

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN SIMBA TASIK (*Clerodendrum serratum* L. Spr)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Untuk Mencapai Gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Oleh :
Winda Ayu Pratiwi
19121077

**YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH
BENGKULU
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL

Proposal Karya Tulis Ilmiah
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat

Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.M.d.Farm)



Disetujui Oleh :

Pembimbing I

(Devi Novia, M.Farm., Apt)

NIDN : 0212058202

Pembimbing II

(Luky Dharmayanti, M.Farm., Apt)

NUPN : 9932000072

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberi kan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini tepat pada waktunya. Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Sekolah Tinggi kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat, penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungannya kepada :

1. Ibu Devi Novia, M. Farm., Apt selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
2. Ibu Luky Dharmayanti, M. Farm., Apt selaku pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
3. Ibu Luky Dharmayanti, M. Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik.
4. Ibu Densi Selpia Sopianti, M. Farm., Apt selaku Ketua Stikes Al-Fatah Bengkulu.
5. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.
6. Para dosen dan staf karyawan Stikes Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Stikes Al-Fatah Bengkulu.

7. Rekan-rekan seangkatan di Stikes Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Bengkulu, 06 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah.....	2
1.3 Rumusan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.5.1 Bagi Akademik	3
1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan	3
1.5.3 Bagi Masyarakat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kajian Teori.....	5
2.1.1 Simba Tasik (<i>Clerodendrum seratum</i> L. Spr)	5
2.1.2 Ekstraksi	8
2.1.3 Skrining Fitokimia dan Metabolit Sekunder.....	10
2.1.4 Mekanisme Ekstrak Daun Simba Tasik Sebagai Antibakteri.....	18
2.2 Antibakteri.....	19
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.1.1 Tempat Penelitian.....	27

3.1.2 Waktu Penelitian	27
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.2.1 Alat	27
3.2.2 Bahan	27
3.3 Prosedur Kerja penelitian	28
3.3.1 Verifikasi Tanaman	28
3.3.2 Pengambilan Sampel	28
3.3.3 Pengelolaan Sampel.....	28
3.3.4 Proses Ekstraksi.....	29
3.3.5 Evaluasi Ekstrak.....	30
3.3.6 Uji Skrining Fitokimia	30
3.3.7 Persiapan Sampel Uji Aktivitas Antibakteri.....	32
3.3.8 Sterilisasi Alat	32
3.3.9 Pembuatan Media.....	32
3.3.10 Peremajaan Mikroba Uji	32
3.3.11 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	33
3.3.12 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Dan Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Simba Tasik (<i>Clerodendrum serratum</i> L. Spr).....	33
3.3.13 Uji Aktivitas Antibakteri	33
3.3.14 Rumus Perhitungan Daya Hambat	34
3.3.15 Pengamatan dan pengukuran	35
3.3.16 Kategori Zona Hambat	35
3.3.17 Analisis data.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Kriteria Kekuatan Antibakteri.....	35
----------	------------------------------------	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Simba Tasik (<i>Clerodendrum seratum</i> L. Spr).....	5
Gambar 2. Struktur Kimia Alkaloid.....	13
Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid.....	14
Gambar 4. Struktur Kimia Steroid	15
Gambar 5. Struktur Kimia Tanin	16
Gambar 6. Struktur Kimia Saponin.....	18
Gambar 7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Gambar 8. Struktur Kimia Amoxicillin.....	25
Gambar 9. Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 10. Pembagian Daerah Metode Difusi Paper Disk Pada Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Gambar 11. Pengukuran Diameter Zona Hambat	34

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam hayati yang sangat banyak. Keanekaragaman ini sangat bermanfaat karena banyak spesies tanaman yang digunakan untuk tujuan pengobatan. Salah satu kegunaan tanaman obat adalah sebagai antibakteri. Para ilmuwan masih terus mengembangkan penelitian mengenai tanaman obat baik yang bersumber dari daun, akar, batang, maupun biji yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri tentu sangat memberikan pengaruh besar terhadap kehidupan manusia terutama untuk kemajuan di bidang kesehatan, salah satunya dapat menjadi alternatif obat-obatan komersial seperti pengobatan infeksi yang di sebabkan oleh bakteri (Merdana, 2010).

Penelusuran agen antibakteri baru sangat perlu dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibakteri atau antibiotik lain yang dapat digunakan dalam menghambat aktivitas bakteri patogen. Salah satu cara dalam pencarian agen antibakteri yang baru yaitu dengan menggunakan agen antibakteri yang bersumber dari tanaman, salah satunya yaitu pemanfaat dari tumbuhan Simba tasik (*Clerodendrum seratum* L. Spr). Masyarakat sudah banyak mengenal tentang tumbuhan ini sebagai obat, baik dari akar, batang sampai daun dapat digunakan sebagai penyembuh penyakit. Tumbuhan Simba tasik dapat digunakan sebagai obat penyembuh borok, bisul, rematik, dan anti kanker (Nasrudin dkk., 2017).

Daun Simba tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) merupakan tumbuhan yang hidup di hutan dan juga diperkebunan yang banyak masyarakat gunakan untuk pengobatan, tumbuhan ini mengandung antioksidan dan antibakteri. Senyawa yang diduga dapat memiliki aktivitas antibakteri yaitu steroid, terpenoid dan alkaloid (Nasrudin dkk., 2017). Tumbuhan ini secara turun temurun banyak digunakan pada masyarakat pedesaan untuk pengobatan tradisional seperti pengobatan gatal, borok, dan juga bisul dengan cara meremas-remas daun tersebut sampai hancur kemudian dibubuhkan pada tempat atau bagian yang gatal.

Bedasarkan uraian tersebut peneliti tertarik mengambil judul tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kemampuan antibakteri yang terdapat dalam Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr).
2. Metode yang digunakan yaitu Difusi Kertas Cakram (*Paper disc*).
3. Melihat aktivitas diameter zona hambat Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3 Rumusan Masalah

1. Apakah Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

2. Berapa dosis atau konsentrasi Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas daya hambat Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Karya tulis ilmiah (KTI) ini dapat dijadikan dokumentasi tertulis dan diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi pembangunan akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan

Karya tulis ilmiah (KTI) ini dapat dimanfaatkan dan dijadikan sebuah referensi untuk peneliti selanjutnya dan juga menambah wawasan pengetahuan tentang uji aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* agar dapat dijadikan sebagai informasi untuk penelitian ilmiah selanjutnya.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Penelitian uji antibakteri diharapkan dapat memberikan pengetahuan serta informasi tentang kelebihan dan manfaat Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) agar bisa dimanfaatkan untuk kebutuhan masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Simba Tasik (*Clerodendrum seratum* L. Spr)



Gambar 1. Simba Tasik (*Clerodendrum seratum* L. Spr)

Clerodendrum seratum L. Spr atau sering dikenal dengan nama Simba tasik adalah salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional di India, Cina, Thailand, Korea, Jepang, dan Indonesia. Nama lain bagi tumbuhan ini ialah Tinjal tasik, tambun tasik, senggugu, lampin budak, mata kesang (Melayu), *Green witch's tongue* (Ing.). Simba tasik adalah tumbuhan yang tumbuh liar serta mudah terlihat di sekitar pedesaan. Batang tumbuhan Simba tasik berkayu dan mempunyai banyak cabang. Daunnya berbentuk bujur lonjong serta bergerigi ditepinya dan kelihatan pertulangan daun yang jelas (Indriani, 2007). Aroma pahit daun Simba tasik ini lumayan kuat, namun beberapa masyarakat mengkonsumsi daun ini sebagai lalapan. Simba tasik digunakan untuk pengobatan seperti kanker, antihipertensi, antiinflamasi, thyroid, syphilis, asma bronkitis dan batuk. Simba

tasik mengandung zat yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Nasrudin dkk., 2017).

a. Morfologi Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr)

Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) adalah tumbuhan berkayu yang berasal dari India Timur dan Malaysia, setinggi 1-3 m dengan batang segi empat tumpul. Akar tua tumbuhan keras, berkayu dan berbentuk silinder dengan diameter 1-1,5 cm, panjang 2-3 cm dan berwarna coklat pucat di bagian luar dan coklat kekuningan di bagian dalam. Akar muda halus atau lurik membujur halus sedangkan yang lebih tua agak kasar, bergerigi membujur atau beralur dan terkelupas di tempat-tempat yang memperlihatkan kayu bagian dalam. Daunnya berbentuk bujur lonjong serta bergerigi ditepinya dan kelihatan pertulangan daun yang jelas panjangnya mencapai 28 cm tetapi biasanya 12,5 -14 kali 5,7- 6,3 cm. Mereka memiliki bentuk lonjong atau elips dengan ujung lancip dan kasar dan tajam margin bergerigi. Pangkal daun lancip dan gundul di tekstur (Bs *et al.*, 2015).

b. Klasifikasi Tumbuhan Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr)

Kerajaan : *Plantae*
Sub-kerajaan : *Viridaeplantae*
Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Lamiidae*
Ordo : *Lamiales*
Famili : *Lamiaceae/ Verbenaceae*

Subfamili : *Ajugoideae*
Genus : *Clerodendrum*
Spesies : *Serratum*(Spr et al., 2015)

c. Kandungan Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr)

Mineral yang terkandung dalam tanaman adalah: Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni. Daunnya menghasilkan -spinasterol, (+) – catechin, luteolin dan luteolin-7-O- β -D-glucuronide dan flavones yaitu apigenin, luteolin, baicalein, scutellarein, 6-hidroksiluteolin; sebuah glukosida dari 6- hidroksiluteolin; asam caffeic dan ferulic; dan campuran glukosa, arabinosa dan asam glukuronat(Spr et al., 2015). Pada bagian daun ditemukan juga adanya senyawa golongan alkaloid, terpenoid, dan steroid (Wahyudi, 2016).

Alkaloid adalah salah satu jenis zat tanaman sekunder. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai agen antibakteri. Mekanisme yang diharapkan adalah dengan cara mengganggu komponen Peptidoglikan dalam sel bakteri untuk mencegah lapisan dinding sel Sepenuhnya terbentuk, menyebabkan kematian sel tersebut (B. Kurniawan & Aryana, 2015).

Terpenoid yang terkandung pada tumbuhan juga dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri, antijamur serta untuk kesehatan lainya (B. Kurniawan & Aryana, 2015). Mekanisme terpenoid sebagai agen antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin. Kerusakan porin, yang merupakan pintu gerbang senyawa, mengurangi permeabilitas dinding

sel bakteri, menghilangkan nutrisi sel bakteri, menghambat pertumbuhan bakteri, atau membunuhnya (Yaqin dkk., 2014).

d. Manfaat Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr)

Daun Simba tasik memiliki kaya akan manfaat, rasa daun yang panit, pedas dan juga segar menjadi ciri khas dari tanaman tersebut. Daun Simba tasik banyak mengandung kalium, sedikit natrium dan alkaloid. Memiliki banyak manfaat seperti penghilang rasa sakit (analgesik), obat bisul, borok berair, cacingan, rematik dan luka (Nasrudin dkk., 2017).

2.1.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan zat target dan zat yang tidak bermanfaat yang mana teknik pemisahan berdasarkan dari distribusi zat terlarut antara 2 pelarut atau lebih yang saling bercampur. Biasanya, zat terlarut yang diekstrak bersifat tak larut/ sedikit larut pada suatu pelarut, namun mudah larut dengan pelarut yang lainnya (harbone, 1987).

Metode ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan mengguankan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisa. Ada beberapa cara ekstraksi yang dapat digunakan, pemilihan metode ini dilakukan dengan memerhatikan sifat dari senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Hanani, 2014).

Ada banyak keseimbangan yang harus dilakukan ketika memilih metode ekstraksi, termasuk metode ekstraksi yang mempengaruhi hasil ekstraksi yang

diperoleh. Proses ekstraksi dingin dimaksudkan untuk mengekstrak senyawa peka panas yang ditemukan di simplisia (Marjoni, 2016).

Adapun cara ekstraksi antara lain :

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses yang sederhana yaitu dengan menggunakan pelarut dan pengadukan beberapa kali dalam suhu kamar. Metode yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu metode maserasi, digunakan metode maserasi karena mudah dan sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam, saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. Ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

2. Perkolasi

Metode perkolasi serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran dibagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Hanani, 2014).

b. Cara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas.

Metode ekstraksi yang dengan menggunakan panas diantaranya :

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi yang dilakukan dengan cara pemanasan sehingga mencapai titik didih tertentu. Refluks juga disebut dengan ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

1. Soxhlet

Soxhlet adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet.

2. Digestasi

Digesti adalah pengadukan kontinue/ maserasi kinetik pada suhu antara 40-50 derajat.

3. Infusa

Infusa adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C tercapai).

4. Dekokta

Dekokta adalah cara ekstraksi yang hampir sama dengan infusa tetapi perbedaannya terletak pada lamanya waktu pemanasan yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air.

2.1.3 Skrining Fitokimia dan Metabolit Sekunder

Skrining fitokimia atau disebut juga penapisan fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan. Skrining fitokimia tumbuhan

dijadikan informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat didalam suatu tumbuhan. Dalam percobaan ini, skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi tertentu sehingga dapat diketahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Uji skrining fitokimia bersifat kimiawi, tetapi untuk mengetahui adanya minyak atsiri dalam suatu tumbuhan dapat juga diperiksa secara mikroskopik yaitu dengan melihat apakah terdapat kelenjar-kelenjar minyak atsiri atau rambut-rambut kelenjar yang mengandung minyak atsiri, misalnya terdapat pada famili Labiate atau Asteraceae. Sebenarnya, dengan mengetahui sistematika suatu tumbuhan sudah dapat dibuat dugaan mengenai senyawa apa yang terkandung didalam suatu tumbuhan karena banyak famili tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa yang khas, misalnya Solanaceae mengandung alkaloida tropan, famili Rubiaceae mengandung alkaloida golongan purin dan sebagainya.

Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam, yaitu saponin, steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid (Putranti dkk, 2013).

Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan organisme untuk aktivitas tertentu dan sifatnya tidak esensial untuk kehidupannya. Ciri spesifik metabolit sekunder antara struktur kimia beragam, penyebaran relative terbatas, pembentukannya dipengaruhi enzim, dan bahan genetik tertentu, proses biosintesisnya dipengaruhi oleh jumlah dan aktivitas enzim yang merupakan aspek spesialisasi sel dalam proses diferensiasi dan perkembangan organisme

secara keseluruhan. Contohnya : Alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, tanin (Septyaningsih, 2010).

1. Alkaloid

Alkaloid berasal dari suku kata “Alkali” yang berarti bau dan “Oid” yang berarti mirip sehingga pengertian alkaloid adalah senyawa yang mengandung nitrogen bersifat basa dan mempunyai aktivitas farmakologi.. Alkaloid adalah senyawa nitrogen organik, lazimnya bagian cincin heterosiklik, bersifat basa, sering bersifat optis aktif dan kebanyakan berbentuk kristal (Tim Penyusun Penuntun Praktikum Farmakognosi, 2009).

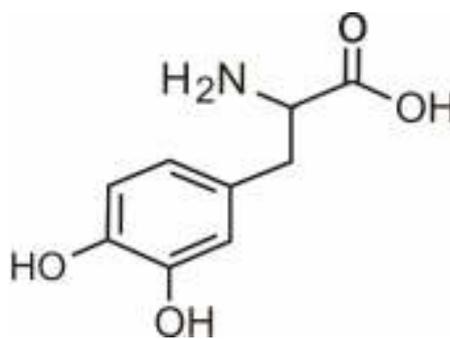
Alkaloid pada umumnya merupakan senyawa padat, berbentuk kristal atau amorf, tidak berwarna dan mempunyai rasa pahit. Dalam bentuk bebas alkaloid merupakan basa lemah yang sukar larut dalam air tetapi mudah larut dalam pelarut organik. Untuk identifikasi biasanya dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Dragendorff*, *Mayer* dan lain-lain. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai aktifitas fisiologi yang menonjol dan digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harbone, 1987).

Pengujian alkaloid Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3 sampai 5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi *Mayer* dan *Dragendorff* masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi *Mayer* memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi *Dragendorff* memberikan endapan berwarna kuning-merah.

Beberapa sifat alkaloid adalah:

- a. Alkaloid yang berbentuk cair adalah konini, nikotin, dan sparteine.
- b. Umumnya mengandung atom nitrogen dari asam amino.
- c. Biasanya dalam bentuk bubuk kristal atau amorf.
- d. Pada tumbuhan, itu ada dalam bentuk bebas, dalam bentuk N-oksida, atau dalam bentuk garamnya.
- e. Umumnya memiliki rasa pahit.
- f. Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air, tetapi larut dalam kloroform, eter, dan pelarut organik lain yang relatif tidak beracun.
- g. Alkaloid dalam bentuk garam mudah larut dalam air.
- h. Alkaloid bebas bersifat basa karena adanya pasangan elektron bebas pada atom N.

Alkaloid dapat membentuk endapan dengan bentuk iodide dari Hg, Au dan logam berat lainnya (dasar untuk identifikasi alkaloid). (Harborne, 1987)

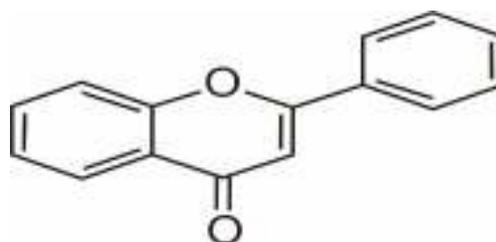


Gambar 2. Struktur Kimia Alkaloid

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol alam dan suatu golongan metabolit sekunder yang tersebar merata di dalam tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar yang terdiri dari 15 atom C, 2 cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propan (C_3) yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga, sehingga membentuk suatu konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, susunan dari senyawa tersebut dapat menghasilkan 3 jenis struktur. Beberapa fungsi flavonoid adalah pengatur tumbuh, pengaruh fotosintesis, bekerja sebagai mikroba dan antivirus. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang tersebar merata dalam dunia tumbuh-tumbuhan, termasuk salah satu golongan fenol alam terbesar. Dalam tumbuhan terdapat sebagai campuran dan jarang ditemukan sebagai flavonoid tunggal. Terikat pada gula sebagai suatu senyawa glikosida dan aglikon flavonoid dalam bentuk aglikosida (Harbone, 1987).

Pengujian Flavonoid Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 100 ml air panas, didihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml hcl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

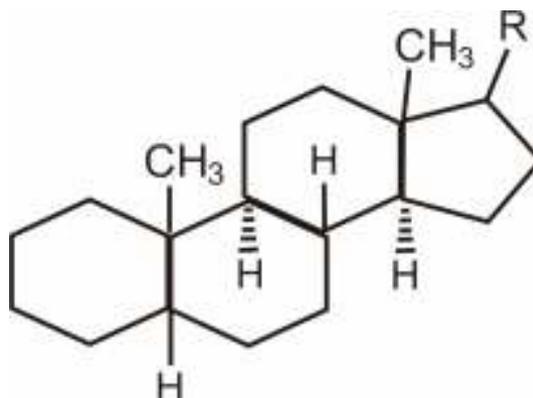


Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid

3. Steroid/Triterpenoid

Steroid adalah suatu kelompok senyawa yang mempunyai kerangka dasar siklopentanaperhidrofenantrena, mempunyai empat cincin terpadu. Senyawa senyawa ini mempunyai efek fisiologis tertentu. Beberapa steroid penting adalah kolesterol, yaitu steroid hewani yang terdapat paling meluas dan dijumpai pada hampir semua jaringan hewan. Batu kandung kemih dan kuning telur merupakan sumber yang kaya akan senyawa ini. Hormon seks yang dihasilkan terutama dalam testes dan indung telur adalah suatu steroid. Hormon jantan disebut androgen dan hormon betina estrogen, dan hormon kehamilan progestin.

Pengujian Steroid/Triterpenoid Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan 2 tetes H_2SO_4 . Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu. (Harborne, 1987)



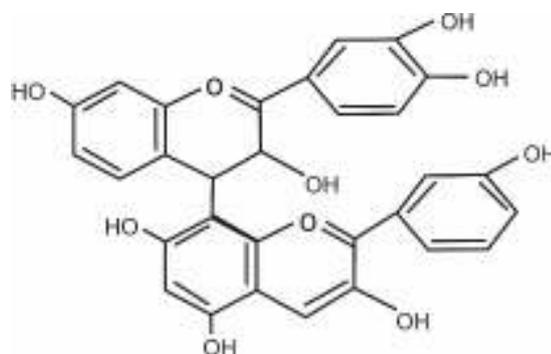
Gambar 4. Struktur Kimia Steroid

4. Tanin

Tanin ialah suatu senyawa metabolit (hasil dari metabolisme) sekunder dari beberapa tanaman. Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Tanin pada dasarnya merupakan senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar serta terdiri dari gugus hidroksi (-OH) dan karboksil (-COOH). Senyawa tanin terbagi menjadi dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis diprekursor oleh asam dehydroshikimic, sedangkan tanin kondensasi disintesis dari prekursor flavonoid.

Tanin berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Dalam dunia kesehatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, mengobati ambeien, dan menghentikan pendarahan. Selain daun, tanin biasanya terdapat pada beberapa bagian tanaman, seperti: buah, kulit, dahan dan batang tanaman.

Uji Tanin Beberapa ml ekstrak daun (kering dan segar) tanaman patikan emas dan bawang laut, ditambahkan dengan 10 tetes $FeCl_3$ 10%. Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Harborne, 1987)

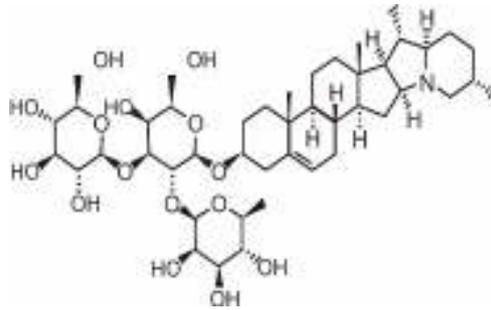


Gambar 5. Struktur Kimia Tanin

5. Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harbrone,1996). Saponin merupakan golongan senyawa alam yang rumit, yang mempunyai massa dan molekul besar, dengan kegunaan luas. Saponin diberi nama demikian karena sifatnya menyerupai sabun “Sapo” berarti sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dengan air. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Dikenal juga jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai spirotekal. Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim (Robinson,1995).Senyawa saponin dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan pereaksi *liebermann-Burchard*.Warna biru-hijau menunjukkan saponin, steroida, dan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan saponin triterpenoida.

Pengujian Saponin Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 ml air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes hcl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin. (Harborne, 1987)



Gambar 6. Struktur Kimia Saponin

2.1.4 Mekanisme Ekstrak Daun Simba Tasik Sebagai Antibakteri

Ekstrak daun Simba tasik mengandung senyawa kimia steroid, alkaloid, terpenoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Nasrudin dkk., 2017). Alkaloid adalah salah satu jenis zat tanaman sekunder. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai agen antibakteri. Mekanisme yang diharapkan adalah dengan cara mengganggu komponen Peptidoglikan dalam sel bakteri untuk mencegah lapisan dinding sel Sepenuhnya terbentuk, menyebabkan kematian sel tersebut(B. Kurniawan & Aryana, 2015).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Yaqin dkk., 2014).

2.2 Antibakteri

a. Pengertian antibakteri

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana karena materi genetik tidak diselubungi oleh selaput inti. Antibakteri adalah suatu golongan senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Sebagian bakteri memiliki ukuran diameter yang berbeda-beda. Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama. Ini disebut dengan pembelahan biner (Locke *et al.*, 2012).

b. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan penentuan diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram/*paper disc* yang telah di rendam direndam dengan bahan uji pada permukaan media yang telah diolesi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan disekitar disk. Zona hambat kemudian diukur dengan menggunakan zona *reader* atau jangka sorong *digital* dalam satuan mm (Tuntun, 2016).

c. Uraian Mikroba Uji

1. *Staphylococcus aureus*



Gambar 7. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Karimela dkk., 2017)

a. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Kingdom : Monera

Divisi : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Bacillales*

Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*(H. S. Putri, 2017)

b. Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, Gram positif, non motil, tidak membentuk spora, beberapa strain yang langsung diambil dari penderita membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada blood

agar, dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (pada media MSA berwarna kuning) (Hanna Shofiana Putri, 2017).

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperatur kamar (20°C– 35°C). Koloni pada media yang padat akan berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau-kilau, membentuk berbagai pigmen berwarna kuning keemasan.

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik (Helina, 2015). Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi yang terjadi misalnya keracunan makanan karena *Staphylococcus*, salah satu jenis faktor virulensi yaitu *Staphylococcus enterotoxin* (Ses). Gejala keracunan makanan akibat *Staphylococcus* adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang di ikuti oleh diare (Karimela dkk., 2017).

c. Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri memiliki 3 mekanisme kerja. Mekanisme kerja yang pertama adalah dengan menghambat biosintesis dinding sel bakteri, seperti sefalosporin, penisilin, basitrasin dan sikloserin. Mekanisme kerja yang kedua adalah dengan meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma bakteri, seperti basitrasin, sefalosporin dan sikloserin. Mekanisme kerja yang ketiga adalah dengan

mengganggu sintesis protein normal bakteri, seperti kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin dan aminoglikosida (Mutschler, 1986 : 634-635).

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Hal tersebut penting dalam patogenesis infeksi, yaitu merangsang pembentukan interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi opsonik, juga dapat menjadi penarik kimia (kemotraktan) leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Hanna Sofiana Putri, 2017).

d. Metode Pengujian Antibakteri

Metode yang digunakan dalam menguji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode yaitu metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu:

a. Metode Difusi

- 1) Metode cakram (paper disc) Cara ini paling sering digunakan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap berbagai jenis obat. Dengan menggunakan kertas saring cakram (paper discs) yang berfungsi sebagai tempat menyerap zat antimikroba. Kertas saring kemudian ditempatkan pada lempeng agar yang diinokulasi dengan organisme uji dan diinkubasi selama waktu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimal untuk organisme uji. Umumnya, hasil dapat diamati setelah 18-24 jam inkubasi

pada 37°C. Hasil yang diperoleh dinyatakan dengan ada tidaknya daerah bening di sekitar kertas cakram, menunjukkan zona yang menghambat pertumbuhan bakteri (Muharni dkk., 2017).

- 2) Metode parit (ditch) lempeng agar yang diinokulasi dengan bakteri uji. Parit berisi agen antimikroba dan diinkubasi untuk waktu dan suhu optimal yang sesuai untuk organisme uji. Pengamatan dilakukan berupa ada tidaknya pembentukan zona hambat di sekitar parit (Aulia Najiya, 2021).
- 3) Cara Sumuran (*hole/cup*) Pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dan diisi dengan agen antibakteri uji. Setiap lubang kemudian diisi dengan bahan uji. Pengamatan dilakukan dengan memeriksa ada tidaknya zona hambat di sekitar sumuran setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai untuk organisme uji.

b. Metode Dilusi

Prosedur ini dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dengan media agar dan menginokulasikannya dengan organisme uji. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan atau pertumbuhan nonmikroba dalam media. Aktivitas antimikroba ditentukan dengan mempertimbangkan konsentrasi hambat minimum (KHM). Ini adalah konsentrasi terendah antimikroba yang diuji yang masih memiliki efek penghambatan pada pertumbuhan bakteri uji. Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu:

1. Pengenceran Serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan serangkaian tabung reaksi yang diisi dengan berbagai konsentrasi inokulum dan larutan antimikroba. Zat

yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan secara berurutan dalam media cair, diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi selama waktu dan suhu yang sesuai untuk bakteri uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM).

2. Penipisan Lempeng Agar

Zat antimikroba diencerkan dalam media agar dan dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah membekukan agar, diinokulasi dengan bakteri dan dikultur untuk waktu dan suhu yang ditentukan. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Prayoga.,2013).

e. **Media *Nutrient Broth* (NB) Dan *Nutrient Agar* (NA)**

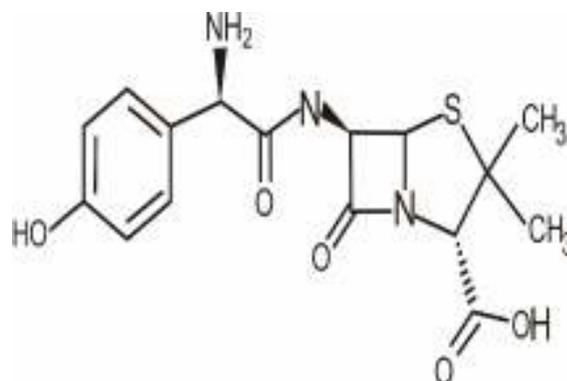
Kultivasi mikroba dilakukan dengan berbagai media pertumbuhan. Media pertumbuhan terdiri dari beberapa macam seperti media pertumbuhan *universal* atau umum hingga media selektif diferensial. *Nutrient Broth* (NB) termasuk ke dalam media umum yang digunakan untuk menumbuhkan biakan secara general. NB diformulasikan dengan sumber karbon dan nitrogen supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi NB terdiri dari *beef extract* sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

Nutrient agar merupakan suatu medium yang berbentuk padat, yang merupakan perpaduan antara bahan alamiah dan senyawa-senyawa kimia. Nutrient agar terbuat dari campuran ekstrak daging dan pepton dengan menggunakan agar sebagai pematat. Dalam hal ini agar digunakan sebagai

pemadat, karena sifatnya mudah membeku dan mengandung karbohidrat yang berupa galaktam sehingga tidak mudah diuraikan oleh mikroorganisme. Dalam hal ini ekstrak beef dan pepton digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang (Fatmariza dkk., 2017)

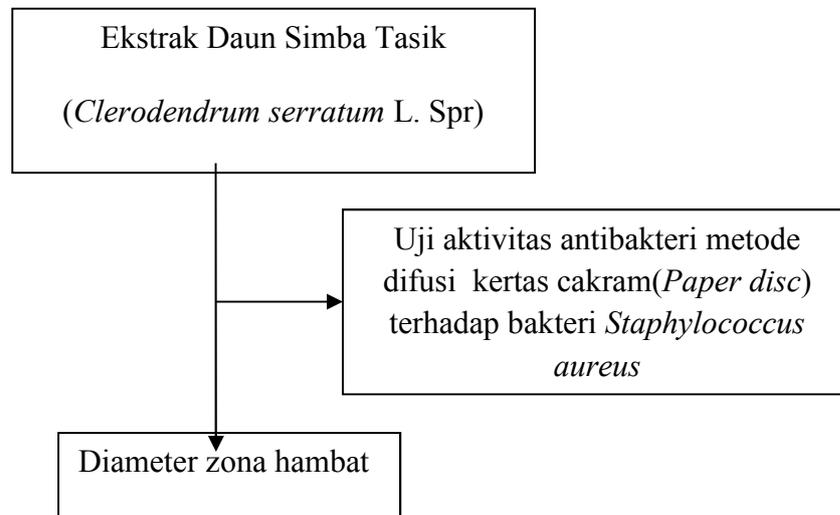
f. Antibiotik Amoxicillin

Amoksisilin merupakan antibiotik β -lactam yang berspektrum luas dan sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, seperti infeksi telinga, pneumonia, faringitis streptokokus, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, infeksi Salmonella, infeksi Chlamydia dan penyakit Lyme (Maida & Lestari, 2019).



Gambar 8. Stuktur Kimia Amoxicillin

2.2 Kerangka Konsep



Gambar 9. Kerangka Konsep Penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Farmakologi STIKES Al-Fatah Kota Bengkulu.

3.1.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2022

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, neraca analitik, kertas perkamen, sendok tanduk, batang pengaduk, *hot plate*, kapas, inkubator, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, bunsen, *autoclave*, spatel, tissue, kertas cakram, pinset, gelas beker, jangka sorong digital, *handscoon*, masker, erlenmeyer 250 ml, dan, lampu bunsen, *Laminar Air Flow (LAF)*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Simba tasik yang diperoleh dari daerah Semidang alas seluma, Ekstrak daun Simba tasik, bakteri *Staphylococcus aureus*, Nutrien Agar (NA), *Nutrien Broth* (NB), aquadest, Amoxicilin, alkohol, Spritus.

3.3 Prosedur Kerja penelitian

3.3.1 Verifikasi Tanaman

Verifikasi ini dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan. Verifikasi dilakukan dilaboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

3.3.2 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Simba tasik yang diperoleh dari daerah Semidang alas seluma sebanyak 7000 gram sampel basah.

3.3.3 Pengelolaan Sampel

a. Pengumpulan Sampel

Preparasi sampel dari daun yang masih segar pada saat pagi hari saat proses fotosintesis berlangsung, bagian yang diambil daun yang bagus tidak digigit hama seperti ulat dan daun yang berwarna hijau, daun ini dipetik dengan tangan.

b. Sortasi Basah

Sampel daun Simba tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr), kemudian dilakukan pemisahan dari kotoran zat asing, ranting, daun yang berbeda atau tanaman lain serta tanah yang menempel pada tanaman.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih atau air mengalir agar sampel yang digunakan bersih dari kotoran yang melekat.

d. Perajangan

Perajangan dilakukan dengan menggunakan pisau yang tajam tidak tumpul guna agar zat karat tidak menempel pada sampel yang akan digunakan. Perajangan ini dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku agar mudah kering dalam proses pengeringan.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 6 hari dari berat daun Simba tasik sebanyak 7000 gr dan berat kering yang didapatkan sebanyak 700 gram

f. Sortasi Kering

Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda asing yang masih tertinggal pada simplisia setelah proses pengeringan.

g. Penyimpanan

Penyimpanan simplisia yang sudah kering disimpan dalam wadah tertutup rapat agar mutu simplisia tetap terjaga dan tidak tercampur dengan simplisia yang lain.

3.3.4 Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu maserasi dengan merendam serbuk daun Simba tasik (*Clerodendrum Serratum* L.Spr) 700 gram sampel kering kedalam etanol 96% 7000 ml. Maserasi dilakukan dalam botol gelap yang tertutup selama 2-5 hari dengan sesekali dilakukan pengocokan kemudian ekstrak disaring untuk mendapatkan ekstrak cair. Ekstrak yang didapat dipekatkan dengan *Rotary Evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental.

3.3.5 Evaluasi Ekstrak

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat fisik berupa bau, warna, konsistensi dari ekstrak daun Simba tasik (*Clerodendrum serratum* L.Spr). Pemeriksaan ini dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, dan bau (Depkes, 2000).

b. Rendemen

Tujuan rendemen untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang diperoleh}} \times 100\%$$

3.3.6 Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sampel 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambah 1 ml HCl 2 N dan 9 ml aquadest, kemudian dipanaskan di atas waterbath dalam waktu 2-3 menit. Dinginkan larutan sampel kemudian saring filtrate. Hasil filtrate ditampung pada tiga tabung reaksi berbeda. Filtrat ditambahkan larutan Mayer, larutan Bouchrat, dan larutan Dragendrof. Positif alkaloid setelah penambahan larutan Mayer, Bouchard, dan Dragendrof secara berturut-turut adalah terbentuk endapan putih, jingga, coklat sampai hitam (Marliana, 2005).

2. Uji Flavonoid

Sampel 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Dimasukkan 2 mL methanol P. tambahkan 0,5 gram serbuk Zn dan 2 mL HCl 2 N. Tabung dikocok secara vertical kemudian diamkan selama 1 menit. Sampel positif flavonoid apabila terjadi perubahan warna merah bata, jingga, atau kuning (Abd.Malik, 2014).

3. Uji Fenol

Sampel 1 gram ditambahkan dengan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Perubahan warna biru tua atau hijau tua menandakan sampel positif fenol (Syafitri, 2014).

4. Uji Steroid/Triteponoid

Sampel 50 mg ekstrak dilarutkan dalam kloroform. Ditambahkan 0,5 mL larutan asam asetat anhidrida dan 2 mL H_2SO_4 . Hasil positif terpenoid dan steroid adalah warna merah dan warna hijau kebiruan (Syafitri, 2014).

5. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 gram ditambahkan 10 mL akuades kemudian dididihkan. Setelah dingin filtrat ditambahkan 5 mL FeCl_3 1 % (b/v). Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua, berarti sampel mengandung tanin (Syafitri, 2014).

6. Uji Saponin

Pada uji saponin, parameter yang dilihat adalah terjadinya pembentukan busa pada sampel setelah penambahan aquadest panas dan busa tetap dalam keadaan stabil setelah penambahan 1 tetes HCl 2 N (Syafitri, 2014).

3.3.7 Persiapan Sampel Uji Aktivitas Antibakteri

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) yang telah diekstraksi dengan menggunakan *Rotary evaporator*.

3.3.8 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas dan media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15-20 menit (sterilisasi basah) (Toy *et al.*, 2015). Sedangkan untuk jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar diatas api langsung menggunakan Spritus, atau direndam dalam alkohol 70% selama 10 detik untuk menghindari kontaminasi (Kasi dkk., 2015).

3.3.9 Pembuatan Media

Media Nutrien Agar (NA) sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer 250ml lalu dilarutkan dengan menggunakan 100 ml aquadest, kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas hot plate sambil dihomogenkan dengan menggunakan batang pengaduk, setelah homogen erlemeyer ditutup dengan kapas serta alumunium foil. Kemudian media tersebut disterilisasikan dengan *autoclaf* pada suhu 121 °C selama 15 menit (Maida & Lestari, 2019).

3.3.10 Peremajaan Mikroba Uji

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* masing - masing sebanyak satu ose diinokulasikan kedalam media agar miring *Nutrient Agar* (NA) yang telah membeku secara terpisah dan aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan

pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zigzag. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam (Putri dkk., 2021).

3.3.11 Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan mengambil satu jarum ose bakteri uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan *Nutrient Broth* (NB) hingga homogen kemudian diinkubasi selama 1x 24 jam (Maida & Lestari, 2019).

3.3.12 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Dan Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr)

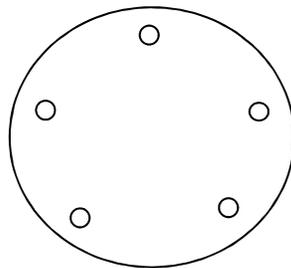
Kontrol positif dibuat dengan sediaan tablet obat Amoxicilin. Pembuatan larutan kontrol positif yaitu dengan menggunakan amoxicillin 100mg/ml (10%) dilarutkan dengan aquadest (Hidayah dkk., 2017). konsentrasi ekstrak daun Simba tasik yang digunakan yaitu 30%, 40% dan 50% .

3.3.13 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi, menggunakan kertas cakram. Media NA yang telah dipanaskan dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 15 ml kemudian tunggu sampai media sedikit dingin setelah itu suspensi bakteri uji secara merata kemudian *paper discs* direndam dalam ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) selama 15 menit, kemudian diletakkan pada permukaan media yang telah membeku, jarak antara satu dengan yang lainnya 2-3 cm dipinggir cawan petri. Media yang telah diisi sediaan uji kemudian diinkubasi pada

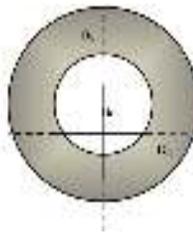
suhu 37° C. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada jam ke-24 (Kursia dkk., 2016)

Berikut adalah gambar uji aktivitas antibakteri dari ekstrak Daun Simba Tasik (*Clerodendrum serratum* L. Spr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 10. Pembagian Daerah Metode Difusi Paper Disk Pada Bakteri *staphylococcus aureus*

3.3.14 Rumus Perhitungan Daya Hambat



Gambar 11. Pengukuran Diameter Zona Hambat (Toy dkk., 2015)

Diameter zona hambat dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan :

DV = Diameter Vertikal (mm)

DH = Diameter Horizontal (mm)

DC = Diameter Kertas Cakram (mm)

3.3.15 Pengamatan dan pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1 x 24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter kertas cakram 6 mm. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan (Toy dkk., 2015)

3.3.16 Kategori Zona Hambat

Kekuatan daya hambat diketahui dengan mengukur diameter zona bening disekitar kertas cakram, kategori daya hambat bakteri dapat ditentukan dengan melihat tabel dibawah ini :

Tabel I. Kriteria Kekuatan Antibakteri (Ariyani dkk., 2018)

No.	Luas Zona hambat	Kekuatan
1.	Zona Hambat > 20 mm	Daya Hambat Sangat Kuat
2.	Zona Hambat 10 – 20 mm	Daya Hambat Kuat
3.	Zona Hambat 5 – 10 mm	Daya Hambat Sedang
4.	Zona Hambat 0 – 5 mm	Daya Hambat Lemah

3.3.17 Analisis data

Data yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan tabel berdasarkan perbandingan dari tabel diameter zona hambat kemudian dideskripsikan dalam bentuk narasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd.Malik F, Waris R. *Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba. J Fitofarmaka Indonesia*. 2014;1(1):1–5. 53.
- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani Da, R., & Ma'arif Za, B. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96 % Buah Blewah (Cucumis Melo L. Var. Cantalupensis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 5(1), 61–66.
- Ariyani, H., Nazemi, M., & Kurniati, M. (2018). *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (Citrus Hystrix Dc) Terhadap Beberapa Bakteri (The Effectiveness Of Antibacterial The Citrus Lime Peel Extract (Citrus Hystrix Dc) Of Some Bacteria)*. 2(1), 136–141.
- Aulia Najiya, P. S. (2021). *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cengkih (Syzygium Aromaticum (L.) Merr. & Lm Perry) Sebagai Hand Sanitizer Alami Dalam Menghambat Bakteri Staphylococcus Aureus*. Universitas Siliwangi.
- Bs, P., Hegde, P. L., & Harini, A. (2015). Pharmacological Review On Clerodendrum Serratum Linn. Moon. *Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*, 3(5), 126–130.
- Fatmariza, M., Inayati, N., & Rohmi. (2017). Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 4(2), 69–73.
- Handayani, F., Warnida, H., & Nur, S. J. (2016). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Streptococcus Mutans Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam (Syzygium Polyanthum (Wight) Walp.). *Media Sains*, 9(April), 74–84.
- Helina, N. (2015). *Isolasi Dan Identifikasi Staphylococcus Aureus Dari Susu Mastitis Subklinis Di Tasikmalaya, Jawa Barat*. 1(Winarso 2008), 413–417.
- Hidayah, N., Mustikaningtyas, D., & Bintari, S. H. (2017). Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia Sargassum Muticum Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus. *Life Science*, 6(2), 49–54.
- Indriani, N. (2007). Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (Clerodendron Serratum L. Spr). In *Thesis*.
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Characteristics Of Staphylococcus Aureus Isolated Smoked Fish Pinekuhe From Traditionally Processed From Sangihe District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 188.

- Kasi, Y. A., Posangi, J., Wowor, O. M., & Bara, R. (2015). Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Daun Mangrove *Avicennia Marina* Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus Aureus* Dan *Shigella Dysenteriae*. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1).
- Kurniawan, A. H., & Tadashi, Y. (2020). *The Correlation Between Knowledge With Community Behavior In Antibiotic Use In Kelurahan Petukangan Utara With Home Pharmacy Care Pendahuluan Penyakit Infeksi Di Indonesia Masih Termasuk Dalam Sepuluh Penyakit Terbanyak , Dikarenakan Kurangnya Pengetahuan*. 10(2), 139–150.
- Kurniawan, B., & Aryana, W. F. (2015). Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of *Escherichia Coli* Growth. *Faculty Of Medicine Lampung University*, 4(4), 100–104.
- Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, W. O. R., & Nursamsiar. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology*, 3(2), 72–77.
- Locke, T., Keat, S., Walker, A., Mackinnon, R., & Read, R. C. (2012). Microbiology And Infectious Diseases On The Move. *Microbiology And Infectious Diseases On The Move*, 1–242.
- Maida, S., & Lestari, K. A. P. (2019). Aktivitas Antibakteri Amoksisilin Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Pijar Mipa*, 14(April), 33–35.
- Merdana, I Made. (2010). (*Antibacterial Bioactivity Test Of Traditional Herb*). 2(1), 51–56.
- Muharni, M., Fitriya, F., & Farida, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi Di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 127–135.
- Nasrudin, Wahyono, Mustofa, & Asmah, R. (2017). Hepatoprotective Activity Of Ethyl Acetate Fraction Of Senggugu's Root Bark (*Clerodendrum Serratum* L. Moon) On Rats Induced By Carbon Tetrachloride. *Indonesian Journal Of Pharmacy*, 28(1), 10–18.
- Putri, H. S. (2017). Sensitivitas Bakteri *Staphylococcus Aureus* Isolat Dari Susu Mastitis Terhadap Beberapa Antibiotika. *Skrripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga*, 1–34.
- Putri, N. A. A., Triatmoko, B., & Nugraha, A. S. (2021). *Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Senggugu (Rotheca Serrata (L.) Steane & Mabb) Terhadap Staphylococcus Aureus*. 18(01), 1–9.

- Syafitri NE, Bintang M, Falah S. Current Biochemistry Current Biochemistry Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Curr Biochem.* 2014;1(3):105–15.
- Toy, T. S. S., Lampus, B. S., & Hutagalung, B. S. P. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria* Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *E-Gigi*, 3(1).
- Tuntun, M. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 7(3), 497.
- Wahyudi, I. E. Dan A. (2016). *Uji Fitokimia Untuk Mengetahui Kandungan Senyawa Organik Pada Akar, Daun, Dan Batang Tumbuhan Senggugu (Clerodendron Serratum Spreng)*. 6(July), 1–23.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Pada Media *Nutrient Broth* Dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 7(2), 7–9.
- Yaqin, A., Munawaroh, R., & D.K, I. T. (2014). Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol- Air Dan Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis Vinifera* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Multiresisten. *Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta*, 12(4), 564–582.