanekaragaman hayati. Dengan keanekaragaman hayati yang sangat besar berpotensi untuk pengembangan dalam bidang kesehatan. Keanekaragaman jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan masyarakat secara empiris sebagai obat. Menurut Zhang *et al.*, (2015) Genus *Uncaria* termasuk *Family* rubiaceae yang banyak hidup dan tersebar di daerah Asia Tenggara. *U. acida* mempunyai batang yang lebih kecil dari jenis *Uncaria* lainnya, mempunyai akar yang dapat merambat lebih dari 4-6 meter, panjang kaitnya 2-3 cm dan akar bajakah inilah yang banyak digunakan masyarakat Dayak sebagai obat.

Bajakah memiliki batang yang tumbuh dengan cara merambat memiliki batang yang kuat dan cukup besar. Bagian tumbuhan bajakah yang banyak digunakan untuk pengobatan dan penelitian adalah bagian batangnya. Belum ada penelitian tentang daun bajakah, daun merupakan organ penting pada tumbuh-tumbuhan. Pada umumnya berbentuk pipih, berwarna hijau dan merupakan tempat utama terjadinya fotosintesis. Daun juga dapat digunakan untuk penelitian atau pengobatan (Setyaningsih, 2019).

Manfaat yang diperoleh dari tumbuhan tergantung dari kandungan senyawa yang dimiliki tumbuhan tersebut. Isolasi senyawa dilakukan dengan mengekstraksi daun *U. acida* dengan etanol, dilanjutkan dengan proses remaserasi. *U. acida* mengandung zat-zat alkaloid indol, triterpen, flavonoid, fenol, fenilpropanoid (Astuti *et al.*, 2014 dan Zhang *et al.*, 2015).

Hasil ekstrak etanol diujikan sebagai anti bakteri dengan metode difusi agar cara Kirby Bauer untuk menentukan aktivitas bakteri dengan ditandai zona hambat terhadap *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, bakteri ini dapat menyebabkan diare ringan, tetapi berbeda seperti *E. coli* tipe

O157:H7 dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia (Sutiknowati, 2016).

Adanya senyawa tersebut dapat diuji sebagai zat antibakteri. Salah satu bakteri *E. coli* biasanya hidup di usus manusia dan hewan. Kebanyakan *E. coli* tidak berbahaya dan sebenarnya merupakan bagian penting dari saluran usus manusia yang sehat. Beberapa *E. coli* bersifat patogen. *E. coli* adalah bakteri gram negatif yang menghuni saluran pencernaan (CDC, 2019).

Menurut survei data yang dilakukan kementerian kesehatan Kalimantan Tengah tahun 2016 angka diare di Kabupaten Kotawaringin Timur dan Kabupaten Gunung Mas dengan jumlah kematian sebanyak 2 orang. Penderita Diare yang berobat dan ditangani di fasilitas pelayanan kesehatan dasar pada tahun 2016 sebanyak 42.988 (78,8%) dari target penemuan penderita. Diare merupakan penyakit yang potensial menimbulkan kejadian luar biasa (KLB). Kejadian diare dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain : faktor lingkungan, gizi, kependudukan, pendidikan, keadaan sosial ekonomi dan perilaku masyarakat (DINKES, 2015).

Dengan latar belakang di atas penulis tertarik untuk penelitian tanaman *U. acida* terhadap bakteri dengan judul analisa ekstrak daun *U. acida* dengan menggunakan pelarut etanol terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis, dapat menambah informasi baru serta menambah acuan bahan ajar tentang analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Bagi Mahasiswa/Mahasiswi

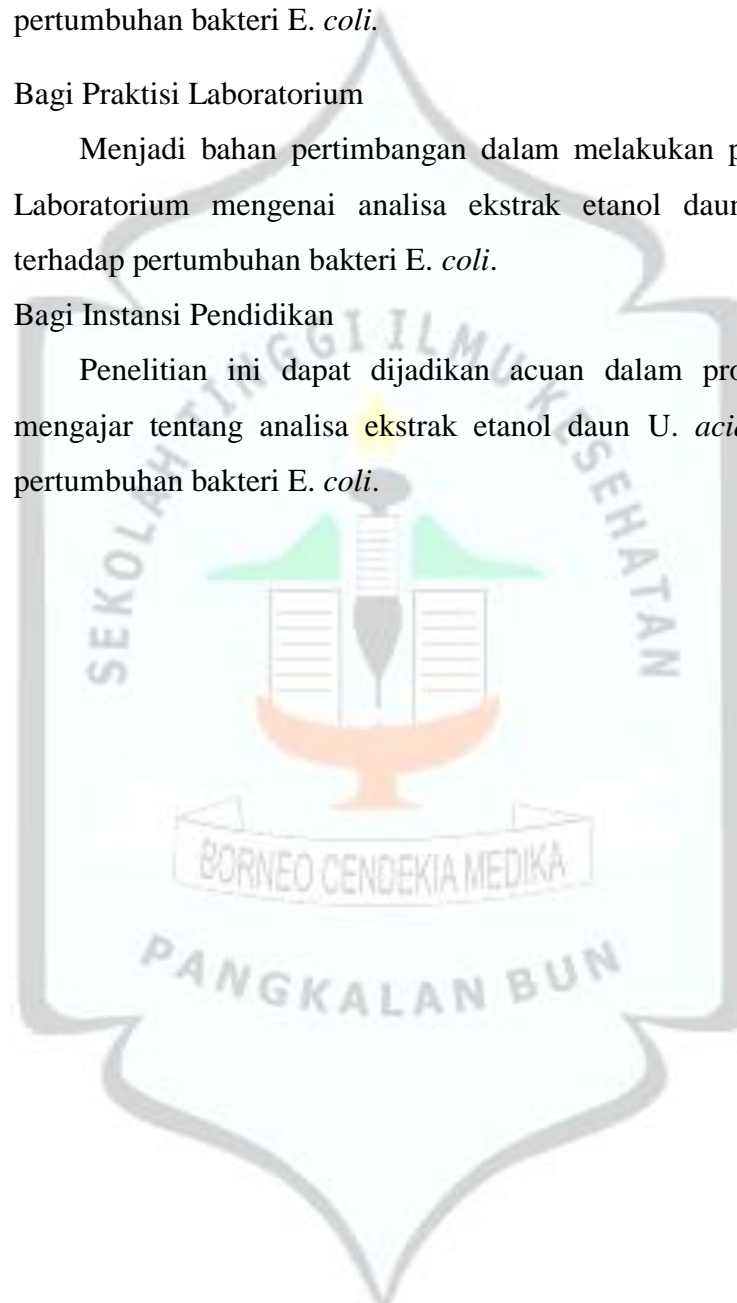
Menambah wawasan baru bagi Mahasiswa untuk memberikan informasi terkait analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

2. Bagi Praktisi Laboratorium

Menjadi bahan pertimbangan dalam melakukan pekerjaan di Laboratorium mengenai analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

3. Bagi Instansi Pendidikan

Penelitian ini dapat dijadikan acuan dalam proses belajar mengajar tentang analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.



BAB II

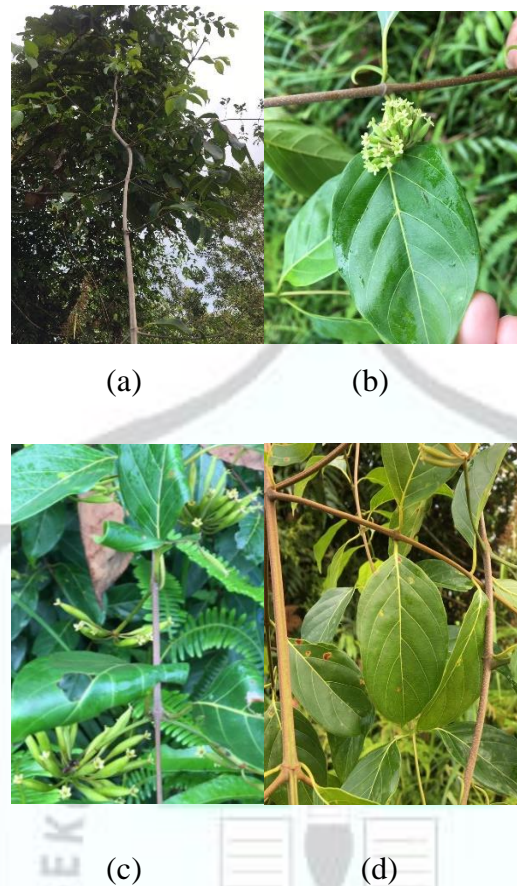
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bajakah Kait-kait (*Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.)

U. acida adalah Genus tumbuhan yang menjalar di pohon kayu yang berasal dari Family Rubiaceae dan mempunyai 34 spesies yang sebagian besar tersebar di wilayah tropis, seperti Asia Tenggara. Sebagai kegunaan obat dari spesies *Uncaria*, banyak penelitian tentang fitokimia dan farmakologi *Uncaria* telah dilakukan. Lebih dari 200 bahan kimia, termasuk alkaloid indol, triterpen, flavonoid dan fenilpropanoid dan lain-lain, telah diisolasi dari genus *Uncaria* (Zhang *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan *Uncaria acida* (Hunt.) Roxb. di LIPI Purwodadi pada tanggal 27 November 2020 diketahui klasifikasinya sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Uncaria</i>
Spesies	: <i>Uncaria acida</i> (Hunt.) Roxb.



Gambar 2.1 Morfologi Tumbuhan *Uncaria acida* (Hunt.) Roxb. a. batang b. daun c. bunga d. tangkai (Dokumen pribadi, 2020)

U. acida mempunyai batang yang lebih kecil dari jenis *Uncaria* lainnya, mempunyai akar yang dapat merambat lebih dari 4-6 meter, panjang kaitnya 2-3 cm dan akar bajakah inilah yang banyak digunakan masyarakat Dayak sebagai obat (Saputra, 2019). Daun *U. acida* berbentuk telur hingga elips dengan ukuran 5-9 cm x 2.5-5 cm. Daun yang tipis hingga sebagian tertutup oleh tekstur kasar, tidak berbulu, memiliki urat-urat halus, stomata ada di permukaan atas, batang berukuran 10-12 mm dan panjang 4-7 mm. Bunga dari *U. acida* memiliki diameter hingga 2 cm dan buahnya lebih dari 5 cm. Tangkainya berukuran panjang 1,5-2 cm. Bunganya bersifat sessile dan berwarna putih (Globinmed, 2020).

Menurut Zhang *et al.*, 2015 penelitian tentang fitokimia yang telah dilakukan mendapatkan lebih dari 200 bahan kimia yang telah diisolasi dari

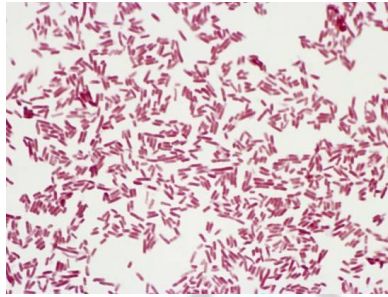
genus *Uncaria* termasuk senyawa alkaloid indol, triterpen, flavonoid dan fenilpropanoid memiliki senyawa aktivitas anti bakteri pada bakteri *E. coli*.

U. acida tumbuh di lahan gambut pedalaman Kalimantan dan memiliki bentuk batang bersulur. Sepintas, *U. acida* hampir mirip dengan tumbuhan lainnya yang berada di hutan Kalimantan sehingga membutuhkan ketelitian dalam mencarinya. *U. acida* tumbuh dengan cara merambat meski batangnya cukup kuat. Tanaman asal Kalimantan ini dapat tumbuh merambat mencapai ketinggian lima meter ke puncak pohon lain yang dirambatinya. Akar bajakah menghujam di dasar aliran air lahan gambut. Tanaman bajakah hanya hidup di lokasi rimbun dimana sinar matahari tertutup rimbunnya hutan (GDM, 2019).

Penelitian Dia *et al.*, (2015) menunjukan senyawa-senyawa yang diketahui berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri antara lain alkaloid, triterpen dan flavonoid.

1. Menurut pendapat Purwaningsih, (2014) mekanisme antibakteri dari senyawa alkaloid berperan untuk mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.
2. Riyanto *et al.*, (2013) dalam Dia *et al.*, (2015) menyatakan bahwa senyawa triterpenoid pada tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangan dan serangan mikroba.
3. Mekanisme antibakteri dari senyawa flavonoid dapat terjadi akibat reaksi antara senyawa lipid dan asam amino dengan gugus alkohol, sehingga dinding sel mengalami kerusakan dan mengakibatkan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Senyawa ini kemudian akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri. Akibat perbedaan kepolaran antara lipid dan penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan terjadi reaksi sehingga struktur lipid dari DNA bakteri sebagai inti sel bakteri akan mengalami kerusakan dan lisis (Juariah *et al.*, 2020).

2.2 *Escherichia coli*



Gambar 2.2 *Escherichia coli* (ITIS, 2020)

Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli* (ITIS, 2020)

- Kerajaan : Bacteria
- Filum : Proteobacteria
- Kelas : Gammaproteobacteria
- Ordo : Enterobacteriales
- Familia : Enterobacteriaceae
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar $0.6-0.7 \text{ m}^3$. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu $20-40^{\circ}\text{C}$ dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri gram negatif. Bakteri ini hanya bisa dibunuh oleh antibiotik, sinar Ultraviolet (UV), atau suhu tinggi $>100^{\circ}\text{C}$ (Sutiknowati, 2016).

E. coli adalah bakteri yang biasanya merupakan bagian penting dari saluran usus sehat manusia dan hewan. Akan tetapi, ada beberapa jenis *E. coli* yang berbahaya dan dapat menyebabkan penyakit. Jenis infeksi *E. coli* yang paling umum yang menyebabkan penyakit pada orang adalah *E. coli* O157, yang menghasilkan racun yang dikenal sebagai Shiga-toksin. Shiga-toksin yang memproduksi *E. coli* disingkat STEC. Gejala infeksi kuman ini termasuk diare berair atau berdarah, demam, kram perut, mual dan muntah. Anak kecil lebih rentan mengalami masalah parah dengan *E. coli* O157, termasuk gagal ginjal dan

bahkan dapat meninggal akibat infeksi *E. coli* O157. Hewan yang dapat menyebarkan *E. coli* O157 ke manusia melalui perantara : sapi, kambing, domba, rusa. *E. coli* O157 secara alami ditemukan di saluran usus banyak hewan ternak, termasuk sapi, domba dan kambing yang sehat. *E. coli* yang dapat menyebabkan diare dapat ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi, atau melalui kontak dengan hewan atau manusia (CDC, 2019).

E. coli O157:H7 adalah penyebab penting *foodborne disease* di banyak Negara. Infeksi pada manusia oleh bakteri *E. coli* O157:H7 sering dihubungkan dengan konsumsi daging sapi yang kurang matang dan susu mentah. Jumlah kasus infeksi ini yang dihubungkan dengan mengonsumsi buah, sayuran dan air yang tercemar feses sapi (Rananda *et al.*, 2016).

Bakteri *E. coli* tidak mampu mengonsumsi karbohidrat rantai panjang dan juga tidak dapat melakukan fotosintesis. Bakteri *E. coli* membutuhkan nutrisi yang tidak jauh berbeda dengan nutrisi manusia, yaitu gula, protein, dan lemak. *E. coli* memiliki kemampuan lebih karena dapat mencerna asam organik (asetat) dan garam anorganik (amonium sulfat) sebagai sumber nutrisi karbon dan nitrogen. Bakteri *E. coli* juga merupakan makhluk heterotrof yang tergantung pada molekul-molekul organik sederhana seperti gula, protein, dan asam organik (Sutiknowati, 2016).

Sebelum dilakukan uji antimikroba, terlebih dahulu disiapkan media pertumbuhan mikroba. Salah satu media yang digunakan Media NA (*nutrient agar*) merupakan media yang berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan dan apabila setelah digunakan akan berbentuk padat karena terdapat kandungan agar sebagai pematatnya. Komposisi yang terpenting dalam media ini adalah karbohidrat dan protein yang terdapat pada ekstrak daging dan pepton sesuai dengan kebutuhan sebagian besar bakteri (Thohari *et al.*, 2019).

2.3 Teknik Ekstraksi

Untuk memperoleh manfaat dari tumbuhan, perlu dilakukan proses ekstraksi untuk menarik senyawa yang terkandung dalam tumbuhan. Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan, pemisahan ini dapat terjadi dengan bantuan pelarut sehingga zat terpisah dari komponen lain yang tidak dapat larut dalam pelarutnya (Prayudo *et al.*, 2015).

Sebelum proses ekstraksi biasanya tumbuhan dibuat menjadi simplisia, Endarini (2016) menyatakan, simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat tradisional dan belum mengalami pengolahan atau merupakan bahan yang dikeringkan. Berikut 3 jenis simplisia yaitu :

1. Simplisia nabati yaitu simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tumbuhan. Yang dimaksud dengan eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.
2. Simplisia hewani yaitu simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

Tahap pembuatan simplisia menurut Ningsih (2016) dibagi menjadi pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, dan sortasi kering :

1. Pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Pemanenan daun atau herba dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Untuk pengambilan pucuk daun, dianjurkan pengambilan pada saat warna pucuk daun berubah menjadi daun tua.

2. Sortasi basah adalah pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap : memisahkan tanah dan kerikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan dan bagian tanaman yang rusak (dimakan ulat dan sebagainya).
3. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Dilakukan dengan menggunakan air bersih (standar air minum), bisa menggunakan sumber air sumur atau air PAM.
4. Bahan baku/simplisia berupa daun seringkali harus diubah menjadi bentuk lain, misalnya irisan, potongan untuk memudahkan kegiatan pengeringan dan pengolahan selanjutnya.
5. Prinsip kegiatan sortasi kering sama dengan sortasi basah, tetapi dilakukan terhadap simplisia (bahan yang telah dikeringkan) sebelum dikemas. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering seutuhnya. Kegiatan sortasi kering dilakukan untuk menjamin simplisia benar-benar bebas dari bahan asing.

Menurut Endarini *et al.*, (2016) Teknik ekstraksi yang ideal adalah teknik ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan dan hasil yang diperoleh selalu konsisten jika dilakukan berulang-ulang. Adapun teknik ekstraksi di bagi menjadi dua bagian antara lain :

1. Teknik ekstraksi konvensional

- a. Infusi

Infusi hanya memerlukan waktu yang pendek untuk proses maserasi pada bagian tanaman yang direndam dengan air dingin atau air mendidih. Pemilihan suhu infus tergantung pada ketahanan senyawa bahan aktif yang selanjutnya segera digunakan sebagai obat cair.

- b. Dekoksi

Bagian tanaman yang berupa batang, kulit kayu, cabang, ranting dan akar di rebus dalam air mendidih dengan volume dan waktu tertentu kemudian didinginkan dan di saring untuk memisahkan bagian ekstrak dan ampasnya. Proses ini hanya di sarankan untuk bahan yang dapat

larut dan tahan terhadap panas. Rasio antara massa bagian tanaman dengan volume air biasanya 1:4 atau 1:16.

c. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman bagian tanaman secara utuh atau yang sudah dihaluskan dan di campur pelarut dalam bejana tertutup di suhu kamar selama 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut.

2. Teknik ekstraksi non-konvensional

a. Ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik (*Ultrasound Assisted Extraction/UAE*)

Teknik ekstraksi ini dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20-2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas sel tanaman dan membangkitkan kavitasi. Energi ultrasonik berperan besar dalam menciptakan pencampuran yang efektif, perpindahan energi yang cepat, menurunkan gradien termal dan suhu ekstraksi, sangat selektif dalam mengekstraksi bahan aktif, ukuran peralatan yang kecil, respon yang lebih cepat pada sistem kendali, kapasitas ekstraksi yang bisa diperbesar dan dapat dihilangkannya beberapa tahapan yang tidak perlu.

b. Ekstraksi berbantu enzim (*Enzyme Assisted Extraction/EAE*)

Senyawa-senyawa yang tidak dapat terjangkau dengan pelarut selama ekstraksi dengan teknik konvensional, dapat dilakukan hidrolisis dengan bantuan enzim. Teknik ekstraksi ini pada umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak yang terdapat di dalam berbagai jenis biji-bijian. Teknik ini merupakan teknik yang ramah lingkungan. Faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan ekstraksi dengan teknik ini adalah komposisi dan konsentrasi enzim, ukuran partikel bagian tanaman yang akan diekstraksi, rasio padatan dengan air, waktu hidrolisis, dan kadar air dalam partikel.

c. Ekstraksi berbantu medan listrik berdenyut (*Pulsed-electric Field Extraction/PFE*)

Efektivitas teknik ekstraksi ini sangat tergantung pada kekuatan medan listrik, energi listrik yang digunakan, jumlah denyutan, suhu dan karakteristik bagian tanaman yang diekstraksi. Prinsipnya adalah bahwa denyutan medan listrik akan masuk ke struktur membran sel untuk mempermudah keluarnya bahan aktif dan matriks bagian tanaman. Teknik ini mampu untuk mengurangi terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak tahan panas.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Pendapat Agustini (2018) maserasi adalah proses pengestraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dan pada *temperature* ruang dilakukan pengadukan beberapa kali. Dalam meserasi, serbuk halus dari daun *U. acida* yang dicampurkan dengan pelarut etanol 70% disimpan dalam botol kaca tertutup dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 3 X 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Selanjutnya di remaserasi dengan jumlah pelarut yang sama.

Ekstraksi menggunakan maserasi memiliki beberapa kelebihan, antara lain :

1. Pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan
2. Dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termetabolit karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan
3. Biaya oprasional cukup rendah

Selain itu, maserasi juga mempunyai beberapa kelemahan, seperti prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama dan proses penyaringan tidak sempurna karena hanya mengekstraksi senyawa aktif sebesar 50% dan jumlah pelarut yang digunakan banyak (Na'imah *et al.*, 2020).

Pada ekstraksi dapat digunakan beberapa jenis pelarut. Salah satunya adalah etanol. Pendapat Najib *et al.*, (2018) etanol memiliki beberapa keunggulan diantaranya adalah :

1. Etanol bersifat netral
2. Memiliki daya penyerapan yang baik
3. Panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit
4. Etanol dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak.
5. Dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman
6. Bersifat tidak beracun
7. Dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan

2.4 Uji Anti Mikroba

Menurut (Soleha, 2015) metode pengujian antimikroba dibagi menjadi dua yaitu metode difusi dan metode dilusi. Uji sensitivitas dengan cara difusi merupakan cara yang paling banyak digunakan karena teknis pemeriksaan lebih mudah dilakukan. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah sebagai berikut :

1. Metode difusi agar dibedakan menjadi dua, yaitu :
 - a. Cara Kirby Bauer / kertas cakram

Metode ini dilakukan dengan meletakkan piringan yang berisi anti bakteri agar berdifusi kedalam media agar. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Metode kertas cakram bertujuan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri.

- b. Cara sumuran

Metode ini dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumuran tersebut diberi agen antibakteri yang akan di uji.

2. Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu :

a. Pengenceran serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan beberapa tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambat minimum (KHM).

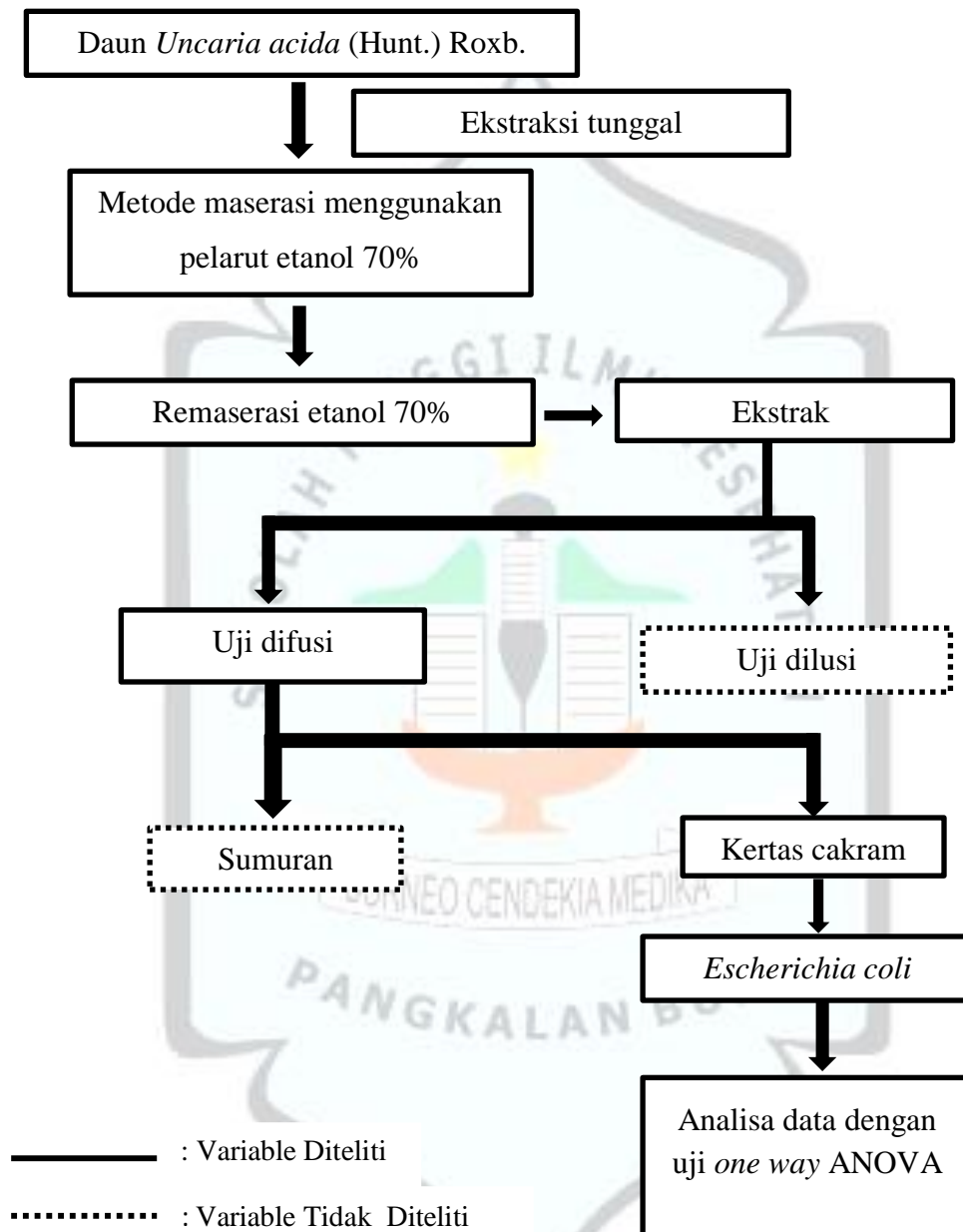
b. Dilusi agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis (Tentatif)

Adanya pengaruh ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar kertas cakram.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

4.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari 15 Oktober – 28 Desember 2020.

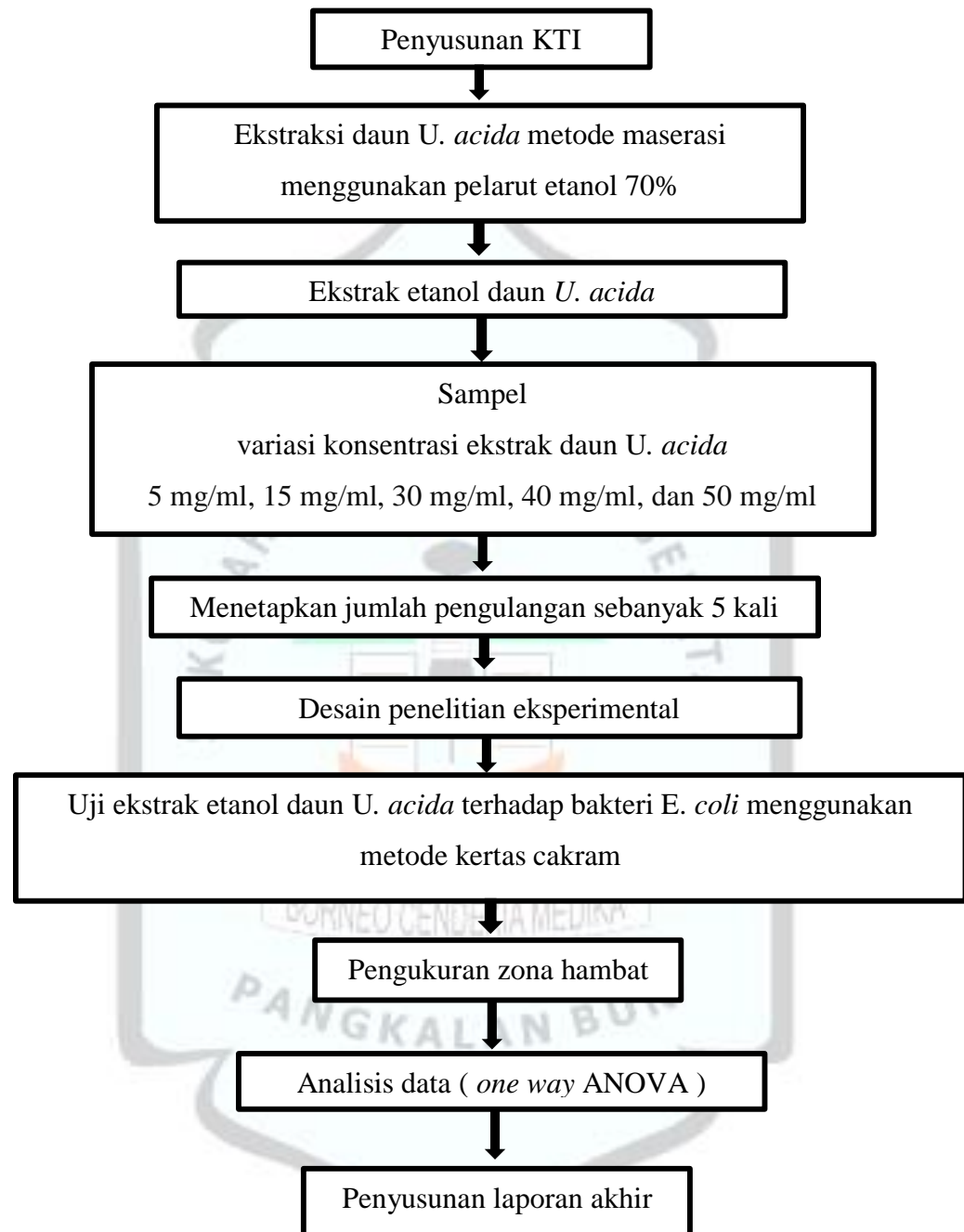
4.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Diploma III Analis Kesehatan STIKes Borneo Cendekia Medika (Jl. Sutan Syahrir No.11 Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat – Kalimantan Tengah).

4.2 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk menganalisa pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan pemberian ekstrak etanol daun *U. acida*.

4.3 Kerangka Kerja (Frame Work)



Gambar 4.3.1 Kerangka Kerja Penelitian (*Research Frame Work*)

4.4 Instrumen Penelitian

4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu *autoclave*, neraca analitik, sendok takar, erlemeyer, botol gelap, mikropipet, *yellow tip*, batang pengaduk, cawan petri, ose, pembakar spirtus dan bunsen, korek, gelas ukur / pipet ukur, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, drugalsky, inkubator dan *rotary evaporator*.

4.4.2 Bahan

Merupakan bahan yang sifatnya habis pakai. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest steril, *aluminium foil*, kapas kering, kertas cakram, media *Eosin Methylene Blue* (EMB), media *Nutrient Broth* (NB), NaCl 0,9 %, *wrapping*, ekstrak daun *U. acida*, biakan murni bakteri *E. coli*, standar McFarland dan pelarut etanol 70 %.

4.5 Prosedur Kerja

4.5.1 Alat-alat non gelas.

Alat-alat non gelas disterilkan terlebih dahulu di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan alat-alat gelas disterilkan di oven suhu 160-170°C selama 2 jam. Jarum ose dibakar dengan api bunsen (Ayuhastuti *et al.*, 2016).

4.5.2 Pembuatan simplisia

Diawali dengan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing dari bahan simplisia. Misalnya simplisia yang dibuat dari akar tanaman obat, bahan asingnya seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daum akar yang rusak serta kotoran lain yang harus dibuang, dengan tujuan mengurangi jumlah mikroba awal. Kemudian dilanjutkan pencucian basah menggunakan air bersih untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Setelah bersih dilakukan penjemuran dengan sinar matahari selama satu hari sebelum perajangan diperlukan untuk mengurangi pewarnaan akibat reaksi antara bahan dan logam pisau. Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan dengan bantuan pisau

atau alat perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis dengan ukuran yang dikehendaki dan dilanjutkan tahap pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu lama.

Menurut Salmia (2016) dan Pradana *et al.*, (2014) sampel daun *U. acida* dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempatkan yang tidak terkena sinar matahari langsung untuk mengurangi penguapan yang mengikutkan senyawa yang terkandung di dalamnya. Simplisia yang sudah kering tersebut diserbukkan sampai halus dengan belender selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ayakan ukuran 60 mesh sehingga dihasilkan simplisia yang halus.

4.5.3 Pembuatan ekstrak etanol daun *U. acida*

Penelitian yang dilakukan Saputera *et al.*, (2019) ekstraksi dilakukan dengan metode meserasi dan menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 250 gram serbuk simplisa dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Tambahkan etanol 2,5 L etanol 70% (perbandingan 1:10) atau hingga terendam. Simpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 3 x 24 jam, dan sesekali dilakukan pengadukan. Maserat dipisahkan dengan cara disaring. Dilakukan remaserasi dengan menambahkan 2 L etanol 70% remaserasi dilakukan 6 x 24 jam. Ekstrak yang dihasilkan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55°C kemudian dikeringkan dan ditimbang. Pada akhir proses ini didapatkan ekstrak etanol daun bajakah kait-kait yang berwarna kecoklatan.

4.5.4 Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak dan kontrol (perlakuan)

Ekstrak etanol daun *U. acida* yang telah didapatkan kemudian diencerkan (b/v) untuk memperoleh larutan stok, kemudian melakukan proses pengenceran untuk mendapatkan variasi konsentrasi 5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml dari larutan stok ekstrak. Santoso (2017) menyatakan konsentrasi yang digunakan diperoleh dengan rumus pengenceran :

$$M1.V1 = M2. V2$$

Keterangan :

M1 = molaritas sebelum pengenceran

M2 = molaritas setelah pengenceran

V1 = volume sebelum pengenceran

V2 = volume setelah pengenceran

Pembuatan larutan kontrol positif (ampisilin) dengan cara ditimbang 500 mg ampisilin digerus dan dilarutkan dengan 100 ml aquadest steril sehingga didapat konsentrasi 50 mg/ml (Santoso, 2017). Saputera *et al.*, (2019) menyatakan kontrol positif dengan ampicillin 10 μ , kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest 10 μ karena tidak memiliki efek sama sekali terhadap bakteri.

4.5.5 Pengulangan perlakuan

Untuk mendapatkan data yang valid dilakukan pengulangan sesuai rumus Federer

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

Dimana :

t = banyaknya perlakuan

n = pengulangan

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

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75 = 5 \text{ (Annisah } et al., 2018).$$

Dalam penelitian ini dilakukan perlakuan sebanyak 5 kali dengan menggunakan konsentrasi 5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml.

4.5.6 Pembuatan media Nutrien Agar (NA) (Rundengan *et al.*, 2017)

NA yang tersedia sebanyak 28 gram dalam 1 liter

$\frac{V1}{m1} = \frac{V2}{m2}$

Media yang digunakan dalam penelitian sebanyak 100 ml maka :

$$\frac{1000}{28} = \frac{100}{m_2}$$

$$m_2 = \frac{28 \times 100}{1000} = 2,8 \text{ gram}$$

$$m_2 = \frac{28 \times 100}{1000} = 2,8 \text{ gram}$$

Cara pembuatan :

- a. Media NA di timbang sebanyak 28 gram kedalam erlenmeyer
- b. Dilarutkan dalam 100 ml aquadest sambil dihomogenkan
- c. Dipanaskan dan homogenkan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*
- d. Jika sudah homogen, angkat dari *hot plate* dan *magnetic stirrer*
- e. Ditutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan *aluminium foil*
- f. Disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit, diangkat dengan lap
- g. Dibuka tutup erlenmeyer dan sterilkan mulut erlemeyer dengan bunsen
- h. Cawan petri disterilkan pada api bunsen dan dituangkan pada cawan petri steril ± 20 ml dalam *laminator flow* untuk mencegah adanya kontaminasi
- i. Ditutup dan *wrapping* cawan petri berisi media
- j. Didinginkan pada suhu $\pm 45-50^\circ\text{C}$ hingga memadat

4.5.7 Media *Nutrient Broth*

Sebanyak 1,3 gram *Nutrient Broth* dilarutkan ke dalam 100 ml aqaudes, kemudian dipanaskan hingga larut. Bahan yang telah homogen kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Tanuwijaya *et al.*, 2015).

4.5.8 Cara isolasi bakteri *E. coli* :

- a. Ambil faces 1 ose, isolasi pada media NB. Letakkan media NB ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
- b. Setelah itu ambil 1 ose dari media NB lalu tanam ke media EMB, inkubasi 1 x 24 jam dengan suhu 37°C di inkubator.

- c. Jika tumbuh *E. coli* pada media EMB maka akan didapatkan hasil berupa koloni yang berwarna hijau metalik yang khas, permukaan koloni cembung dengan pinggiran yang rata.
- d. Melakukan pengecatan gram untuk mengidentifikasi bakteri yang akan diteliti. Fungsi pengecatan bakteri ialah untuk membedakan bakteri gram positif yang berwarna ungu dan gram negatif yang berwarna merah.

Pengecatan gram :

- 1) Meletakkan preparat apus di atas rak pewarnaan.
- 2) Menggenangi preparat dengan crystal violet, inkubasi selama 30 detik
- 3) Membuang larutan crystal violet pada preparat apus, bilas dengan air mengalir
- 4) Menggenangi preparat apus dengan larutan lugol, inkubasi selama 30 detik dan bilas dengan air mengalir
- 5) Melakukan dekolorisasi dengan menggenangi asam alkohol pada preparat apus, inkubasi selama 30 detik dan bilas dengan air mengalir
- 6) Menggenangi preparat apus dengan safranin selama 60 detik dan bilas dengan air mengalir
- 7) Mengeringkan preparat apus di suhu ruang dan melakukan pengamatan preparat apus di bawah mikroskop (Tenriasa dan Hamid, 2019).

4.5.9 Pembuatan suspensi bakteri *E. coli* :

- a. Mengambil satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan pada media EMB.
- b. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0.5 McFarland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0.5 McFarland mempunyai populasi 1×10^8 CFU/ml).

4.5.10 Aktivitas antibakteri dengan metode kirby bauer

- a. Suspensi bakteri sebanyak 200 μ l dimasukkan kedalam 20 ml media NA yang telah memadat, mikroba tersebut diratakan dengan drugalsky.
- b. Lalu teteskan 50 μ l larutan sampel diteteskan di atas kertas *disk*, lalu dibiarkan kertas *disk* mengering.
- c. Kertas *disk* yang mengandung larutan uji diletakkan di atas permukaan media agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam.
- d. Diidentifikasi hasil dengan pengukuran daerah jernih yang terbentuk di sekeliling *disk*, kemudian diukur diameter zona hambat menggunakan penggaris (Ngazizah *et al.*, 2016).

Tabel 4.5.1 Klasifikasi respon daya Hambatan Pertumbuhan Bakteri (Rundengan *et al.*, 2017).

Diameter zona bening	Respon
<5 mm	Kurang efektif
10 – 15 mm	Sedang
16 – 20 mm	Kuat
>20	Sangat Kuat

4.6 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

Variabel bebas : Konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida*.

Variabel terikat : Diameter zona hambat ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap bakteri *E. coli*.

4.7 Teknik Pengolahan Data dan Analisa

Rinaldi *et al.*, (2017) menyatakan data penelitian yang telah terkumpul kemudian di olah menggunakan aplikasi perangkat lunak yang sesuai dan adapun cara pengolahan data penelitian adalah sebagai berikut :

1. *Editing*

Pengecekan atau pengoreksian data yang telah terkumpul, bertujuan untuk memeriksa kelengkapan data.

2. *Coding*

Coding merupakan tindakan untuk melakukan pemberian kode pada tiap-tiap data yang termasuk dalam kategori yang sama, baik dalam bentuk angka maupun huruf yang bertujuan memberikan petunjuk atau identitas pada suatu informasi atau data yang akan di analisis.

3. *Entry*

Merupakan suatu proses memasukkan data-data yang telah melewati proses *editing* dan *coding* ke dalam alat pengolahan data menggunakan aplikasi perangkat lunak.

4. *Cleaning*

Mengkoreksi data yang sudah diklasifikasikan untuk memastikan bahwa data tersebut sudah baik dan benar serta siap untuk dilakukan proses dianalisa data.

5. *Analisa Data*

Kata *analysis* berasal dari bahasa *Greek (Yunani)* yang terdiri dari kata “*ana*” dan “*lysis*”, *ana* berarti atas (*above*) dan *lysis* berarti memecahkan atau menghancurkan. Hal ini berarti bahwa data yang telah diperoleh dipecah menjadi kecil-kecil terlebih dahulu lalu dihubungkan satu dengan yang lain untuk mendapatkan pemahaman yang baru. Dalam analisa data terdapat perbedaan metode yang dapat digunakan dalam penelitian yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Analisa secara kualitatif digunakan untuk analisa secara statistikan untuk menjelaskan suatu fenomena, menguji hipotesis kerja, dan mengangkat sebagai temuan berupa verifikasi terhadap teori lama dan teori baru. Sedangkan analisa secara kuantitatif merupakan metode dengan menggunakan data untuk mendukung pemahaman yang dilakukan dan menghasilkan teori baru (Siyoto *et al.*, 2015).

Tahapan proses analisis data, yaitu :

a. Uji Normalitas

Uji normalitas adalah uji yang digunakan untuk analisa data lebih lanjut, dengan menggunakan data yang berdistribusi normal dalam analisa statistik. Walaupun tidak menuntut data harus berdistribusi normal, tetapi dapat menggunakan data yang tidak berdistribusi tidak normal. Kriteria yang digunakan dalam uji normalitas jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka data tersebut normal dan jika $< 0,05$ maka tidak normal. Teknik yang digunakan dalam uji normalitas seperti Chi-Kuadrat, Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro Wilk (Arifin, 2017).

b. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Uji Saphiro Wilk digunakan untuk uji normalitas karena sampel < 50 pada setiap perlakuan yang dilakukan pada penelitian. Uji normalitas Shapiro Wilk bertujuan memperlihatkan bahwa data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak perlakuan jika data terdistribusi normal dan menggunakan Wilcoxon jika data tidak terdistribusi normal.

Kriteria uji dalam pengambilan keputusan dalam uji normalitas yaitu :

1. Menetapkan taraf signifikansi

Taraf signifikansi yang digunakan adalah 0.05

2. Menetapkan kriteria pengujian

Jika Sig > 0.05 maka data berdistribusi normal

Jika Sig < 0.05 maka data tidak berdistribusi normal (Rini, 2015).

c. Uji Wilcoxon

Uji wilcoxon *signed test* adalah salah satu uji non parametik untuk mengetahui perbedaan rata-rata dari objek yang memiliki data berdistribusi tidak normal. Uji ini juga dikenal dengan nama uji *match pair test*. Dasar pengambilan keputusan dalam uji wilcoxon *signed test* adalah sebagai berikut :

- 1) Ketika nilai probabilitas Asym.sig 2 failed $< 0,05$ maka terdapat perbedaan rata-rata

- 2) Ketika nilai probabilitas $Asym.sig$ 2 failed $> 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan rata-rata (Artaya, 2018).

d. Uji Homogenitas dan Uji *One Way* ANOVA

Uji homogenitas, bertujuan untuk mengetahui variasi dari beberapa populasi menunjukkan sama atau tidak. Apabila nilai signifikan pada uji homogenitasnya $< 0,05$, maka variasi dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama. Sebaliknya, apabila nilai signifikan $> 0,05$, maka varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama (Febrianasari, 2018).

Menurut Swan (2018) prinsip uji ANOVA adalah melakukan analisis variabilitas data menjadi dua sumber variasi yaitu variasi dalam kelompok (*within*) dan variasi antar kelompok (*between*). Apabila variasi *within* dan *between* sama (nilai perbandingan dua varian mendekati angka satu), artinya tidak ada perbedaan efek dari intervensi yang dilakukan, dengan kata lain mean yang dibandingkan tidak ada perbedaan. Sebaliknya bila variasi antar kelompok lebih besar dari variasi dalam kelompok, artinya mean yang dibandingkan menunjukkan adanya perbedaan. Syarat uji ANOVA harus didistribusikan normal dan homogen.

- 1) Jika $Sig > 0.05 = H_0$ ditolak (Tidak terdapat perbedaan perlakuan diantara variasi uji)
- 2) Jika $Sig < 0.05 = H_1$ diterima (Terdapat perbedaan perlakuan diantara variasi uji).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

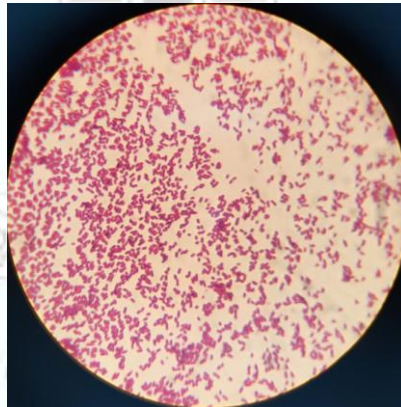
5.1 Gambaran Lokasi Penelitian dan Pengambilan Sampel

Laboratorium program studi Diploma III Analisis Kesehatan terdiri dari Laboratorium kimia, medis dan mikrobiologi. Pelaksanaan penelitian analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi. Tempat pengambilan sampel daun *U. acida* di desa Karang Anyar Kalimantan Tengah dan biakan murni *E. coli* diperoleh dari Rumah Sakit Umum Sultan Imanuddin Pangkalan Bun.

5.2 Hasil Penelitian

5.2.1 Identifikasi *Echerichia coli*

Identifikasi Mikroskopis dari koloni yang sudah tumbuh pada media EMB.

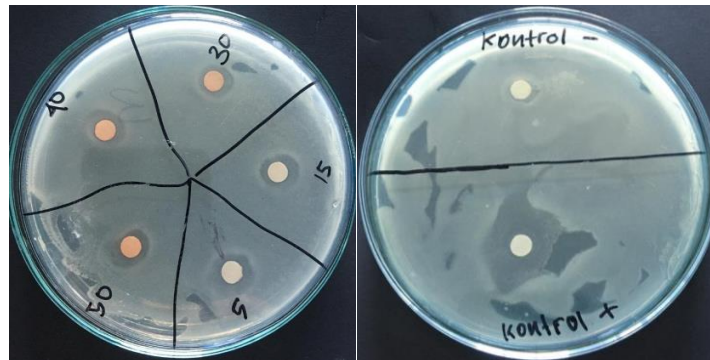


Gambar 5.1 Bakteri *Echerichia coli* Perbesaran 100×

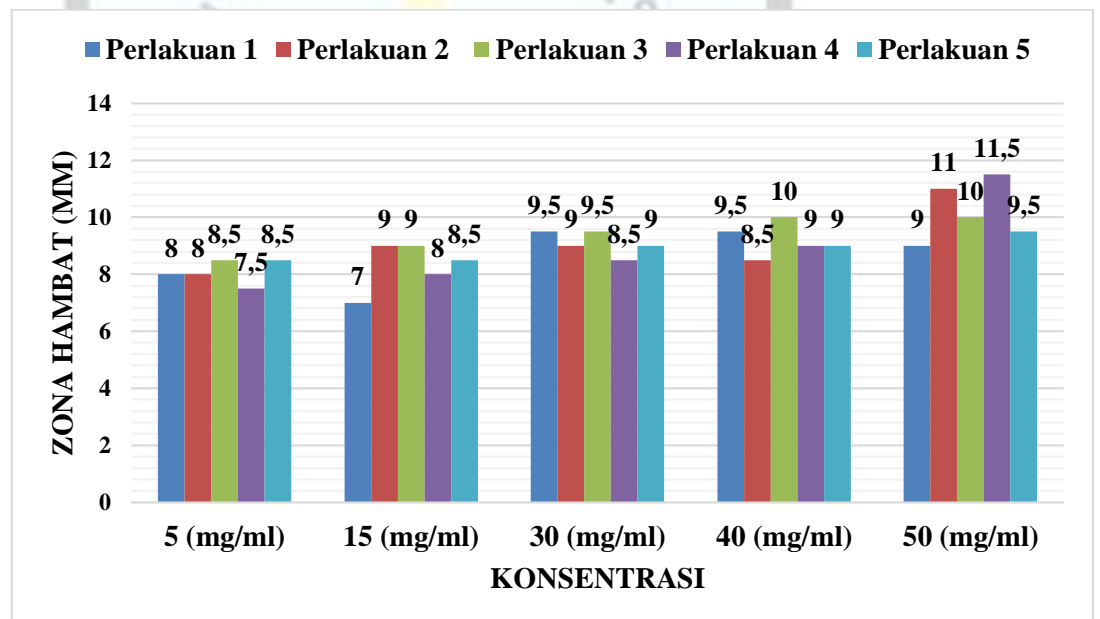
5.2.2 Data Penelitian

Penelitian analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* menggunakan metode difusi (kertas cakram). Pada penelitian ini menggunakan perlakuan dengan 5 variasi konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida* yaitu 5 mg/ml, 15mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml dan 50 mg/ml dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Adanya zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan penggaris pada gambar dibawah ini :



Gambar 5.2 Zona Hambat Pada Uji Pertumbuhan Bakteri *E. coli* Pada Beberapa Konsentrasi 1. 5 mg/mL, 2. 15 mg/mL, 3. 30 mg/mL, 4. 40 mg/mL, 5. 50 mg/mL, Kontrol Positif Ampicilin dan Kontrol Negatif Aquadest.



Gambar 5.3 Grafik Zona Hambat Pada Uji Ekstrak Etanol Daun *U. acida* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli*.

Pada Gambar 5.3 didapatkan zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida* yang berbeda-beda, rata-rata zona hambat pada konsentrasi 5 mg/ml = 8,1 mm, 15 mg/ml = 8,3 mm, 30 mg/ml = 9,1 mm, 40 mg/ml = 9,2 mm dan 50 mg/ml = 10,2 mm.

5.3 Pembahasan

Sebelum dilakukan uji antibakteri terlebih dahulu dilakukan pembuatan ekstrak daun *U. acida*. Sampel daun *U. acida* dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempatkan yang tidak terkena sinar matahari langsung untuk mencegah rusaknya senyawa yang terkandung di dalam daun *U. acida* (Salmia, 2016; Pradana *et al.*, 2014).

Setelah sortasi kering, didapatkan simplisia berupa daun kering. Kemudian simplisia kering dihaluskan dengan blender. Selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ayakan ukuran 60 mesh sehingga dihasilkan simplisia yang halus. Tujuan penghalusan yaitu untuk memperluas permukaan partikel simplisia sehingga semakin besar kontak permukaan partikel simplisia dengan pelarut etanol 70% dan mempermudah penyerapan pelarut ke dalam simplisia sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dari simplisia lebih banyak (Husni *et al.*, 2018).

Secara alamiah, bahan aktif selalu berada bersama-sama dengan senyawa yang lain di dalam jaringan dan sel tanaman. Cara untuk mendapatkan senyawa tersebut adalah dengan teknik ekstraksi (Endarini *et al.*, 2016). Menurut Prayudo *et al.*, (2015), ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan bantuan pelarut sehingga zat terpisah dari komponen lain yang tidak dapat larut dalam pelarutnya. Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu ekstraksi dengan menggunakan metode meserasi. Menurut Wijayanti *et al.*, (2016) maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan dimana hasilnya dipengaruhi oleh jenis pelarut serta waktu maserasi. Menurut Na'imah *et al.*, (2020) kelebihan dari metode ini ialah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan, dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termetabolit karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan dan biaya operasional cukup rendah. Pendapat Agustini (2018) maserasi adalah proses pengekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dan pada *temperature* ruang dilakukan pengadukan beberapa kali. Dalam meserasi, serbuk halus dari daun *U. acida* yang dicampurkan dengan pelarut etanol 70%.

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun *U. acida* yaitu etanol 70%. Menurut Najib *et al.*, (2018) pemilihan etanol sebagai pelarut pengekstrak dalam penelitian ini karena pelarut etanol bersifat netral, memiliki daya penyerapan yang baik, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman dan etanol dapat melarutkan berbagai zat tertentu pada daun *U. acida* yang berfungsi sebagai antibakteri.

Menurut Suryani *et al.*, (2015) larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya.

Ekstrak yang dihasilkan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C suhu ini masih di bawah titik didih etanol yaitu 78°C, agar pelarut etanol 70% dan ekstrak kental *U. acida* terpisah sehingga yang didapatkan ialah ekstrak murni dari daun *U. acida* bebas pelarut (Arimba *et al.*, 2019).

Ekstrak dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup rapat dengan *aluminium foil* supaya cahaya tidak tembus ke dalam gelas kaca sehingga ekstrak tidak mudah rusak oleh panas dan di beri lubang udara menggunakan jarum di semua permukaan *aluminium foil* bertujuan supaya pelarut yang masih ada di dalam ekstrak dapat menguap (Amelia, 2020).

Pengujian daya hambat pertumbuhan bakteri menggunakan ekstrak etanol daun *U. acida* dilakukan dengan menggunakan lima variasi konsentrasi yaitu 5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml dan 50 mg/ml menggunakan aquadest steril sebagai pelarut. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri dengan metode difusi ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat di sekitar *disk* pada pertumbuhan bakteri *E. coli*. Keuntungan menggunakan difusi cara *Kirby bauer* adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Saputera *et al.*, (2019) menyatakan kontrol positif dengan ampicillin 10 μ . Menurut Villianova (2015) ampicilin berfungsi sebagai pembanding

karena merupakan jenis antibiotik yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri gram negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest 10 μ karena tidak memiliki efek sama sekali terhadap bakteri.

Tahap uji antibakteri dimulai dengan penanaman bakteri *E. coli* pada media NA, kemudian meletakkan kertas cakram yang sudah berisi ekstrak dengan 5 konsentrasi tersebut, dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali supaya hasil yang diperoleh lebih akurat. Menurut Ngazizah *et al.*, (2016) selanjutnya diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 16-18 jam. Pengamatan pengukuran diameter zona hambat dari masing-masing ekstrak menggunakan penggaris. Hasil pengukuran diameter zona hambat disajikan pada Gambar 5.3.

Waktu pengamatan dilakukan pada kurun waktu 16-18 jam setelah inkubasi karena menurut Riadi (2016) dan Amelia (2020) dalam keadaan normal, pertumbuhan bakteri *E. coli* pada masa pertumbuhan selama 24 jam, fase pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan jelas. Fase pertumbuhan bakteri merupakan fase pembelahan sel bakteri melalui beberapa fase yaitu fase penyesuaian bakteri terhadap lingkungan yang baru (media NA) disebut fase *lag*. Selanjutnya di tandai dengan terjadinya pertumbuhan bakteri *E. coli* yang cepat dalam rentang waktu 10-12 jam fase ini disebut fase logaritma. Selanjutnya fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri yang sama dengan laju kematian bakteri dalam rentang waktu 12-20 jam, dan fase kematian dicapai setelah 20 jam.

Hasil perlakuan pada kontrol positif ampicillin ialah 19,5 mm. Ampicillin merupakan golongan dari penisilin yang memiliki spektrum antimikroba yang luas. Ampicillin efektif terhadap mikroba gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerja ampicillin yaitu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida, karena sintesis dinding sel terganggu maka bakteri tersebut tidak mampu mengatasi perbedaan tekanan osmosis di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan bakteri mati (Wattimena (1987) dalam E. Sukmawaty *et al.*, (2016)). Sedangkan zona hambat pada kontrol negatif yang digunakan sebagai pelarut untuk variasi konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida* tidak terbentuk zona

hambat. Hal ini berarti zona hambat yang terbentuk dari perlakuan murni disebabkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *U. acida*.

Pada Gambar 5.2 didapat hasil adanya zona hambat terbentuk dengan ciri-ciri berwarna bening. Adanya zona bening atau zona hambat di sekitar kertas cakram membuktikan bahwa ekstrak etanol daun *U. acida* memiliki sifat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Menurut Marselia *et al.*, (2015) zona hambat yang dihasilkan hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak bersifat membunuh bakteri. Hal ini ditunjukkan dengan mengecilnya ukuran zona hambat setelah fase logaritmik dari bakteri.

Adanya zona hambat yang terbentuk disebabkan karena adanya senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun *U. acida*. Senyawa tersebut antara lain alkaloid indol, triterpen, flavonoid dan fenilpropanoid yang memiliki senyawa aktivitas anti bakteri Zhang *et al.*, (2015).

Alkaloid dapat tertarik pada pelarut etanol karena senyawa alkaloid bersifat polar (Padmasari *et al.*, 2013). Menurut pendapat Purwaningsih, (2014) mekanisme antibakteri dari senyawa alkaloid berperan untuk mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Penelitian Dia *et al.*, (2015) menyatakan senyawa triterpenoid secara umum banyak terdapat pada ekstrak etanol yang terdapat di kulit, batang dan akar tanaman lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*), *B. gymnorrhiza* merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang banyak ditemukan di wilayah tropis seperti Asia Tenggara. Terdeteksinya senyawa triterpenoid diduga disebabkan oleh kemampuan pelarut etanol dalam mengekstrak senyawa yang bersifat polar. Hasil uji positif sangat kuat terhadap kandungan triterpenoid pada akar lebih tinggi dibandingkan dengan daun. Sehingga sesuai dengan hasil penelitian Zhang *et al.*, (2015) hasil penelitian tentang fitokimia yang telah dilakukan pada genus *Uncaria* mendapatkan lebih dari 200 bahan kimia yang salah satunya ialah triterpenoid yang memiliki senyawa antibakteri. Riyanto *et al.*, (2013) dalam Dia *et al.*, (2015) menyatakan

bahwa senyawa triterpenoid pada tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba.

Mekanisme antibakteri dari senyawa flavonoid dapat terjadi akibat reaksi antara senyawa lipid dan asam amino dengan gugus alkohol, sehingga dinding sel mengalami kerusakan dan mengakibatkan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Senyawa ini kemudian akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri. Akibat perbedaan kepolaran antara lipid dan penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan terjadi reaksi sehingga struktur lipid dari DNA bakteri sebagai inti sel bakteri akan mengalami kerusakan dan lisis (Juariah *et al.*, 2020).

Pada Gambar 5.3 dapat dilihat bahwa zona hambat yang dihasilkan dari berbagai konsentrasi ekstrak yaitu 5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml dan 50 mg/ml terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* memiliki nilai diameter yang berbeda zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, rata-rata zona hambat pada konsentrasi 5 mg/ml = 8,1 mm, 15 mg/ml = 8,3 mm, 30 mg/ml = 9,1 mm, 40 mg/ml = 9,2 mm dan 50 mg/ml = 10,2 mm. Menurut Rundengan *et al.*, 2017 mengenai klasifikasi respon daya hambat pertumbuhan bakteri, jika diameter <5 mm di kategorikan ke dalam kriteria kurang efektif, 10-15 mm masuk ke dalam kriteria sedang dan diameter >20 mm masuk ke dalam kriteria sangat kuat. Diameter daerah hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk dari ekstrak etanol daun *U. acida* 50 mg/ml = sedang dan 40 mg/ml – 5 mg/ml = lemah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *U. acida* mengandung zat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* walaupun daya hambat yang terbentuk lemah dan sedang.

Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Amelia (2020) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat *U. cordata* memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Diameter rata-rata zona hambat ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 100 mg/ml = 12,7 mm, 200 mg/ml = 14,2, 300 mg/ml = 15,3 mm, 400 mg/ml = 16,3 mm dan 500 mg/ml = 17,7 mm terhadap bakteri *S. aureus*.

Zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol *U. acida* termasuk zona hambat rendah dan sedang dapat disebabkan karena suhu yang digunakan saat *rotary evaporatory* lebih dari 45°C. Menurut Sekarsari *et al.*, (2019) suhu dan waktu yang melebihi kondisi optimum yaitu suhu 45°C akan menyebabkan senyawa flavonoid pada bahan tidak terekstrak secara maksimal dan mudah rusak pada suhu tinggi.

Selain itu menurut Zeniusa *et al.*, (2019) ada beberapa faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yaitu kekeruhan suspensi bakteri. Dalam mengukur kekeruhan suspensi sebaiknya digunakan suatu alat yaitu nephelometer agar kekeruhan suspensi bakteri lebih akurat saat dibandingkan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5. Pada penelitian ini pengukuran makroskopis kekeruhan dilakukan hanya secara visual dengan cara membandingkan kekeruhan suspensi bakteri dengan standart kekeruhan 0,5 Mc Farland, dikarenakan keterbatasan alat.

Faktor lain yang menyebabkan zona hambat yang terbentuk lemah dan sedang adalah jenis bakteri yang digunakan. Pada penelitian ini bakteri yang digunakan yaitu *E. coli*. *E. coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif, dimana dinding sel *E. coli* dilapisi membran luar yang terdapat protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Dinding luar bakteri *E. coli* memiliki sifat permeabilitas tinggi sehingga zat aktif dalam ekstrak etanol *U. acida* tidak dapat masuk secara maksimal ke dalam sel bakteri yang mengakibatkan kurang optimalnya ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dinding bakteri juga terdiri dari lipoprotein yang mengandung molekul protein yaitu porin dan lipopolisakarida. Porin inilah yang bersifat hidrofilik, sedangkan ekstrak bersifat hidrofobik. Karena perbedaan sifat inilah, molekul komponen ekstrak menjadi lebih sulit masuk ke dalam bakteri (Zeniusa *et al.*, 2019).

Selain itu, dinding luar bakteri *E. coli* banyak mengandung lapisan lipid yang bersifat nonpolar, sedangkan ekstrak bersifat polar. Adanya perbedaan sifat inilah yang menyebabkan molekul komponen ekstrak juga menjadi lebih sulit masuk ke dalam bakteri (Zeniusa *et al.*, 2019). Oleh karena itu, hal ini

dapat mempengaruhi aktivitas kerja dari ekstrak etanol *U. acida* dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Menurut Widiyanto (2013) uji *One Way* ANOVA merupakan teknik statistika parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata, di mana hanya terdapat satu variabel bebas (independen) yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat (dependen). Hasil uji statistik dengan uji *One Way* ANOVA diperoleh $p = 0.809$ dimana nilai $p > 0.05$ yang berarti bahwa data zona hambat pada uji pertumbuhan bakteri *E. coli* pada beberapa konsentrasi 1. 5 mg/ml, 2. 15 mg/ml, 3. 30 mg/ml, 4. 40 mg/ml dan 5. 50 mg/ml berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *E. coli*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun *U. acida* semakin tinggi zona hambat yang terbentuk.



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *U. acida* memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ditandai dengan terbentuknya zona hambat, dengan konsentrasi 50 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat 10,2 mm memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dalam kategori sedang.

6.2 Saran

6.2.1 Bagi Masyarakat

Diharapkan masyarakat dapat menggunakan daun tumbuhan *U. acida* sebagai antibakteri yang bersifat herbal dan memiliki efek samping yang lebih ringan daripada obat kimia.

6.2.2 Bagi Peneliti Selanjutnya

Diharapkan kepada peneliti selanjutnya dapat mengembangkan variasi konsentrasi lebih tinggi dari penelitian ini dan melanjutkan uji antibakteri dengan metode lain.

6.2.3 Bagi Instansi Pendidikan

Penelitian ini dapat dijadikan acuan dalam proses belajar mengajar tentang analisa ekstrak etanol daun *U. acida* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Annisah, R., D. E. Batubara., A. Roslina dan Yenita. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*. *Ibnu Sina Biomedika*. 2 (2) : 124-128.
- Agustini, N.P. E. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar. Denpasar.
- Astuti, M. D., A. Maulana dan E. M. Kuntowati. 2014. Isolasi Steroid dari Fraksi n-Heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. 9-13.
- Amelia, R. 2019. Analisa Ekstrak Etil Asetat Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah*. STIKes Borneo Cendekia Medika. Pangkalan Bun.
- Aryal, S. 2018. *Biochemical Test of Escherichia coli (E. coli)*. www.microbenotes.com. Diakses 3 Agustus 2020.
- Artaya, I. P. 2018. *Uji Ranking Wilcoxon*. <https://www.researchgate.net>. Diakses 18 Februari 2021.
- Arifin, J. 2017. *SPSS 24 Untuk Penelitian dan Skripsi*. Penerbit PT Alex Media Komputindo. Jakarta.
- Arimba, G. P., Jasman., Hasanuddin dan Syahrul. 2019. Pemurnian Bioetanol Limbah Kulit Nanas Menggunakan Alat Destilasi Sederhana Model Kolom Refluks. *Jurnal Zarah*. 7 (1) : 22 – 28.
- Ayuhastuti, A., I. M. Sadjati., Suparmi dan A. Sutisna. 2016. *Praktikum Teknologi Sediaan Steril*. Pusdik SDM Kesehatan. Jakarta Selatan.
- CDC. 2019. *Escherichia coli, Diarrheagenic*. <https://wwwnc.cdc.gov>. Diakses 18 Mei 2020.
- . 2019. *Infeksi E.coli*. <https://www.cdc.gov/healthypets/diseases/ecoli.html>. Diakses 25 Juli 2020.
- Dewi, F. K. 2016. Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan Terhadap Jumlah Eritrosit, Kadar Hemoglobin dan Hematokrit Tikus Putih Yang Dipapar Asap Rokok. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang.
- Dia, S. P. S., Nurjanah dan Jacob, A. M. 2015. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Akar, Kulit Batang dan Daun Lindur. *JPHPI*. 18 (2).

- Endarini, L. H., I. M. Sadjati., A. Suryana dan A. Sutisna. 2016. *Farmakognisi dan Fitokimia*. Pusdik SDM Kesehatan. Jakarta Selatan.
- Febrianasari, F. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- GDM. 2019. *Budidaya Tanaman Bajakah*. <https://gdmorganic.com>. Diakses 25 Juli 2020.
- Husni, E., N. Suharti dan A. P. T. Atma. 2018. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn) serta Penentuan Kadar Fenolat Total dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 5 (1) : 12-16.
- ITIS. 2012. *Taxonomy*. <http://www.itis.gov>. Diakses 27 Juli 2020.
- Juariah, S., N. Yolanda dan A. Surya. 2020. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Endurance : Kajian Ilmiah Problema Kesehatan*. 5 (2).
- Marselia, S., M. A. Wibowo dan S. Arreneuz. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) Terhadap *Propionibacterium acne*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4 (4) : 72 – 82.
- Mulyadi, M., Wuryanti dan P. R. Sarjono. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 20 (3) : 130 – 135.
- Najib, A., N. F. Subekti dan D. Novidiantoko. 2018. *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Group Penerbitan CV Budi Utama. Sleman.
- Na'imah, J., R. Aulia., A. L. Nasyanka., N. F. Hariyanto dan Dema. 2020. *Pengantar Fitokimia*. Qiara Media. Jawa Timur.
- Ngazizah, F. N., N. Ekowati dan A. T. Septiana. 2016. Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella* Link) sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Biosfera*. 33 (3) : 126 - 133.
- Ninkaew, S. dan P. Chantaranatha. 2014. The Genus *Spatholobus* Hassk. (*Leguminosae-Papilionoideae*) in Thailand. *Tropical Natural History*. 14 (2): 87-99.

- Ningsih, I. Y. 2016. *Modul Sainifikasi Jamu Penanganan Pasca Panen*. Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Oktaviani, S. 2019. *Tanaman Bajakah*. <https://www.tribunnewswiki.com>. Diakses 25 Juli 2020.
- Padmasari, P.D., K. W. Astuti dan Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurusan Farmasi Udayana*. 2 (4).
- Purwaningsih, R. T., P. Surjowardojo dan T. E. Susilorini. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dengan Pelarut Ether Dan Methanol Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- PUSDIK KP. 2018. *Beberapa Media Yang Biasa Digunakan Dalam Analisa Coliform*. <http://www.pusdik.kkp.go.id>. Diakses 25 Juli 2020.
- Prayudo, A. N., O. Novian., Setyadi dan Antaresti. 2015. Koefisien Transfer Massa Kurkumin Dari Tamulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*. 14 (1) : 26-27.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Pradana, D., D. Suryanto dan Yunasfi. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia sp.* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Pramesti, Getut. 2014. *Kupas Tuntas Data Penelitian Dengan SPSS 22*. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Rananda, R. M., A. Djamal dan J. Julizar. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 dalam Daging Sapi yang Berasal dari Rumah Potong Hewan Lubuk Buaya. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5 (3).
- Riadi. 2016. *Pertumbuhan Bakteri*. <https://www.kajanpustaka.com>. Diakses 15 Januari 2021.
- Riyanto, E. I., Widowati, I dan Sabdono, A. 2013. Skrining Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak *Sargasum polycystum* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* dan *Micrococcus luteus* di Pulau Panjang Jepara. *Journal of Marine Research* 1(1) : 115-121.

- Rinaldi, S. F., B. Mujiyanto., Dr. Z. Hidayah., N. Fitriana dan H. Junianto. 2017. *Metodologi Penelitian dan Statistik*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Jakarta Selatan.
- Rini, Dyah S. dan F. Faisal. 2015. Perbandingan *Power of Test* dari Uji Normalitas Metode Bayesian, Uji Shapiro-Wilk, Uji Cramer-Von Mises, dan Uji Anderson-Darling. *Jurnal Gradien*. 11(2).
- Rundengan, C. H., Fatimawali dan H. Simbala. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6 (1).
- Salmia. 2016. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrovotometri UV-VIS. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makassar.
- Saputera, M. M. A., T. W. A. Marpaung dan N. Ayuhecaria. 2019. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Melalui Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5 (2) : 167-173.
- Saputera, M. M. A dan N. Ayuhecaria. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk.) Terhadap Waktu Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 3 (2) : 318-327.
- Santoso, A. R. 2017. Uji Efektivitas Antibiotik Ampicillin dengan Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Setyaningsih, S. B. D. 2019. *Kelaidoskop 2019: Bajakah, Krotom, dan Parong Jadi Tanaman yang Banyak Disoroti*. <https://www.tribunnews.com>. Diakses 18 Mei 2020.
- Sekarsari, S., I. W. R. Widarta dan A. A. G. N. A. Jambe. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8 (3) : 267 – 277.
- Soleha, T. U. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Juke Unila*. 5 (9) : 119-123.
- Sutiknowati, L. I. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. XLI. (4) 63-71.



- Sukmawaty, E., M. Masri., S. U. Putri dan Nurzakiyah. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Bakteri Endofit Makro Alga *Caulerpa racemosa* L. Asal Perairan Puntondo Terhadap *Staphylococcus aureus* dan Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Biologi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Siyoto, S dan M. Ali S. 2015. *Dasar Metodologi Penelitian*. Literassi Media Publishing. Yogyakarta.
- Swan Statistik Consultant. 2018. *Uji Homogenitas Untuk One Way ANOVA Dengan SPSS*. <http://www.swanstatistik.com>. Diakses 3 September 2020.
- Tenriesa, M. L dan Hamid, F. 2019. Teknik Pembuatan Preparat Apus, Pewarnaan Gram (*Gram Staining*) dan Pengamatan Hasil Pewarnaan Gram. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.
- Tanuwijaya, V. A., B. B. Rahardjo dan S. Pranata. 2015. Produksi Penisilin Oleh *Penicillium chrysogenum* Dengan Penambahan Fenilalanin. *Jurnal UAJY's Library*. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Thohari, N. M., Pestariati dan W. Istanto. 2019. Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Sebagai Media Alternatif NA (*Nutrien Agar*) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *E-Journal Analisis Kesehatan Sains*. 8 (2) : 725 – 733.
- TROPICOS. 2020. *Taxonomy*. <http://www.tropicos.org>. Diakses 25 Juli 2020.
- Villianova, N. P. U. 2015. Evaluasi Penggunaan Antibiotika Berdasarkan Metode Prescribed Daily Dose (PDD) Pada Pasien Anak Rawat Inap di Bangsal Inska II RSUP DR. Sardjito Yogyakarta Periode Januari – Juni 2013. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Wijayanti, N. P. A. D., Dewi, L. P. M. K., Astuti, K. W dan Fitri, N.P. E. 2016. Optimasi Waktu Maserasi untuk Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Rind Menggunakan Pelarut Etil Asetat. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 3 (1) : 12-13.
- Widiyanto, M. A. 2013. *Statistika Terapan : Konsep dan Aplikasi SPSS dalam Penelitian Bidang Pendidikan, Psikologi dan Ilmu Sosial Lainnya*. PT Alex Media Komputindo. Jakarta.
- Zeniusa, P., M. R Ramadhish., S. H. Nasution dan N. Karima. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. *Medical Journal of Lampung University*. 8 (2) : 140 – 142.

Zhang, Q., 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.








LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Pembuatan Simplisia *U. acida*

1.		Sortasi basah daun <i>U. acida</i>
2.		0.9 kg daun <i>U. acida</i>
3.		Pengeringan daun <i>U. acida</i>
4.		Proses Penghalusan daun <i>U. acida</i> dengan blander

5.			Proses pengayakan simplisia daun <i>U. acida</i>
6.			Diperoleh simplisia daun <i>U. acida</i> yang halus

Lampiran 2. Tahapan Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun *U. acida*

1.		Memasukkan simplisia kedalam botol hitam
2.		Memasukkan pelarut Etanol 70% dan dilakukan penggojokan sesekali, dan dilakukan rameserasi selama 6 hari.
3.		Proses penyaringan
4.		Proses rotary evaporator
5.		Ekstrak Etanol daun <i>U. acida</i>

Lampiran 3. Tahapan Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak Daun *U. acida*

$$M_1.V_1=M_2.V_2$$

Keterangan :

M_1 : konsentrasi 1

M_2 : konsentrasi 2

V_1 : volume ekstrak yang ditambahkan

V_2 : volume yang diinginkan

Perhitungan konsentrasi :

$$\begin{aligned} \frac{50 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \times 100 &= \frac{50.000 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} \\ &= \frac{5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \end{aligned}$$

a. 40 mg/ml

$$V_1.M_1=M_2.V_2$$

$$15. 40 \text{ mg/ml} = V_2.50 \text{ mg/ml}$$

$$V_2 = \frac{600 \text{ mg/ml}}{50 \text{ mg/ml}}$$

$$V_2 = 12 \text{ ml ekstrak pekat}$$

$$= 3 \text{ ml aquadest}$$

b. 30 mg/ml

$$V_1.M_1=M_2.V_2$$

$$15. 30 \text{ mg/ml} = V_2.50 \text{ mg/ml}$$

$$V_2 = \frac{450 \text{ mg/ml}}{50 \text{ mg/ml}}$$

$$V_2 = 9 \text{ ml ekstrak pekat}$$

$$= 6 \text{ ml aquadest}$$

c. 15 mg/ml

$$V_1 \cdot M_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$15 \cdot 15 \text{ mg/ml} = V_2 \cdot 50 \text{ mg/ml}$$

$$V_2 = \frac{225 \text{ mg/ml}}{50 \text{ mg/ml}}$$

$$V_2 = 4,5 \text{ ml ekstrak pekat}$$

$$= 10,5 \text{ ml aquadest}$$

d. 5 mg/ml

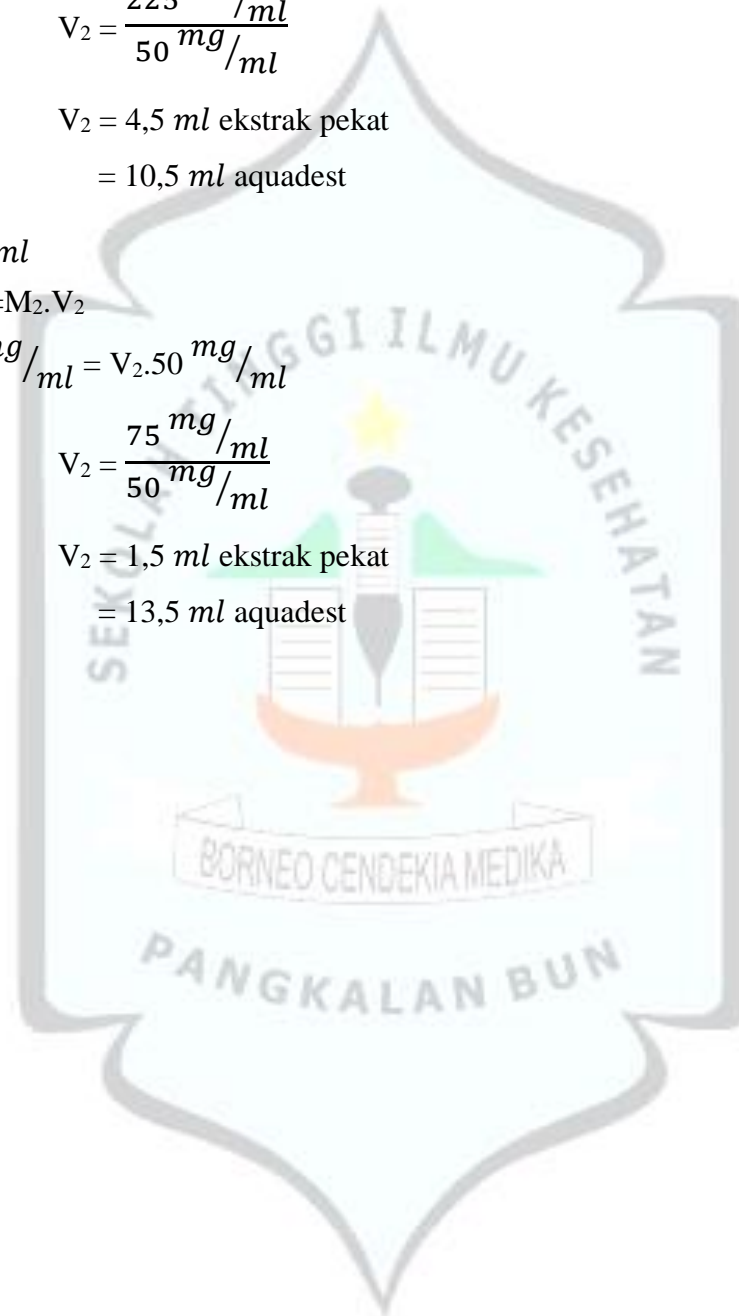
$$V_1 \cdot M_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$15 \cdot 5 \text{ mg/ml} = V_2 \cdot 50 \text{ mg/ml}$$

$$V_2 = \frac{75 \text{ mg/ml}}{50 \text{ mg/ml}}$$

$$V_2 = 1,5 \text{ ml ekstrak pekat}$$

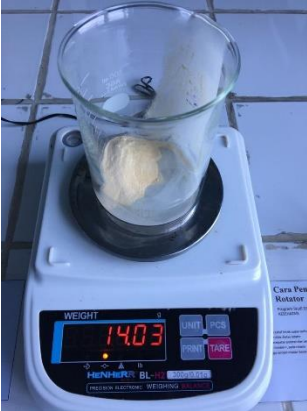



$$= 13,5 \text{ ml aquadest}$$







Lampiran 4. Tahapan Membuat Variasi Konsentrasi

1.	 <p>The first photograph shows a digital analytical scale (Neraca Analitik Digital) with a glass flask containing an orange liquid. The scale's display shows '5.11'. The second photograph shows a glass flask containing an orange liquid, labeled 'U. Acida' and '50 mg/ml'. The third photograph shows several petri dishes containing yellowish liquid, used for creating a dilution series.</p>	Pengenceran variasi konsentrasi ekstrak etanol daun <i>U. acida</i>
----	---	---

Lampiran 5. Tahapan Pembuatan Media NA

1.		Penimbangan media NA
2.		Pengenceran media NA
3.		Proses sterilisasi media NA
4.		Proses penuangan media pada cawan petri

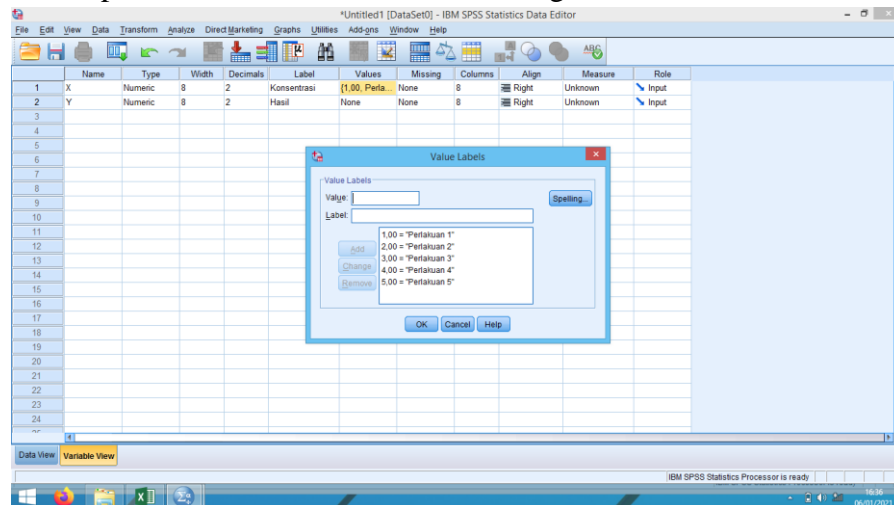
Lampiran 6. Tahapan Uji Antibakteri

1.		Biakan murni bakteri <i>E. coli</i>
2.		Pembuatan suspensi bakteri
3.		Perbandingan suspensi bakteri dengan standart Mc Farland
4.		Penyebaran (spread) suspensi <i>E. coli</i> di atas media NA

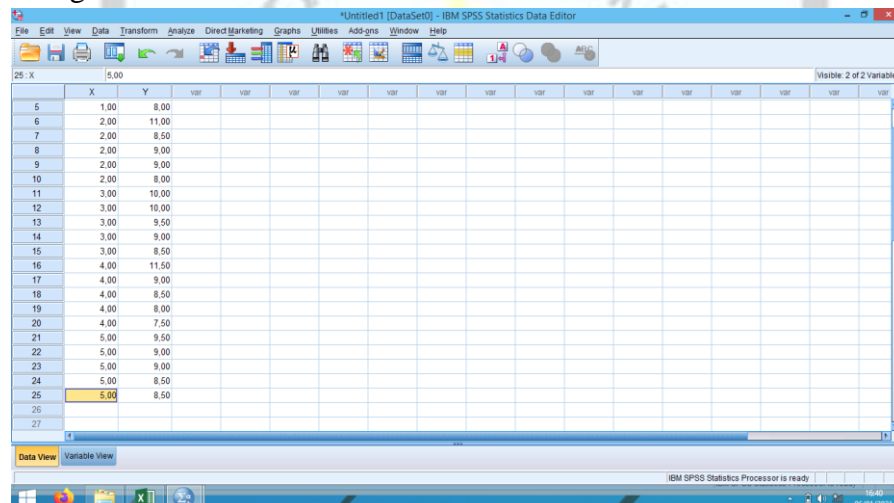
5.			Tahapan uji antibakteri
6.			Bakteri di inkubasi di dalam inkubator
7.			Tahapan pengukuran zona hambat menggunakan penggaris

Lampiran 7. Output Hasil Analisis Data *One Way ANOVA*

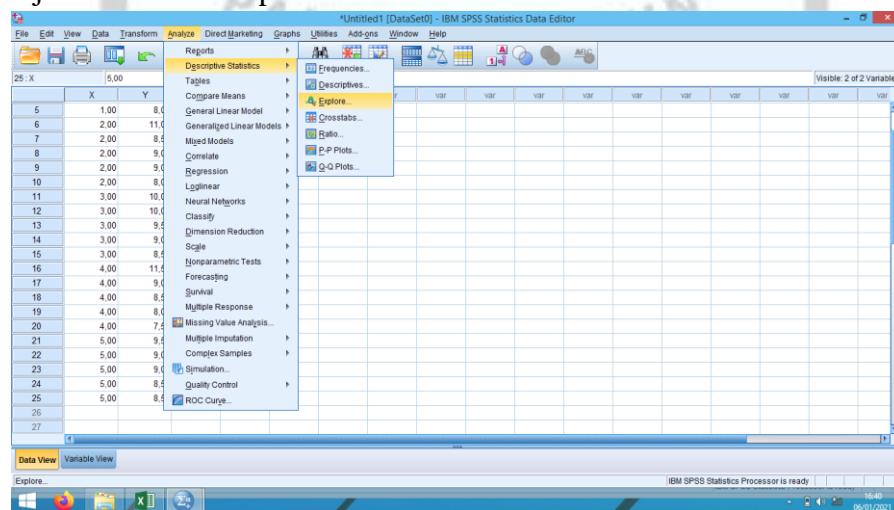
1. Buka aplikasi SPSS Statistick 21 dan mengisi variable view

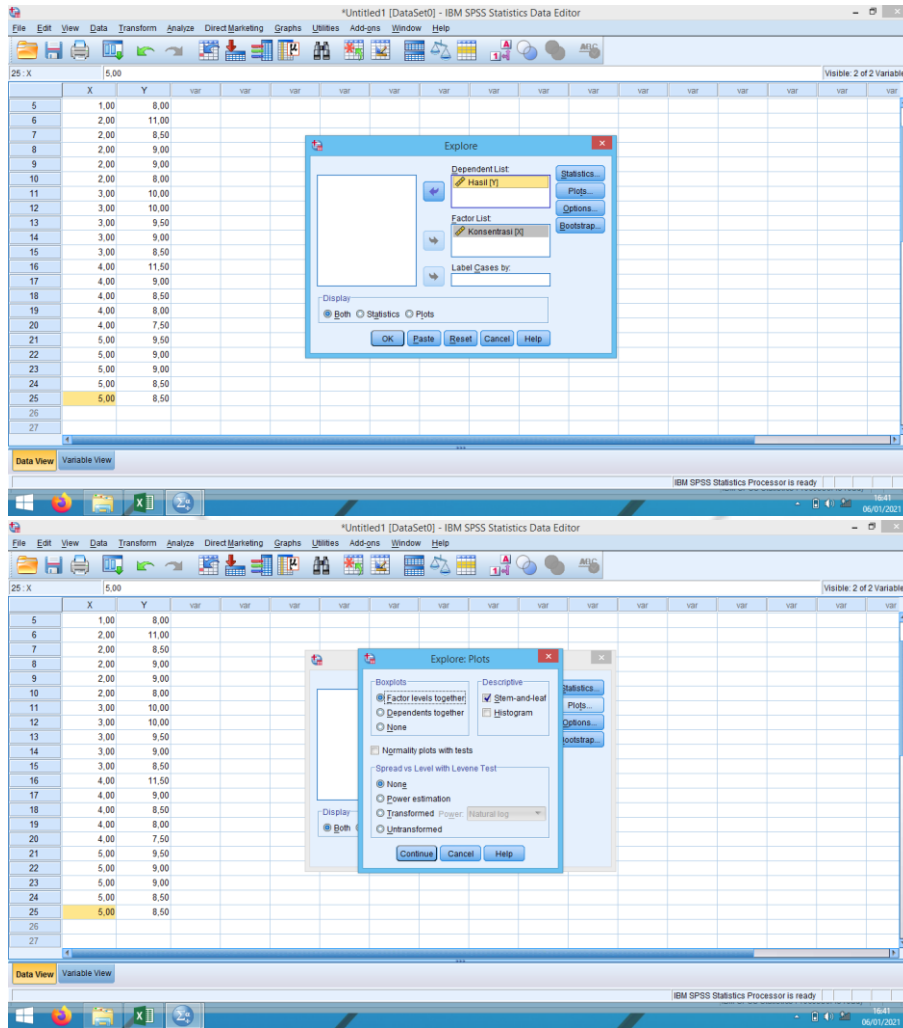


2. Mengisi data view



3. Uji Normalitas Shapiro-Wilk





Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil	Perlakuan 1	,244	5	,200*	,871	5	,272
	Perlakuan 2	,335	5	,069	,860	5	,228
	Perlakuan 3	,221	5	,200*	,902	5	,421
	Perlakuan 4	,274	5	,200*	,867	5	,254
	Perlakuan 5	,231	5	,200*	,881	5	,314

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



4. Uji Homogenitas dan Uji *One Way* ANOVA

The following table represents the data used in the screenshots:

Case	X	Y
5	1,00	8,00
6	2,00	11,00
7	2,00	8,50
8	2,00	9,00
9	2,00	9,00
10	2,00	8,00
11	3,00	10,00
12	3,00	10,00
13	3,00	9,50
14	3,00	9,00
15	3,00	8,50
16	4,00	11,50
17	4,00	9,00
18	4,00	8,50
19	4,00	8,00
20	4,00	7,50
21	5,00	9,50
22	5,00	9,00
23	5,00	9,00
24	5,00	8,50
25	5,00	8,50
26		
27		

One-Way ANOVA Dialog Box:

- Dependent List: Hasil [Y]
- Factor: Konsentrasi [X]

One-Way ANOVA: Options Dialog Box:

- Statistics:
 - Descriptive
 - Fixed and random effects
 - Homogeneity of variance test
 - Brown-Forsythe
 - Welch
- Means plot: Means plot
- Missing Values:
 - Exclude cases analysis by analysis
 - Exclude cases listwise

Descriptives

Hasil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Perlakuan 1	5	8,6000	1,08397	,48477	7,2541	9,9459	7,00	9,50
Perlakuan 2	5	9,1000	1,14018	,50990	7,6843	10,5157	8,00	11,00
Perlakuan 3	5	9,4000	,65192	,29155	8,5905	10,2095	8,50	10,00
Perlakuan 4	5	8,9000	1,55724	,69642	6,9664	10,8336	7,50	11,50
Perlakuan 5	5	8,9000	,41833	,18708	8,3806	9,4194	8,50	9,50
Total	25	8,9800	,99457	,19891	8,5695	9,3905	7,00	11,50

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,181	4	20	,349

ANOVA

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,740	4	,435	,395	,809
Within Groups	22,000	20	1,100		
Total	23,740	24			



Lampiran 8. Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
(PURWODADI BOTANIC GARDEN)

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia 67163
 Telp. 0341 - 426046, WhatsApp +62 8118612374
 E-mail: krpurwodadi@mail.lipi.go.id, http://www.krpurwodadi.lipi.go.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: B-405/IPH.6/KS.02/XII/2020

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

Nama : Mia Irawan
 NIM : 183410008
 Instansi : STIKes Borneo Cendekia Medika
 Tanggal material diterima : 27 November 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
 Ordo : Rubiales
 Family : Rubiaceae
 Genus : Uncaria
 Species : *Uncaria acida* (Hunt.) Roxb.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 301.
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII.
3. J.L.C.H van Valkenburg dan Bunyapraphatsara. 2002. (esd) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 12 (2) ; Medicinal and poisonous plants 2 Hal. 573.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 1 Desember 2020
 Kepala,


TT ELEKTRONIK

Dr. Bayu Adjie, M.Sc.














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

Lampiran 9. Kartu Bimbingan


SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
BORNEO CENDEKIA MEDIKA
PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
 Jl. Sutan Syahrir No. 11 Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah 74112
 Tlp/Fax : (0532) 28200; 082 234 971000 E-mail: stikesbcm15@gmail.com

LEMBAR KONSULTASI KARYA TULIS ILMIAH MAHASISWA

NAMA MAHASISWA : Mia Irawan
 NIM : 183410008
 JUDUL KTI : Analisa Ekstrak Etanol Daun Bayam Kari-kari (Uncaria tomentosa (Hort.) Kunt.) Terhadap Bakteri Escherichia coli Menggunakan Metode Kirby Bauer
 PEMBIMBING I : Febri Nur Ngazisah, S.Pd., M.Si

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TANDA TANGAN
1.	15/09/2020	Sistematika penulisan. Bab I - IV.	
2.	17/09/2020	Bab I - IV (Sistematika penulisan).	
3.	23/09/2020	Prosedur penelitian, perbaiki Bab IV.	
4.	30/09/2020	Cara kerja Bab IV.	
5.	1 Okt 2020	Bab IV	
6.	2 Okt 2020	- prosedur kerja - Analisis Data. Bab IV.	
7.	7 Okt 2020	perbaikan isolasi bakteri E. coli cara	
8.	9 - 11-2020	Analisis Data.	
9.	20 - 01-2021	penul hasil dan pembahasan	
10.	20 - 01-2021	perbaikan hasil, pembahasan dan lampiran.	
11.	25 - 01-2021	Perambatan hasil uji statistik	



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN

BORNEO CENDEKIA MEDIKA

PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN

Jl. Sultan Syahrir No. 11, Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah 74112

Tlp/Fax : (0532) 28200, 082 234 971000 E-mail: stik@bcm15@gmail.com

LEMBAR KONSULTASI KARYA TULIS ILMIAH MAHASISWA

NAMA MAHASISWA : Mia Irawan
 NIM : 183410008
 JUDUL KTI : Analisis Ekstink Etanol Daun Bayam Kait-Kait
 Ureania acid (Hunt) Roxb Terhadap bakteri
 Escherichia coli Menggunakan Metode Kirby Bauer
 PEMBIMBING II : Riky S di., M si

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TANDA TANGAN
1.	16/09/2020	perbaikan Bab I - simplis - teknik Ekstraksi - Analisis Data - uji Anti Mikroba	Riky
2.	17/09/2020	Bab II) - Hipotesis - Perbaikan Daftar Isi - simplis - Analisis Data	Riky
3.	24/09/2020	perbaikan Bab II	Riky
4.	1/10/2020	perambahan teknik Ekstraksi	Riky
5.	5/11/2020	Konsultasi prosedur kerja	Riky
6.	20/01/2021	konsultasi hasil, pembahasan dan lampiran	Riky