

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAN SENYAWA AKTIF
DAUN KARDIA (*Bellucia pentamera* Naudin) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Sains
pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya



**YUNITA SARI
08041281320005**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDRALAYA
2017**

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAN SENYAWA AKTIF
DAUN KARDIA (*Bellucia pentamera* Naudin) TERHADAP
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi

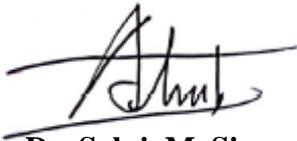
OLEH:

**YUNITA SARI
08041281320005**

Indralaya, Mei 2017

Mengetahui,

Pembimbing I



Dr. Salni, M. Si.
NIP. 196608231993031002

Pembimbing II



Dra. Nina Tanzerina, M. Si.
NIP. 196402061990032001



Ketua Jurusan Biologi
Dr. Munawar, M. Si.
NIP. 196805211993031003

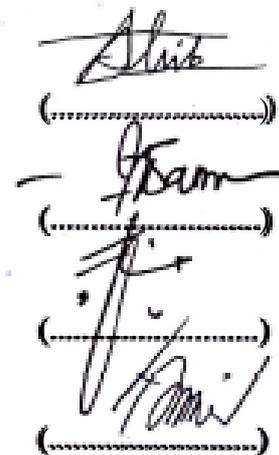
HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa Skripsi ini dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal Mei 2017.

Indralaya, Mei 2017

Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Berupa Skripsi :

1. Dr. Salmi, M.Si.
NIP. 196608231993031002
2. Dra. Nina Tanzerina, M.Si.
NIP. 196402061990032001
3. Drs. Hanifa Marisa, M.S.
NIP. 196405291991021001
4. Dr. Marieska Verawaty, M.Si.
NIP. 196909141998032002



Mengetahui,

Dekan FMIPA

Prof. Dr. Iskhag Iskandar, M.Sc
NIP. 197210041997021000

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Munawar, M.Si
NIP. 196005211993031003

LEMBAR PERSEMBAHAN

“I know that You can do all things, and that no purpose of Yours can be thwarted” (Job 42:2)

*“Commit your work to the Lord,
and your plans will be established “ (Proverbs 16:3)*

Motto:

*“The 3 C’s in life: Choice, Chance, Change.
You must make the Choice, to take the Chance,
if you want anything in life to Change”*

Kupersembahkan karya ini untuk,

Tuhan Yesusku

Kedua orang tuaku tercinta (Suparno dan Merry)

Kakak dan adikku (Devi dan Ricky)

Kedua dosen pembimbingku (Dr. Salni, M. Si.

dan Dra. Nina Tanzerina, M. Si.)

Dosen dan guruku

Rempong’s dan Bioer’s 13

Almamaterku



HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yunita Sari
NIM : 08041281320005
Judul : Uji Aktivitas Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Menyatakan bahwa Skripsi saya merupakan hasil karya sendiri didampingi tim pembimbing dan bukan hasil penjiplakan atau plagiat. Apabila ditemukan unsur penjiplakan atau plagiat dalam laporan skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.



Indralaya, Mei 2017



Yunita Sari
NIM. 08041281320005

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIK

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Yunita Sari
NIM : 08041281320005
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (*non-ecclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul “Uji Aktivitas Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”. Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit atau memformatkan, mengolah dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis atau pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sepenuhnya.

Indralaya, Mei 2017

Yang menyatakan



Yunita Sari

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan YME, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”**. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si.) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Penulis menyadari sepenuhnya dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapat bantuan, dukungan, motivasi, dan bimbingan dari semua pihak sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Salni, M. Si. dan Ibu Dra. Nina Tanzerina, M. Si. selaku dosen pembimbing atas kesabaran dan pengertiannya dalam memberikan masukan, nasihat, bantuan, dan saran kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis juga menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ishaq Iskandar, M. Sc. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, Indralaya.
2. Bapak Dr. Munawar, M. Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, Indralaya.
3. Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M. Si. selaku Sekretaris Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, Indralaya.
4. Ibu Dra. Nita Aminasih, M. P. selaku Dosen Pembimbing Akademik, terima kasih atas perhatian, nasihat, dan bimbingan yang telah diberikan selama ini.
5. Bapak Drs. Hanifa Marisa, M. S. dan Ibu Dr. Marieska Verawati, M. Si.. selaku dosen pembahas, terima kasih atas bimbingan, masukan, saran, serta waktu yang diberikan kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Pengajar dan Karyawan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya, terima kasih atas bimbingan dan bekal ilmu yang telah diberikan.

7. Kedua Orang Tuaku, Bapak Suparno dan Ibu Merry tercinta, terima kasih atas doa, kasih sayang, perhatian, kesabaran, semangat, dan dukungan yang selalu ada untuk penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studi di Jurusan Biologi ini, juga kepada kakakku, Devi dan adikku Ricky yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang, dan perhatian kepada penulis.
8. The Rempong's (Dini, Helen, Lilis, Lydia, Nurlela, Oksa, Rahmi) terima kasih atas kerempongan, kebersamaan, semangat, dukungan, dan canda tawanya.
9. Teman-teman seperjuanganku Fily, Lilis, Nurlela, Rahma, Tria, terima kasih atas kerja sama, bantuan, perhatian, dan kebersamaannya.
10. Seluruh keluarga Bioer's angkatan 2013, terima kasih atas kebersamaan, kekeluargaan, semangat, dan canda tawa yang selalu ada selama ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini

Indralaya, Mei 2017

Penulis

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Karya Tulis Ilmiah berupa Skripsi, Mei 2017.

Yunita Sari; dibimbing oleh Dr. Salni, M. Si. dan Dra. Nina Tanzerina, M. Si.

Antibacterial Activity Test of Fraction and Active Compounds of Kardia Leaves (*Bellucia pentamera* Naudin) Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

x+44 halaman, 4 tabel, 10 gambar, 6 lampiran

Kasus infeksi yang terjadi di Indonesia cukup tinggi, yaitu menyumbang 10% dari permasalahan penyakit infeksi di Asia Tenggara. Beberapa mikroba yang menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli* pada saluran pencernaan dan *Staphylococcus aureus* pada kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri Fraksi dan Senyawa Aktif dari daun kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Penelitian dilakukan pada bulan November sampai Desember 2016. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi dengan maserasi, fraksinasi dengan FCC, aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar, dan isolasi senyawa aktif dengan kromatografi kolom. Bakteri uji yang digunakan yakni *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil penelitian diperoleh fraksi metanol air dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Konsentrasi Hambat Minimum terhadap *E. coli* adalah 125 µg/ml dan *S. aureus* adalah 500 µg/ml. Hasil pemurnian senyawa aktif didapatkan isolat M₁₅ yang diduga merupakan senyawa tanin dengan nilai *R_f* 0,125. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari senyawa aktif terhadap *E. coli* adalah 62,5 µg/ml dan terhadap *S. aureus* adalah 62,5 µg/ml

Kesimpulan daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) memiliki senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Diduga senyawa antibakteri yang terkandung adalah tanin.

Kata Kunci : Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin), Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, KHM.

Kepustakaan : 55 (1986-2017).

SUMMARY

Antibacterial Activity Test of Fraction and Active Compounds of Kardia Leaves (*Bellucia pentamera* Naudin) Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

A paper's scientific in the form a Skripsi, May 2017.

Yunita Sari; supervised Dr. Salni, M. Si. and Dra. Nina Tanzerina, M. Si.

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Sriwijaya University, Indralaya.

x+44 pages, 4 tables, 10 pictures, 6 attachments.

Cases of infection occur in Indonesia is quite high, which accounted for 10% of the problems of infectious diseases in Southeast Asia. Some of the microbes that cause infections are *Escherichia coli* in the digestive tract and *Staphylococcus aureus* of the skin. This research aims to determine the antibacterial activity of Fraction and Active Compounds from Kardia's leaves (*Bellucia pentamera* Naudin) against *E. coli* and *S. aureus*. This research has been held on November and December 2016.

The method in this research applied extraction by maceration, fractionation by liquid fractionation (FCC), antibacterial activity using agar diffusion method, and the isolation of the active compound by column chromatography. Bacteria used in this research were *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923.

The results of this reseach showed the ability of the methanol water fraction that can inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus*. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) from fraction of methanol water on *E. coli* was 125 µg/ml and *S. aureus* was 500 µg/ml. The result of the purification of the active compound obtained M₁₅ isolate thought to be tannins compound with *Rf* value was 0,125. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of active compounds on *E. coli* was 62,5 µg/ml and *S. aureus* was 62,5 µg/ml.

The conclusion of this research was leaves of Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) has antibacterial compounds which could inhibiting the growth of *E. coli* and *S. aureus*. Allegedly contained antibacterial compounds are tannins.

Keyword : *Bellucia pentamera* Naudin, Antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, MIC.

Citations : 55 (1986-2017)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Masalah	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Tumbuhan Kardia (<i>Bellucia pentamera</i> Naudin)	6
2.2. Penyakit Infeksi	8
2.3. <i>Escherichia coli</i>	9
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.5. Senyawa Antibakteri Tumbuhan Genus <i>Bellucia</i>	11
2.5.1. Flavonoid	11
2.5.2. Terpenoid	12
2.5.3. Tanin	12
2.6. Antibakteri	12
2.7. Mekanisme Kerja Antibakteri	13
2.8. Ekstraksi, Fraksinasi, Kromatografi Lapis Tipis, Uji Bioautografi	15
2.9. Konsentrasi Hambat Minimum	16
BAB 3 METODE PENELITIAN	18
3.1. Waktu dan Tempat	18
3.2. Alat dan Bahan	18
3.3. Cara Kerja	18
3.3.1. Pembuatan Simplisia Daun Kardia (<i>Bellucia pentamera</i> Naudin)	18
3.3.2. Pembuatan Media	19
3.3.3. Peremajaan dan Persiapan Kultur <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.3.4. Ekstraksi	19
3.3.5. Fraksinasi	20

3.3.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi.....	20
3.3.7. Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Aktif	20
3.3.8. Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif	21
3.3.9. Pemurnian Senyawa Aktif	21
3.3.10. Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum Senyawa Aktif	22
3.3.11. Variabel Pengamatan	22
3.3.11.1. Diameter Zona Hambat.....	22
3.3.11.3. Penyajian Data	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Ekstraksi Daun Kardia (<i>Bellucia pentamera</i> Naudin)	24
4.2. Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia	25
4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kardia terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	26
4.4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	28
4.5. Uji Bioautografi dan Penentuan Senyawa Aktif.....	31
4.6. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Aktif	32
4.7. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Senyawa Aktif.....	33
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Tumbuhan Kardia (<i>Bellucia pentamera</i> Naudin).....	7
2.2. <i>Escherichia coli</i>	9
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.4. Mekanisme penghambatan sintesis dinding sel bakteri	13
2.5. Mekanisme penghambatan sintesis protein sel bakteri	14
4.1. Perbedaan zona hambat dari fraksi daun kardia terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	27
4.2. Perbedaan zona hambat dari konsentrasi fraksi metanol air terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.3. Hasil uji bioautografi fraksi metanol air	31
4.4. Hasil uji aktivitas antibakteri eluat hasil kromatografi kolom terhadap <i>Escherichia coli</i>	33
4.5. Perbedaan zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi senyawa aktif (isolat M ₁₅) terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia (<i>Bellucia pentamera</i> Naudin)	24
4.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Daun Kardia terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	27
4.3. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Eluat Hasil Kromatografi Kolom Terhadap <i>Escherichia coli</i>	33
4.5. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dari Senyawa Aktif terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Koordinat Pengambilan Sampel	42
Lampiran 2. Ekstraksi	42
Lampiran 3. Fraksinasi	42
Lampiran 4. Uji Aktivitas Fraksi dan KHM Fraksi Aktif	42
Lampiran 5. Uji Bioautografi dan Penentuan Senyawa Aktif.....	43
Lampiran 6. Pemurnian Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif.....	43

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara berkembang yang memiliki masalah kesehatan yang cukup tinggi. Salah satu masalah kesehatan yang dominan di Indonesia adalah penyakit infeksi dan diikuti oleh penyakit degeneratif yang dipengaruhi oleh gaya hidup. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroba, baik mikroba yang merupakan *strain* lama maupun mikroba *strain* baru (Soebandrio, 2012). Permasalahan kasus infeksi terjadi di seluruh dunia, namun 10% permasalahan penyakit infeksi di Asia Tenggara diperoleh oleh Indonesia (WHO, 2005). Infeksi merupakan suatu proses masuknya mikroorganisme dalam tubuh, baik yang patogen maupun non-patogen yang berhasil melakukan invasi serta hidup di dalamnya (Bauman, 2012).

Mikroorganisme penyebab penyakit infeksi yakni bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Beberapa contoh bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi yaitu *Clostridium botulinum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Shigella shigae*, *Staphylococcus aureus*, (Suriawiria, 1986). Penggunaan antibiotik sudah umum dalam mengatasi infeksi, hanya saja penggunaan yang tidak sesuai membuat beberapa mikroorganisme menjadi resisten. Salah satu contohnya yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi resisten terhadap hampir semua antibiotik atau dikenal sebagai MRSA yang dalam pengobatannya hanya terbatas pada 3 antibiotik yaitu vancomycin, linezolid, dan daptomycin (Crossley, 2009).

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada manusia, namun dapat menyebabkan penyakit infeksi. *Staphylococcus aureus* umumnya dapat dijumpai pada lapisan luar epidermis, hidung, dan tenggorokan. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi karena menghasilkan enterotoksin serta menyebabkan pembentukan nanah pada luka sehingga sering ditemui pada kulit, selaput lendir, bisul-bisul, dan luka. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk basil yang terdapat

pada kolon manusia namun dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, kram perut, dan diare (Irianto, 2006).

Antibiotik umumnya digunakan dalam mengatasi infeksi oleh bakteri. Namun, penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping seperti menyebabkan bakteri menjadi resisten sehingga penggunaan antibiotik akan menjadi tidak efektif. Antibiotik alternatif terus dicari dan dikembangkan untuk menghadapi bakteri yang resisten. Selain itu, pencarian antibiotik alternatif ini diharapkan akan mendapatkan senyawa antibiotik lainnya yang memiliki efektivitas yang lebih baik (Rinawati, 2010).

Bakteri yang resisten terhadap antibiotik tertentu akan menyebabkan meningkatnya angka kesakitan dan angka kematian sehingga diperlukan antibiotik lain untuk mengatasinya. Antibiotik ini kemungkinan mempunyai efek samping yang lebih banyak serta biaya yang lebih mahal. Tumbuhan memiliki beberapa senyawa yang bersifat antibakteri dan dapat digunakan sebagai antibiotik (Rinawati, 2010). Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia sudah dimulai sejak tahun 1940. Selama 63 tahun, penggunaan antibiotik semakin luas dan mengakibatkan meluasnya potensi resistensi bakteri. Sebagai contoh bakteri yang mengalami resisten terhadap antibiotik adalah *Meticillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) (Amin, 2013).

Penelitian terhadap tumbuhan yang mengandung senyawa antibakteri banyak dilakukan. Hal ini dilakukan dalam rangka mencari antibiotik alternatif yang dapat digunakan dalam mengobati penyakit infeksi akibat bakteri. Tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat umumnya memiliki khasiat dalam mengobati penyakit-penyakit tertentu sehingga dapat dikatakan tumbuhan tersebut memiliki potensi menghasilkan senyawa antibiotik. Selain itu, sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan obat tradisional dalam pengobatannya. Menurut data WHO (2013), banyak negara di Asia tetap menggunakan obat tradisional sebagai pencegahan penyakit hingga pengobatan penyakit kronis meskipun pengobatan *allopathic* tersedia.

Obat tradisional cenderung menggunakan bagian-bagian tumbuhan yang dianggap memiliki khasiat untuk mengobati penyakit. Padahal, hanya zat-zat tertentu pada tumbuhan tersebut yang memiliki khasiat sebagai obat, termasuk

pula senyawa antibakteri. Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan tersebut dapat diketahui dengan melakukan proses pemisahan yang diawali dengan proses fraksinasi atau ekstraksi cair-cair. Fraksinasi ini dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Cara pemisahan ini menggunakan dua macam pelarut yang tidak bercampur, contohnya air (polar) dengan heksana atau kloroform (nonpolar) atau dengan pelarut organik lain (Hanani, 2016).

Fraksi dinamakan berdasarkan pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi mewakili beberapa sifat polaritas, seperti n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar), serta metanol dan air (polar). Fraksi yang mengandung senyawa antibakteri berbeda-beda pada tiap tumbuhan. Menurut penelitian Purwanto (2015), fraksi aktif daun senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli* yakni fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Sedangkan pada penelitian Niswah (2014), fraksi etil asetat buah pari-joto (*Medinilla speciosa*) mempunyai daya hambat lebih besar terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan fraksi n-heksana dan fraksi metanol.

Pemanfaatan senyawa antibakteri dari tumbuhan juga belum sepenuhnya efektif karena selain dalam penggunaannya belum diketahui secara jelas senyawa golongan apa yang berkhasiat sebagai antibakteri, besarnya nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri juga belum diketahui. Senyawa antibakteri yang akan digunakan sebagai antibiotik harus terlebih dahulu diketahui nilai KHM-nya. Hal ini dilakukan untuk menghindari kekebalan mikroorganisme terhadap antibiotik tertentu. Karena hal ini pula yang membuat para peneliti mencari jenis antibiotik baru (Irianto, 2006).

Tumbuhan dapat menghasilkan metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan sebagainya yang dapat memiliki fungsi sebagai antibakteri. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit infeksi adalah daun kardia (*Bellucia pentamera* Naudin). Tumbuhan kardia ini banyak digunakan oleh masyarakat Etnis Meranjat Desa Bangun Jaya Kecamatan Tanjung Batu, Ogan Ilir sebagai obat infeksi atau penurun panas.

Tumbuhan kardia termasuk ke dalam famili Melastomataceae. Tumbuhan dari famili Melastomataceae banyak yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat di beberapa daerah. Menurut Albertus *et al.* (2015), tumbuhan obat

dari famili Melastomataceae yang dimanfaatkan di Desa Mandong yaitu cengkodok (*Melastoma malabathricum*) sebagai obat tekanan darah tinggi dan luka serta jambu monyet (*Anacardium occidentale*) yang digunakan sebagai obat sakit maag. Selain itu, menurut Suryaningsih *et al.* (2010), daun senggani (*Melastoma candidum* D. Don.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Bacillus licheniformis*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan yaitu sebagai berikut:

1. Jenis fraksi manakah dari ekstrak daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapa nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) fraksi aktif dan senyawa aktif dari ekstrak daun Kardia dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
3. Golongan senyawa antibakteri manakah yang terdapat dalam fraksi aktif daun Kardia yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui fraksi dari ekstrak daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi aktif dan senyawa aktif daun Kardia terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
3. Mengetahui golongan senyawa antibakteri yang terdapat dalam fraksi aktif daun Kardia yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi ilmiah mengenai fraksi dan senyawa aktif antibakteri dari ekstrak daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) serta Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak sehingga dapat dijadikan sebagai sumber senyawa antibakteri yang baru dan dapat diaplikasikan dalam bidang fitofarmaka.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Tumbuhan kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili Melastomataceae. Tumbuhan kardia merupakan pohon yang dapat mencapai 3-8 meter dan diameternya dapat mencapai 20 cm. Kulit batang berwarna coklat keabu-abuan sampai kehitaman yang beralur dan bertajuk renggang dengan cabang dan ranting yang ramping dan melengkung membentuk payung (Renner, 1986). Daun kardia berupa daun tunggal yang letaknya berhadapan, permukaan daunnya kasar, berbentuk elips dengan ujung meruncing, pertulangan daun melengkung (*curvinervis*), helai daun berukuran panjang ± 35 cm dan lebar ± 25 cm, serta mempunyai tepi daun yang bergerigi kecil (Tjitrosoepomo, 2012).

Bunga kardia merupakan bunga banci berbentuk lonceng dengan kuncup bunga berukuran ± 20 mm dengan lebar ± 14 mm dan kelopak yang pangkalnya berlekatan membentuk tabung. Kelopak berbentuk segitiga dengan ukuran 6-7 mm, jumlah daun kelopak sama dengan jumlah mahkota, mahkota berwarna putih, benang sari berjumlah 2 kali jumlah daun mahkota dengan kepala sari yang besar seperti sabit berwarna kuning dan berbaris membentuk lingkaran, putik dengan tangkai berwarna putih dan tampak di atas barisan kepala sari (Renner, 1986).

Menurut Nurainas (2016), klasifikasi tumbuhan kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Famili : Melastomataceae
Genus : *Bellucia*
Spesies : *Bellucia pentamera* Naudin

Tumbuhan kardia disebut juga jambu tangkalak memiliki beberapa nama daerah, diantaranya jambu marekan di Kalimantan Barat (Iwan, 2010) dan jamolok di Jawa Barat.



**Gambar 2.1 Tumbuhan Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)
(Dokumen pribadi 2016); Coronado, 2016)**

Tumbuhan kardia termasuk dalam famili Melastomataceae. Tumbuhan yang tergolong dalam famili Melastomataceae pada umumnya berpotensi sebagai antibakteri, misalnya harendong bulu (*Clidemia hirta*), seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Fendiyanto *et al.*, (2014), ekstrak etanolnya memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Salmonella typhii* dan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, pada penelitian Sari *et al.* (2015), ekstrak etanol batang *Melastoma malabathricum* mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhii* sehingga menjadi alternatif antibakteri dalam menangani penyakit gangguan pencernaan.

Bagian tanaman harendong bulu yang sering digunakan sebagai obat adalah daunnya. Daun harendong yang diremas dan ditempelkan pada bagian yang sakit dapat digunakan untuk mengobati penyakit luka atau borok sehingga dapat dikatakan daun harendong memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Streptococcus aureus* (Permana, 2009).

Tumbuhan dari genus *Bellucia* yang telah dijadikan subjek penelitian fitokimia yaitu *Bellucia pentamera* dan *Bellucia grossularioides*. Kedua tanaman ini digunakan sebagai obat tradisional sebagai obat cacingan, keputihan, dan peradangan akibat penumpukan nanah. Dalam penggunaannya sebagai obat tradisional, belum ada laporan yang mengatakan efek toksisitas dari penggunaan *Bellucia* sehingga tumbuhan ini tetap digunakan dalam pengobatan tradisional.

Selain itu, kayu *Bellucia* sangat berguna untuk konstruksi dan peralatan furniture. Buah dari *Bellucia* umumnya dimakan oleh manusia maupun hewan-hewan pemakan buah (Martins *et al.*, 2016).

2.2. Penyakit Infeksi

Infeksi merupakan proses invasi dan multiplikasi mikroorganisme ke dalam suatu jaringan tubuh, di mana mikroorganisme tersebut menggunakan sarana yang dimiliki inang untuk memperbanyak diri. Infeksi terjadi bila parasit itu sanggup mengadakan penetrasi atau melalui pertahanan inang dan hidup di dalamnya. Mikroorganisme ini dapat berupa bakteri, jamur, protozoa, maupun virus. Sumber infeksi dapat berupa faktor biotik dan abiotik, dimana patogen pada kondisi sesuai mampu hidup dan bermultiplikasi dapat berasal dari manusia, hewan, air, tanah, maupun dari makanan. Penyakit infeksi diderita oleh masyarakat di seluruh dunia baik penyakit ringan seperti penyakit influenza, diare, gatal-gatal, hingga penyakit mematikan seperti sifilis, herpes, gonorrhea, dan masih banyak lagi (Harti, 2012).

Penyakit infeksi dapat terjadi karena terjadinya pemindahan mikroorganisme ke tubuh inangnya. Hal ini dapat terjadi karena terjadinya kontak langsung atau dengan bantuan vektor luar seperti bahan (makanan, air, susu), benda (tangan, tempat tidur, mainan, alat makan), atau arthropoda tertentu yang terkontaminasi atau mengandung bahan infeksi tersebut. Perpindahan mikroorganisme di luar tubuh inangnya mengalami banyak hambatan seperti sinar matahari, kekeringan. Mikroorganisme dapat mengadakan infeksi dengan mencari tempat masuk yang sesuai pada tubuh inang dan inang tersebut harus sensitif terhadapnya (Irianto, 2006).

Infeksi dari patogen ke tubuh inangnya dapat melalui beberapa cara, yaitu melalui membran mukosa, kulit, dan parenteral. Infeksi pada membran mukosa dapat terjadi melalui penetrasi pada membran mukosa dari saluran nafas, saluran cerna, saluran urogenital, dan conjunctiva. Infeksi pada kulit dapat melalui bagian terbuka dari kulit seperti folikel rambut, kelenjar rambut seperti infeksi cacing tambang atau infeksi jamur. Infeksi melalui parenteral contohnya tusukan, infeksi gigitan, luka, atau pembedahan (Harti, 2012).

2.3. *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Brenner *et al.* (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli termasuk dalam genus *Escherichia* yang terdiri dari 4 spesies, dimana ada yang berwarna dan ada yang tidak serta bersifat saproba. *Escherichia coli* terkenal sebagai penghuni usus tebal (kolon) dan merupakan salah satu parameter biologis pencemaran air. *Escherichia coli* termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang memiliki bentuk basil, bergerak dengan menggunakan flagel peritrika dan ada juga yang tidak bergerak, merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri dari famili Enterobacteriaceae dapat menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas (Irianto, 2006).



Gambar 2.2 *Escherichia coli* (Carr, 2016)

Escherichia coli berbentuk batang dengan panjang 2,5 μm dan diameter 0,8 μm , dengan ujung melengkung berbentuk *hemispherical*. *Escherichia coli* memiliki organel eksternal yakni filamen yang lurus dan tipis yang disebut fili yang dapat menangkap substrat yang spesifik serta filamen heliks panjang dan tebal yang disebut flagela yang memungkinkannya untuk berenang. *E. coli* hidup

di usus hewan homoiterm, termasuk manusia, dapat hidup dengan atau tanpa oksigen dan dapat bertahan hingga menemukan inangnya (Berg, 2003).

Escherichia coli termasuk flora normal tubuh manusia khususnya berada didalam usus bagian bawah. *Escherichia coli* tidak berbahaya didalam usus tetapi bila memasuki kandung kemih akan menyebabkan sistitis, yakni suatu peradangan pada selaput lendir kandung kemih. *Escherichia coli* umumnya berada di dalam usus menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri-bakteri usus yang patogenetik (Bauman, 2012).

2.4. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Brenner *et al.* (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Baciliales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk kokus, Gram positif yang tertata dalam gerombolan seperti anggur. *Staphylococcus aureus* bersifat nonmotil, bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif. *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan koagulase. Bakteri ini merupakan flora normal yang ada pada manusia, khususnya terdapat pada kulit sehingga bakteri ini dapat dijumpai pada selaput hidung, kulit, kantung rambut, bisul-bisul, dan luka-luka. *Staphylococcus aureus* umumnya membentuk koloni pada permukaan sel-sel yang mati (Irianto, 2006).



Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* (Carr, 2016)

Staphylococcus aureus termasuk dalam genus *Staphylococcus* yang memiliki diameter 0,7-1,2 μm . Bakteri genus *Staphylococcus* tumbuh dengan cepat pada kondisi aerob dan terdapat CO_2 . Koloni dari *Staphylococcus aureus* merupakan β -hemolitik, yakni dengan memproduksi α -toksin, β -toksin, γ -toksin, dan δ -toksin (Crossley *et al*, 2009). *Staphylococcus aureus* termasuk famili Micrococcaceae dengan ciri sel tunggalnya berbentuk bola, tidak berspora. Genus *Staphylococcus* terdiri dari dua spesies, kelompok berupa untaian dan berwarna kuning serta bersifat saproba atau patogen (Bauman, 2012).

2.5. Senyawa Antibakteri Tumbuhan Genus *Bellucia*

Penelitian tentang senyawa yang terkandung dalam tumbuhan genus *Bellucia* belum banyak ditemukan. Salah satu penelitian diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam tumbuhan genus *Bellucia* yakni flavonoid, terpenoid, tanin terkondensasi, dan tanin terhidrolisis (Serna dan José, 2015). Bagian kulit batang tumbuhan genus *Bellucia* terdapat tanin. Salah satu tumbuhan dari genus *Bellucia* yakni *Bellucia grossularioides* diketahui buahnya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacingan dan daunnya dapat dimanfaatkan sebagai obat keputihan. Tanaman yang mengandung tanin dalam Ayuverda digunakan untuk penyakit leukorea, rinorea, dan diare (Hanani, 2016).

2.5.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang secara alami terdapat pada produk tumbuhan sebagian besar fenol dalam keadaan bebas atau terikat dengan

glikosida. Flavonoid biasanya mengandung warna kuning (*flavous* dalam bahasa latin berarti warna kuning). Menariknya, lebih dari 2000 kandungan kimia yang telah diisolasi, diidentifikasi, dan dilaporkan berasal dari tumbuhan. Struktur kimianya memiliki dasar C6-C3-C6 rantai karbon dengan cincin piran atau kroman yang melekat pada cincin benzen kedua yang berada pada posisi C-2, C-3 atau C-4. Di alam dapat ditemukan berupa flavon, flavan, flavonol, isoflavon, dan antosianidin (Kar, 2007).

2.5.2. Terpenoid

Terpenoid umumnya didefinisikan sebagai produk yang terdapat secara alami dimana strukturnya dianggap terbagi menjadi beberapa unit isoprene, oleh karena itu senyawa ini selalu disebut sebagai isoprenoid. Beberapa referensi lama menyebut terpenoid sebagai terpen. Setiap unit dasar terpen memiliki lima karbon dengan dua ikatan tak jenuh dan memiliki rantai bercabang. Terpenoid biasanya memiliki jumlah unit isopren yang bergabung di bagian kepala ke arah ekor. Terpenoid umumnya diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isopren yang terdapat dalam molekul terpenoid hidrokarbon tak jenuh (Kar, 2007).

2.5.3. Tanin

Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Malangngi *et al.*, 2012).

2.6. Antibakteri

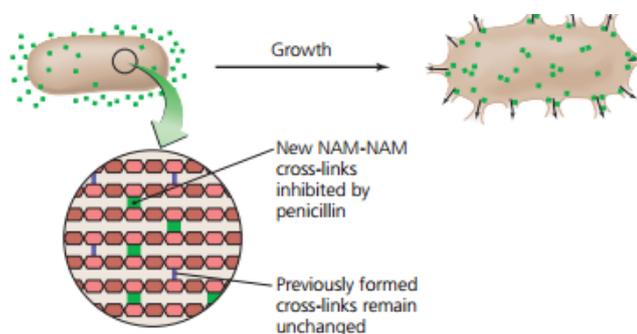
Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antifungal, antiviral, antiprotozoan, dan antihelminthic. Antibakteri merupakan senyawa yang dapat

mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan cara kerjanya, yakni menghambat sintesis dinding sel (penicillin, monobactam, cephalosporin), menghambat sintesis protein (tetrasiklin, chloramfenikol, erythromycin), kerusakan membran plasma (polymixin B, amphoterin B, neomycin), penghambatan sintesis asam nukleat (rifamycin, quinolone, dan fluoroquinolone), atau penghambatan sintesis metabolit esensial yaitu golongan sulfat (Harti, 2012).

2.7. Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

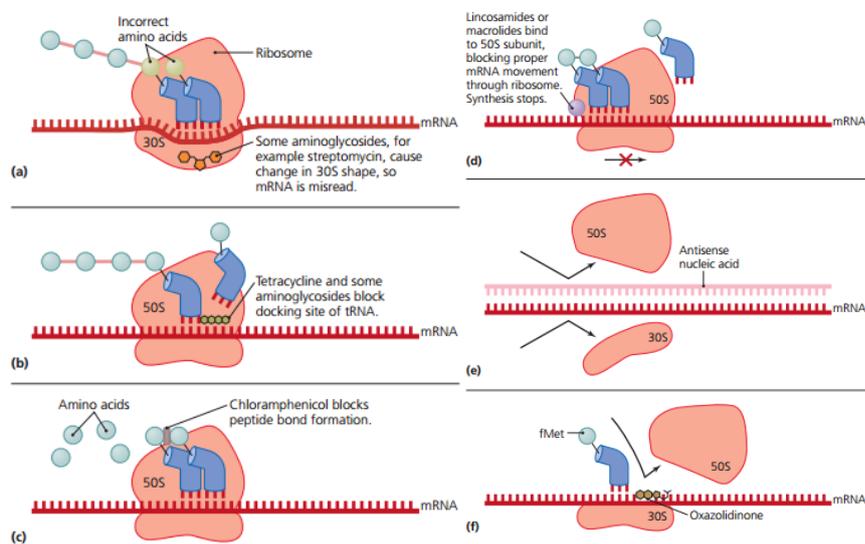
Setiap senyawa antibakteri memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Beberapa cara kerja antibakteri antara lain dengan penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat (DNA/RNA), atau penghambatan sintesis metabolit esensial (Bauman, 2012).

Senyawa antibakteri yang memiliki sasaran dalam penghambatan sintesis dinding sel terjadi pada tahap awal sintesis peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan makromolekul yang tersusun dari rantai polisakarida dengan *N-acetylglucosamine* (NAG) dan *N-acetylmuramicacid* (NAM). Antara NAM dan NAM dihubungkan oleh ikatan silang (*cross-link*) dan dapat dihambat oleh senyawa antibakteri sehingga dinding sel bakteri lemah dan lisis. Selain itu, cincin *beta-lactam* pada senyawa antibakteri dapat menyebabkan enzim menjadi *irreversible* sehingga mengganggu pembentukan peptidoglikan, atau adanya kesamaan bentuk dengan D-alanin yang mengakibatkan sel bakteri kehilangan D-alanin dalam pentapeptida dari peptida (Irianto, 2006).



Gambar 2.4. Mekanisme penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Bauman, 2012)

Penghambatan sintesis protein oleh senyawa antibakteri dapat terjadi dengan beberapa mekanisme seperti merubah bentuk subunit 30S yang menyebabkan ketidakcocokan pasangan antara antikodon tRNA dengan kodon mRNA; memblokir situs docking tRNA (*A site*) pada subunit 30S sehingga mencegah elongasi protein; memblokir aktivitas enzimatis pada subunit 50S sehingga mencegah pembentukan ikatan peptida antara asam amino; mengikat subunit 50S sehingga mencegah pergerakan ribosom di sepanjang mRNA; asam nukleat antisense mengikat mRNA sehingga memblokir subunit ribosom; atau dengan menghambat inisiasi translasi dimana tRNA antikodon harus sejajar dengan kodon CUG (Bauman, 2012).



Gambar 2.5. Mekanisme penghambatan sintesis protein sel bakteri (Bauman, 2012)

Beberapa aktivitas enzimatis pada bakteri dapat dihambat secara kompetitif oleh substansi (antimetabolit) yang mirip dengan substrat untuk enzim sehingga sintesis substrat pada bakteri terhambat dan pertumbuhan terhenti. Contoh penghambatan kompetitif antara antimetabolit sulfanilamide (golongan sulfa) dan PABA (*para-aminobenzoic acid*) pada bakteri. PABA pada beberapa bakteri merupakan substrat untuk reaksi enzimatis dalam sintesis asam folat, sebagai vitamin yang berfungsi sebagai koenzim untuk sintesis basa purin dan pirimidin dalam asam nukleat dan asam amino. Adanya sulfanilamide menyebabkan enzim yang mengubah PABA menjadi asam folat, berikatan dengan antibiotik sebagai ganti PABA sehingga sintesis asam folat dan pertumbuhan berhenti (Harti, 2012).

Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) diantaranya dengan menghambat enzim yang berperan dalam menggulung atau menguraikan DNA dalam replikasi DNA bakteri (DNA girase), atau dengan mengikat dan menghambat kerja dari RNA polimerase dalam sintesis RNA dari suatu DNA template. Selain itu dapat pula dengan menghambat replikasi dan transkripsi bakteri (Bauman, 2012).

2.8. Ekstraksi, Fraksinasi, Kromatografi Lapis Tipis, Uji Bioautografi

Ekstraksi merupakan proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri (Marjoni, 2016).

Maserasi adalah salah satu cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel terjadi pada maserasi sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Selain itu terdapat pula pengembangan dari maserasi, diantaranya kinetik dan digesti. Kinetik merupakan metode ekstraksi seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yakni 40-60°C (Hanani, 2016).

Fraksinasi merupakan proses memisahkan ekstrak yang telah didapatkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dilakukan karena ekstrak yang didapatkan masih merupakan campuran dari berbagai senyawa dan ekstrak sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi

kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker *et al.*, 2006).

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri atas dua fase atau lebih. Salah satu fase bergerak secara bersinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya, zat-zat terlarut menunjukkan perbedaan mobilitas yang disebabkan oleh perbedaan adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul, atau kerapatan muatan ion. Berdasarkan fase gerak yang digunakan, kromatografi dapat dibedakan menjadi dua golongan besar, yaitu kromatografi gas dan kromatografi cair (Harmita. 2015).

Kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah silika lapis tipis atau alumina yang ditempatkan pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Alumina ini berfungsi sebagai fase diam dan sering ditambahkan bahan-bahan yang dapat berpendar pada sinar ultraviolet. Fase gerak untuk kromatografi lapis tipis berupa pelarut atau campuran pelarut yang sesuai dengan bahan yang akan dipisahkan. Keunggulan KLT yaitu mampu memisahkan campuran senyawa menjadi senyawa murninya, waktu analisis cepat, memerlukan bahan yang sedikit, dapat digunakan untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom (Marjoni, 2016).

Bioautografi merupakan metode yang digunakan untuk mendeteksi terdapatnya senyawa antibiotik dengan cara menanamkan lempengan kromatogram ke dalam medium yang berisi biakan bakteri. Terdapatnya senyawa antibiotik ditandai dengan terbentuknya zona hambat dari bakteri yang ditandai dengan warna yang lebih cerah atau bening (Sherma dan Fried, 2003). Jarak hambat senyawa pada kromatogram dinyatakan dengan nilai *R_f* (*retardation factor*). Nilai ini diperoleh dengan mengukur jarak hambat senyawa dari titik awal hingga pusat bercak dibagi dengan jarak rambat fase gerak hingga garis depan (Hanani, 2016).

2.9. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum merupakan konsentrasi terendah dari suatu zat antibakteri yang masih mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan suspensi bakteri. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum ada dua cara, yaitu

pengujian dalam lempeng medium pembiakan (difusi agar) dan cara pengenceran dalam tabung pembiakan (dilusi). Metode yang sering digunakan adalah metode difusi agar. Metode difusi agar ini dilakukan dengan penanaman kertas cakram pada medium agar yang telah diberi suspensi bakteri yang akan diuji, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Konsentrasi terendah dari zat antibakteri pada medium yang menunjukkan zona hambat adalah KHM dari zat antibakteri terhadap bakteri yang diuji (Irianto, 2006).

Konsentrasi senyawa dan kekuatan senyawa berbanding terbalik dalam pengujian KHM. Konsentrasi yang rendah yang didapat dalam pengujian KHM menunjukkan semakin kuat senyawa tersebut. Konsentrasi senyawa berbanding lurus dengan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk. Kekuatan suatu senyawa antibakteri juga dapat ditunjukkan dengan seberapa besarnya diameter zona hambat yang terbentuk (Bailey dan Scott's, 2007).

KHM ditujukan untuk menghindari terjadinya resistensi bakteri terhadap senyawa antibiotik tertentu. Peningkatan nilai KHM menggambarkan tahap awal bakteri menuju resisten. Resistensi adalah kemampuan bakteri untuk menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Hal ini dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu merusak antibiotik dengan enzim yang diproduksi, mengubah reseptor titik tangkap antibiotik, mengubah fisiko-kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri. Selain itu dapat pula karena antibiotik tidak dapat menembus dinding sel, akibat perubahan sifat dinding sel bakteri atau antibiotik masuk ke dalam sel bakteri, namun segera dikeluarkan dari dalam sel melalui mekanisme transport aktif keluar sel (Sedyaningsih, 2011).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2016 sampai dengan Desember 2016. Pengambilan sampel dilakukan di Desa Bangun Jaya, Kecamatan Tanjung Batu, Meranjat, Ogan Ilir. Penapisan, pengujian ekstrak, dan isolasi senyawa antibakteri dilakukan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, blender, botol selai, botol vial, bunsen, cawan petri, corong gelas, erlemeyer, gelas beker, gelas ukur, gunting, *hair dryer*, *hot plate*, inkubator, jangka sorong, jarum ose, jarum suntikan (*syringe*), kamera, kapas, kertas cakram, kertas saring, Kromatografi Kolom Gravitasi Bumi (KKGB), label, labu pisah, lemari es, *magnetic stirrer*, pinset, pipet kapiler, pipet sirologis, pipet tetes, plat silica gel 60 F₂₄₅, rak tabung reaksi, *rotary vacuum evaporator*, spatula, spidol, tabung reaksi, timbangan analitik, tisu gulung dan *vortex*.

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah Alkohol 70%, *aluminium foil*, aquades, biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, Etil Asetat, larutan DMSO (Dimetilensulfoksida), Metanol, N-heksan, *Nutrient agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), dan simplisia daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin).

3.3. Cara Kerja

3.3.1. Pembuatan Simplisia Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Sampel berupa daun dari tumbuhan Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) dipisahkan dari pengotornya kemudian dijemur hingga kering. Sampel daun

selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk hingga didapatkan ukuran serbuk simplisia yang sesuai.

3.3.2. Pembuatan Media

Medium NA sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan 1000 ml aquades. Medium NB sebanyak 13 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 1000 ml aquades (Merck, 1992). Medium dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* dan untuk menghomogenkan dibantu dengan *magnetic stirrer*. Lalu medium disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

3.3.3. Peremajaan dan Persiapan Kultur *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Peremajaan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan secara aseptis dengan cara diambil sebanyak satu ose, lalu diinokulasikan ke medium NA miring, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Persiapan kultur bakteri uji dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri uji dari medium NA miring, lalu diinokulasikan ke dalam medium NB 5 ml, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Irianto, 2013). Kultur bakteri yang telah berumur 24 jam diukur turbiditasnya menggunakan spektrofotometer untuk dicocokkan dengan turbiditas 0,25 (sama dengan 2.5×10^8 CFU/mL) (Yolanda, 2016) dengan panjang gelombang 600 nm untuk *Escherichia coli* (Myers *et al.*, 2013). Turbiditas diatur dengan cara menambahkan kultur bakteri atau menambahkan medium NB.

3.3.4. Ekstraksi

Simplisia sebanyak 250 gram direndam dengan pelarut metanol selama 2 kali 24 jam dalam erlenmeyer, kemudian disaring dengan menggunakan corong yang dilapisi dengan kertas saring. Ampas dari serbuk simplisia dimaserasi ulang dengan pelarut metanol sampai ekstrak bening atau jernih (minimal diulangi sampai 3 kali pengulangan). Hasil ekstraksi kemudian dimasukkan ke dalam labu

penguap, untuk menguapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50-60°C dan tekanan rendah sekitar 500-700 mmHg (Mardiono, 2013).

3.3.5. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (fraksinasi cair-cair) dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol secara berurutan dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Ekstrak dilarutkan dalam metanol dan air (1:1). Ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam labu pisah, dan ditambahkan n-heksana sebanyak 250 ml (4 kali pengulangan), dihomogenkan secara perlahan-lahan, setelah didiamkan terjadi pemisahan antara fraksi n-heksana dan methanol air. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi metanol air. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan pelarut etil asetat dengan proses yang sama dengan n-heksana. Fraksi n-heksana cair, fraksi etil asetat dan fraksi metanol air diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator*, sehingga diperoleh fraksi kental. Fraksi kental diuapkan dengan menggunakan *hair dryer* sampai diperoleh fraksi kering. Ketiga fraksi yang diperoleh diujikan aktivitas antibakterinya (Retnowati *et al.*, 2015).

3.3.6. Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar. Fraksi yang telah didapatkan masing-masing sebanyak 0,02 gram dilarutkan dalam pelarut DMSO sebanyak 1 ml. Biakan bakteri dimasukkan ke dalam cawan dan dimasukkan medium NA, lalu dihomogenkan. Kertas cakram yang telah dicelupkan ke dalam masing-masing fraksi diletakkan ke dalam cawan yang berisi biakan bakteri dan medium sebanyak 3 kali pengulangan, kemudian diinkubasi selama 2 kali 24 jam. Diameter zona bening diamati menggunakan jangka sorong (Sari *et al.*, 2015).

3.3.7. Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Aktif

Fraksi aktif sebanyak 0,04 gram dibuat berbagai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 4000 µg/ml, 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, sampai didapatkan konsentrasi hambat terkecil, dengan pelarut

yang digunakan adalah DMSO. Suspensi bakteri yang telah disediakan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi sebelumnya sebanyak 0.1 ml, kemudian ditambahkan medium NA 10 ml yang masih dalam keadaan cair, lalu homogenkan dan didiamkan sampai membeku, selanjutnya kertas cakram yang telah dicelupkan dalam konsentrasi fraksi aktif dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi biakan bakteri uji, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 kali 24 jam. Kemudian diamati diameter hambat yang terbentuk, diukur menggunakan jangka sorong. Konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM). Dilakukan 3 kali pengulangan (Tille, 2014).

3.3.8. Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui nilai R_f senyawa aktif antibakteri dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Fraksi aktif ditotolkan pada dua plat KLT kemudian dikembangkan dengan fase gerak yang sesuai untuk pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam fraksi (Sherma dan Fried, 2003). Kromatogram kemudian diletakkan dalam cawan petri yang telah berisi biakan bakteri, bercak-bercak pada kromatogram dijiplak ke cawan petri, kromatogram dibiarkan menempel pada medium selama 1 jam, diangkat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 kali 24 jam. Setelah 2 kali 24 jam diinkubasi, dapat dilihat bercak atau daerah yang berwarna bening merupakan daerah senyawa aktif berada (Tarman *et al.*, 2013).

Kromatogram yang lainnya disemprot dengan H₂SO₄ 2%, kemudian diletakkan di atas *hot plate*. Bercak warna yang muncul diamati dan dihitung nilai R_f dari masing-masing bercak berwarna yang muncul.

3.3.9. Pemurnian Senyawa Aktif

Hasil uji bioautografi diketahui bercak yang menunjukkan ciri-ciri senyawa aktif. Pemurnian senyawa aktif dari fraksi aktif dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi dengan fase diam *silica gel* 60 F₂₄₅, sedangkan fase geraknya adalah campuran etil asetat dan metanol yang kepolarannya dinaikkan secara bertahap. Elusi dilakukan dengan fase gerak pelarut eluen yang sesuai

dengan laju elusi 40 tetes per menit, dengan volume eluat yang ditampung adalah 10 ml. Eluat-eluat yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antibakterinya untuk mengetahui eluat yang mengandung senyawa antibakteri, kemudian senyawa antibakteri yang diperoleh ditentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) nya.

3.3.10. Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Senyawa Aktif

Senyawa aktif hasil pemurnian dibuat berbagai konsentrasi yaitu 4000 $\mu\text{g/ml}$, 2000 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$, 31,25 sampai didapatkan konsentrasi hambat terkecil, dengan pelarut yang digunakan adalah DMSO. Kemudian suspensi bakteri yang telah disediakan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi sebelumnya sebanyak 0.1 ml, kemudian ditambahkan medium NA 10 ml yang masih dalam keadaan cair, lalu homogenkan dan didiamkan sampai membeku, selanjutnya kertas cakram yang telah dicelupkan dalam konsentrasi senyawa aktif dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi biakan bakteri uji, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 kali 24 jam. Kemudian diamati diameter hambat yang terbentuk, diukur menggunakan jangka sorong. Konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM). Pengujian penentuan KHM dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Tille, 2014).

3.3.11. Variabel Pengamatan

3.3.11.1. Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong agar tingkat keakuratannya lebih tinggi. Diameter zona hambat diukur dengan mengukur diameter zona hambat terpanjang dan diameter zona hambat terpendek lalu dicari rata-rata dan simpangan bakunya.

3.3.11.2. Uji Bioautografi

Penentuan golongan senyawa aktif menurut Sherma dan Fried (2013) dilihat dari pengujian dengan menggunakan plat *silica gel* 60 F₂₄₅, berdasarkan warna yang terbentuk, kemudian ditentukan nilai *Retardation factor* (*Rf*).

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

3.3.11.3. Penyajian Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa hasil pengukuran zona hambat disajikan dalam bentuk tabel, sedangkan data berupa zona hambat, KHM, serta *Rf* disajikan dalam bentuk gambar. Data berupa hasil pengukuran dibuat dengan standar deviasi, dimana nilai standar deviasi berasal dari zona hambat yang terbentuk dari hasil fraksinasi dan senyawa aktif yang diperoleh dengan 3 kali pengulangan perhitungan.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Ekstraksi Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Ekstraksi daun kardia dilakukan dengan metode maserasi dimana simplisia sebanyak 250 gram menghasilkan ekstrak dengan berat 83,3 gram dengan persentase berat 33,32%. Setiap tumbuhan memiliki kadar ekstrak yang berbeda-beda. Menurut Singh (2011), ekstrak tumbuhan yang didapat dari simplisia berbeda-beda dalam komposisi, kualitas, dan aktivitasnya meskipun berasal dari spesies yang sama, sehingga diperlukan standarisasi ekstrak untuk mengetahui konsistensi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut yang nantinya berguna untuk keperluan pembuatan obat tradisional.

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang didapat dengan simplisia yang digunakan. Rendemen yang didapatkan nantinya akan digunakan sebagai acuan dalam standarisasi tumbuhan obat. Jumlah rendemen yang didapatkan yaitu sebesar 33,32%. Jumlah rendemen ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Purwanto (2015) tentang daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dimana rendemen yang didapatkan sebesar 30,2%, berbeda dengan penelitian menggunakan tumbuhan lain, seperti pada penelitian Rivai *et al* (2013) yaitu rendemen daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang didapatkan sebesar 19,3046% dan penelitian Tarman *et al* (2013) tentang daun bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) dimana rendemen yang didapatkan sebesar 21,47%.

Jumlah ekstrak yang didapatkan dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti banyaknya simplisia yang digunakan, pelarut yang digunakan, dan kehalusan dari simplisia. Kehalusan simplisia berhubungan dengan luas permukaan simplisia yang bersentuhan dengan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi. Menurut Sapri *et al.* (2014), semakin halus bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sehingga semakin banyak

rendemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi. Ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama karena kecepatan mencapai kesetimbangan sistem juga semakin cepat.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Metode maserasi digunakan dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Metanol digunakan sebagai pelarut dalam maserasi karena dianggap sebagai pelarut universal. Menurut Harborne (2006), alkohol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan karena dianggap dapat menarik hampir semua komponen, baik yang bersifat polar, semi-polar, dan non-polar. Menurut Hanani (2016), proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel terjadi selama maserasi sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang.

Senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia akan larut dalam pelarut selama proses maserasi karena aktivitas dari dari pelarut tersebut. Menurut Purwanto (2015), pelarut yang digunakan selama ekstraksi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan pelarut sehingga larutan yang terpekat akan didesak keluar.

4.2. Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Fraksinasi bertujuan untuk menarik semua senyawa-senyawa kimia dalam tumbuhan berdasarkan kepolaran dari setiap senyawa. Fraksinasi dilakukan karena ekstrak yang didapatkan masih berupa senyawa campuran. Selain itu, tidak semua senyawa yang didapatkan memiliki aktivitas antibakteri. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Hasil dari ekstraksi daun kardia berupa ekstrak cair digunakan sebesar 150 ml untuk fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair (FCC). Hasil fraksinasi setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kardia (*Bellucia pentamera* Naudin)

No.	Pelarut	Berat Fraksi (gram)	Persentase Berat Fraksi (%)
1.	N-heksana	32,4	38,90
2.	Etil asetat	27,6	33,13
3.	Metanol air	23,3	27,97
Total		83,3	100

Keterangan: % Berat Fraksi = $\frac{\text{Berat fraksi (gram)}}{\text{Berat total (gram)}}$

Tabel 4.1. menunjukkan berat dari masing-masing fraksi yang diperoleh berdasarkan dengan pelarut yang digunakan. Berat fraksi yang diperoleh sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi berdasarkan urutan kepolarannya, dimulai dari pelarut n-heksana, dilanjutkan dengan pelarut etil asetat dan metanol air. Fraksi n-heksana memiliki nilai yang paling tinggi dari hasil fraksinasi daun kardia, yaitu sebesar 38,90%, diikuti dengan fraksi etil asetat sebesar 33,13%, dan metanol air sebesar 27,97%. Menurut Purwanto (2015), hasil fraksinasi yang diperoleh menunjukkan nilai yang berbeda-beda dikarenakan perbedaan nilai kepolaran masing-masing golongan senyawa kimia.

Senyawa yang berasal dari tumbuhan memiliki kepolaran yang berbeda-beda yang disebabkan oleh perbedaan struktur dan ikatan kimia yang dimilikinya. Senyawa yang polar dapat diikat oleh pelarut polar dan semipolar seperti metanol dan etil asetat, sedangkan senyawa nonpolar dapat diikat oleh pelarut seperti n-heksana. Menurut Harborne (2006), senyawa fenol seperti flavonoid, tanin, lignin, dan melanin mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidrosil sehingga bersifat polar, sedangkan senyawa terpenoid umumnya mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (hidrosil, karbonil, dll) sehingga bersifat non-polar dan dapat larut dalam lemak atau senyawa non-polar seperti n-heksana dan kloroform.

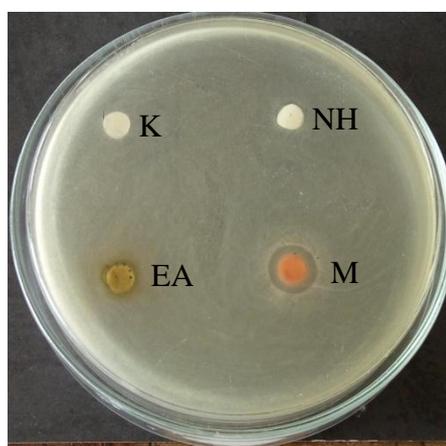
4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun (*Bellucia pentamera* Naudin) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi metanol air, etil asetat, dan n-heksana terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan konsentrasi 4000 $\mu\text{g/ml}$. Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi ini dilakukan untuk menentukan fraksi mana yang aktif dan dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Untuk menentukan fraksi mana yang paling aktif maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari setiap fraksi yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

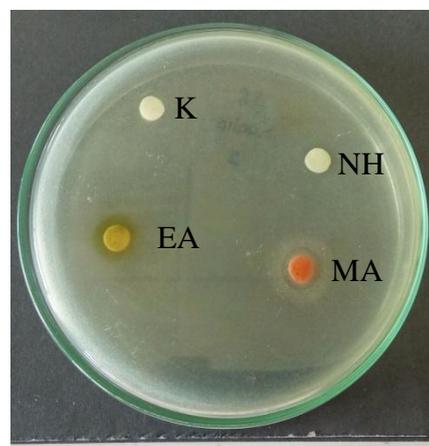
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Daun Kardia Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Fraksi	Konsentrasi (%)	\bar{x} Diameter zona hambat \pm sd (mm)	
			<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
1.	N-heksana	4	-	-
2.	Etil Asetat	4	-	-
3.	Metanol Air	4	12,73 \pm 1,92	8,82 \pm 0,72
4.	Kontrol	0	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Gambar 4.1 Perbedaan zona hambat dari fraksi daun kardia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Keterangan: (NH) N-heksana, (EA) Etil Asetat, (MA) Metanol Air, (K) Kontrol

Berdasarkan hasil Tabel 4.2. dapat diketahui bahwa fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah fraksi metanol air. Zona hambat yang dihasilkan fraksi metanol air terhadap

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah $12,73 \pm 1,92$ dan $8,82 \pm 0,72$. Semakin besar diameter zona hambat maka aktivitas antibakteri semakin kuat. Menurut Nazri *et al.* (2011), bahwa kriteria kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yaitu tidak ada (0 mm), lemah (0-9 mm), sedang (10-14 mm), kuat (15-20 mm). Kekuatan antibakteri fraksi metanol air terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah sedang dan lemah.

Beberapa tumbuhan dari famili Melastomataceae juga telah diteliti dan memiliki aktivitas antibakteri, seperti fraksi metilen klorida *Miconia ligustroides* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus pneumoniae* (Cunha *et al.*, 2010), fraksi metanol air dari *Miconia cabucu* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, dan *Staphylococcus aureus* (Rodrigues *et al.*, 2008). Selain itu, fraksi petroleum eter *Memecylon umbellatum* mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan fraksi eternya mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, dan fraksi kloroformnya mampu menghambat *Bacillus subtilis* (Killedar *et al.*, 2008).

Fraksi aktif yang didapat dari kardia termasuk dalam fraksi metanol air. Beberapa penelitian menunjukkan fraksi aktif dari tumbuhan famili Melastomataceae tidak hanya berupa fraksi metanol air. Berdasarkan beberapa penelitian seperti Purwanto (2015), fraksi aktif *Melastoma malabathricum* L. terhadap *Escherichia coli* adalah fraksi Etil Asetat dan fraksi Metanol air dengan konsentrasi 8000 $\mu\text{g/ml}$ dan diameter zona hambat masing-masing 21,00 mm dan 13,75 mm dimana fraksi Etil Asetat lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Nono *et al.* (2014), ekstrak Etil Asetat *Dissotis thollonii* Cogn. dengan konsentrasi 0,02 $\text{mg}/\mu\text{l}$ memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter $10 \pm 1,00$ mm.

Fraksi metanol air memiliki jumlah yang paling sedikit diantara fraksi lainnya namun justru fraksi metanol air yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan untuk fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah fraksi yang didapatkan dari

proses fraksinasi tidak berkaitan dengan kemampuan suatu fraksi sebagai antibakteri. Senyawa aktif yang dimiliki oleh tiap tumbuhan berbeda-beda jenisnya dan untuk tumbuhan kardia termasuk dalam senyawa yang polar sehingga terdapat di fraksi metanol air.

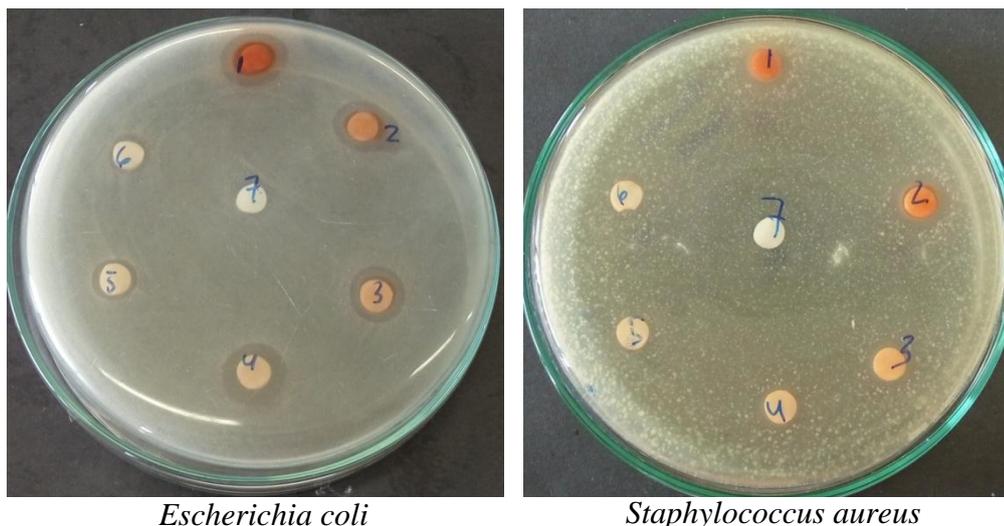
4.4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Fraksi metanol air mempunyai daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri sehingga pengujian penentuan nilai KHM fraksi digunakan fraksi metanol air. Penentuan KHM dilakukan untuk mengetahui sensitivitas dari bakteri terhadap senyawa antibakteri dalam konsentrasi yang paling rendah agar tidak terjadi resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Selain itu, konsentrasi yang paling rendah juga lebih efektif dan ekonomis karena hanya memerlukan bahan senyawa aktif dalam jumlah yang sedikit. Hasil dari pengujian penentuan nilai KHM fraksi metanol air dapat dilihat pada Tabel 4.4. sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air Terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

No.	Konsentrasi Fraksi ($\mu\text{g/ml}$)	\bar{x} Diameter Zona Hambat \pm sd (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	4000	11,37 \pm 1,41	10,34 \pm 0,76
2.	2000	11,21 \pm 0,85	9,43 \pm 1,30
3.	1000	10,32 \pm 0,67	8,13 \pm 0,90
4.	500	8,64 \pm 2,22	7,98 \pm 0,73
5.	250	8,35 \pm 0,58	-
6.	125	7,68 \pm 0,89	-
7.	62,5	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Escherichia coli *Staphylococcus aureus*
 Gambar 4.2 Perbedaan zona hambat dari konsentrasi fraksi metanol air terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

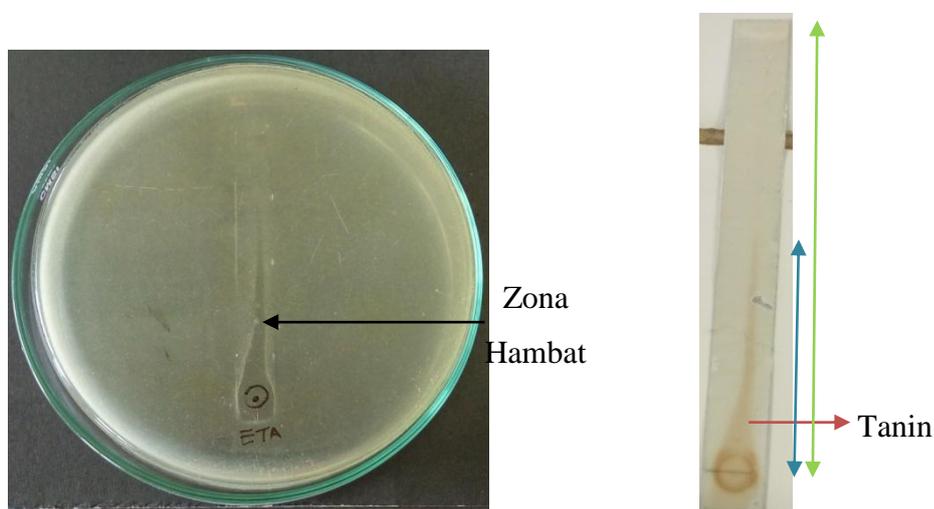
Keterangan : (1) 4000 µg/ml, (2) 2000 µg/ml, (3) 1000 µg/ml, (4) 500 µg/ml, (5) 250 µg/ml, (6) 125 µg/ml, (7) 0 µg/ml

Berdasarkan Tabel 4.4. dapat dilihat bahwa pada fraksi metanol air dari ekstrak daun kardia dengan konsentrasi 4000 µg/ml mempunyai nilai diameter zona hambat yang paling besar terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 125 µg/ml untuk *Escherichia coli* dan konsentrasi 500 µg/ml untuk *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi fraksi yang digunakan berbanding lurus dengan aktivitas dari senyawa antibakteri. Menurut Tille (2014), terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat, yaitu konsentrasi zat antibakteri, jenis mikroorganismenya, jumlah mikroorganismenya, suhu, komposisi media, pH, dan waktu inkubasi.

Hasil dari Tabel 4.4, konsentrasi 125 µg/ml merupakan nilai KHM terhadap *Escherichia coli* dan konsentrasi 500 µg/ml merupakan nilai KHM terhadap *Staphylococcus aureus*. Nilai KHM fraksi metanol air dari ekstrak daun kardia terhadap bakteri *Escherichia coli* mempunyai aktivitas antibakteri kuat dan terhadap *Staphylococcus aureus* mempunyai aktivitas antibakteri lemah. Menurut Holetz *et al.* (2002), nilai KHM senyawa antibakteri <100 µg/ml termasuk senyawa antibakteri sangat kuat, nilai KHM 100-500 µg/ml termasuk senyawa antibakteri kuat, nilai KHM 500-1000 µg/ml termasuk senyawa antibakteri lemah dan nilai KHM >1000 µg/ml dianggap tidak memiliki senyawa antibakteri.

Escherichia coli termasuk dalam bakteri Gram negatif sedangkan *Staphylococcus aureus* termasuk dalam bakteri Gram positif. Salah satu perbedaan dari kedua bakteri ini yang dapat mempengaruhi nilai dari KHM yaitu susunan dinding selnya. Menurut Harti (2012), dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif karena terdiri dari 2 lapisan. Komposisi dinding sel bakteri Gram positif yaitu peptidoglikan (40-50%), protein (10%), lipid (2%), dan asam teikoat; sedangkan komposisi dinding sel bakteri Gram negatif adalah peptidoglikan (5-20%), protein (60%), lipid (20%), dan lipopolisakarida.

4.5. Uji Bioautografi dan Penentuan Senyawa Aktif



Gambar 4.3. Hasil uji bioautografi fraksi metanol air

Keterangan : (—→) menunjukkan jarak yang ditempuh senyawa
(—→) menunjukkan jarak yang ditempuh pelarut

Gambar 4.3 menunjukkan hasil uji bioautografi dari fraksi metanol air dan penentuan senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun kardia. Hasil uji bioautografi menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk pada kultur bakteri. Terbentuknya zona hambat ini menjadi bukti bahwa fraksi metanol air mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Besarnya zona hambat ini kemudian akan diukur untuk diketahui nilai R_f dari senyawa aktif dari fraksi metanol air daun kardia. Golongan senyawa yang dikandung oleh daun kardia ini dapat diketahui dengan menyemprotkan plat KLT dengan H_2SO_4 2% kemudian

dipanaskan. Senyawa yang ditemukan berwarna coklat kekuningan yang menunjukkan senyawa tersebut termasuk golongan tanin dengan R_f 0,125.

Penyemprotan plat KLT menggunakan H_2SO_4 2% dilakukan untuk mempertahankan warna senyawa yang terbentuk pada plat KLT dikarenakan warna bercak mudah hilang. Penyemprotan dan dilanjutkan dengan pemanasan plat ini dapat memutuskan ikatan dari senyawa yang terdapat pada KLT sehingga tidak terjadi perubahan warna lagi. Bercak yang didapatkan berwarna coklat kekuningan. Menurut Harmita (2015), cara umum pengamatan atau deteksi bercak dapat dilakukan dengan penyemprotan menggunakan asam sulfat pekat kemudian dilanjutkan dengan pemanasan. Pemanasan akan membuat bercak menjadi hitam (destruktif).

Senyawa tanin yang didapatkan dari fraksi metanol air daun kardia merupakan senyawa yang bersifat polar yang umumnya memiliki sifat sebagai antioksidan. Selain itu, senyawa tanin pada tumbuhan digunakan oleh tumbuhan sebagai pertahanan diri dari hewan herbivora karena memiliki rasa yang sepat. Menurut Singh (2011), terdapat senyawa tanin terhidrolisis yang tidak biasa dan terdapat pada tumbuhan dari famili Melastomataceae, yaitu Nobotanin B yang dikembangkan sebagai anti-HIV, Proslanidin B-2 dan Kastalagin yang digunakan sebagai penurun tekanan darah pada penderita hipertensi.

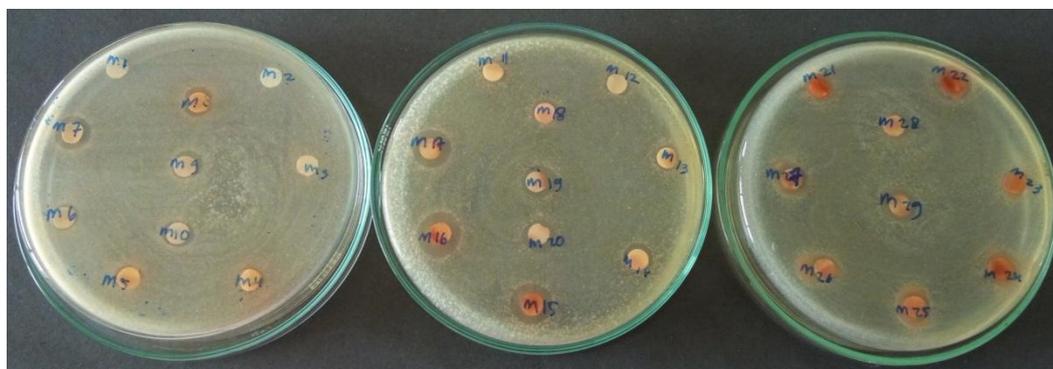
4.6. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Aktif

Isolasi senyawa aktif dari fraksi metanol air daun kardia dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi yang menggunakan *silica gel* sebagai adsorben. Eluen yang digunakan adalah etil asetat:metanol (9:1) bertahap hingga perbandingan (0:10). Fraksi metanol air kemudian dimasukkan di atas *silica gel* pada kolom. Eluen diteteskan dengan laju elusi 30-40 tetes per menit. Eluat ditampung dengan botol vial masing-masing dalam botol 15 ml dan diperoleh 29 botol. Uji aktivitas dilakukan untuk mengetahui dimana senyawa aktif berada. Hasil uji aktivitas dari eluat fraksi metanol air dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Eluat Hasil Kromatografi Kolom Terhadap *Escherichia coli*

No. Botol	\bar{x} Diameter Zona Hambat (mm)
1-14	-
15	11
16	13
17	10,85
18	6,65
19	9,8
20	9,275
21-29	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Gambar 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Eluat Hasil Kromatografi Kolom terhadap *Escherichia coli*

Berdasarkan Tabel 4.4., eluat pada botol dengan nomor 15, 16, 17, 18, 19, dan 20 masing-masing menunjukkan adanya zona hambat. Dikarenakan keenam botol tersebut memiliki warna yang sama, maka dapat digabungkan dan diuji aktivitas antibakterinya. Hasil penggabungan keempat botol disebut sebagai isolat M₁₅. Isolat M₁₅ sebanyak 0,02 gram dilarutkan dengan pelarut metanol. Kromatografi dilakukan kembali dengan menggunakan Isolat M₁₅ yaitu ditetaskan pada kromatografi lapis tipis dan disemprot dengan H₂SO₄, hasilnya kembali menunjukkan warna coklat kekuningan sehingga dapat diindikasikan golongan senyawa tanin.

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri eluat pada botol dengan nomor 15, 16, 17 memiliki diameter zona hambat lebih dari 10 mm namun lebih kecil 20 mm sehingga dapat dikategorikan sebagai antibakteri dengan kriteria sedang, sedangkan eluat pada botol nomor 18, 19, dan 20 memiliki diameter zona hambat

kurang dari 10 mm namun lebih dari 5 mm dan dapat dikategorikan sebagai antibakteri dengan kriteria lemah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nazri *et al.* (2011), bahwa kriteria kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yaitu tidak ada (0 mm), lemah (0-9 mm), sedang (10-14 mm), kuat (15-20 mm).

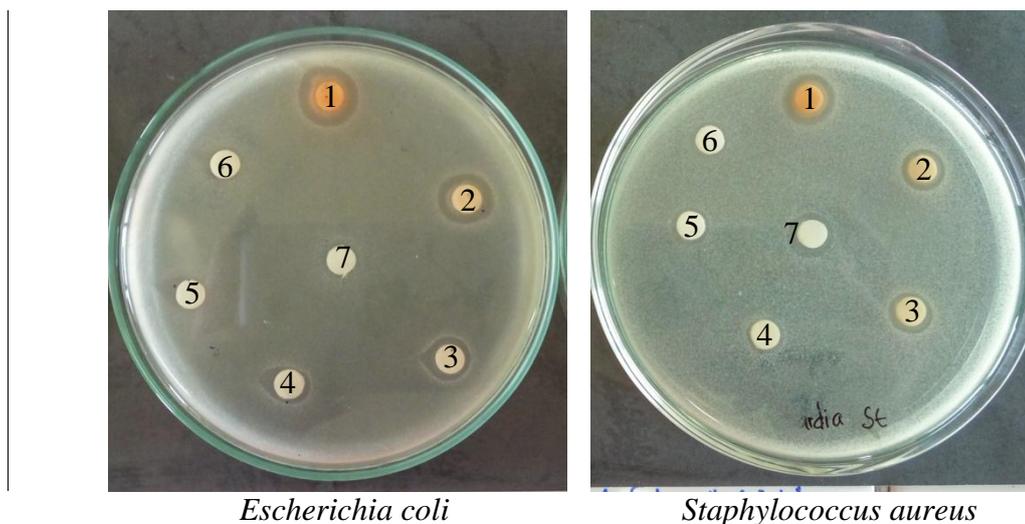
4.7. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Senyawa Aktif

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari isolat M₁₅ dilakukan dengan metode difusi agar. Tabel 4.5. menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri senyawa aktif dari isolat M₁₅ terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.5. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dari Senyawa Aktif Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Konsentrasi Isolat M ₁₅ (µg/ml)	\bar{x} Diameter Zona Hambat \pm sd (mm)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1.	2000	10,93 \pm 1,39	9,85 \pm 1,13
2.	1000	9,46 \pm 1,94	8,25 \pm 1,05
3.	500	8,34 \pm 1,82	7,55 \pm 1,32
4.	250	7,51 \pm 1,05	7,33 \pm 1,63
5.	125	6,88 \pm 1,53	6,68 \pm 1,64
6.	62,5	6,40 \pm 1,72	6,12 \pm 1,98
7.	31,25	-	-

Keterangan: *Paper disc* yang digunakan berdiameter 6 mm



Gambar 4.5 Perbedaan zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi senyawa aktif (isolat M₁₅) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Keterangan : (1) 2000 µg/ml, (2) 1000 µg/ml, (3) 500 µg/ml, (4) 250 µg/ml, (5) 125 µg/ml, (6) 62,5 µg/ml, (7) 31,25 µg/ml

Tabel 4.5, menunjukkan isolat M₁₅ dari daun kardia memiliki aktivitas terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum yang sama, yakni terdapat pada konsentrasi 62,5 µg/ml, sedangkan konsentrasi 31,25 µg/ml tidak menunjukkan zona bening. Diameter zona hambat yang terbentuk pada *Escherichia coli* lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat pada konsentrasi yang sama pada *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terdapat pada daun kardia lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif dibandingkan dengan bakteri Gram positif.

Senyawa antibakteri yang didapatkan dari daun kardia berasal dari fraksi metanol air yang bersifat polar. Senyawa yang bersifat nonpolar umumnya lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, sebaliknya senyawa yang bersifat polar cenderung lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan perbedaan penyusun dari dinding sel antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Menurut Brenen dan Davidson (2005), aktivitas antimikroba yang lebih hidrofobik (nonpolar) memiliki efektivitas yang terbatas untuk menghambat pertumbuhan

bakteri Gram negatif dikarenakan membran terluar bakteri Gram negatif terdiri dari lipopolisakarida.

Dinding sel bakteri merupakan bagian terluar dari bakteri sehingga umumnya suatu senyawa antibiotik menyerang bagian dinding selnya terlebih dahulu. Mekanisme kerja senyawa antibiotik yang menyerang dinding sel bakteri yaitu dengan menghambat sintesa dinding sel. Menurut Harti (2012), penghambatan sintesa dinding sel oleh antibiotik dapat terjadi yaitu dengan hambatan aktivitas enzim transpeptidase (inhibisi kompetitif), atau dengan adanya kesamaan bentuk (rumus bangun dengan D-alanin yang mengakibatkan sel kehilangan D-alanin dalam pentapeptida dari peptida), atau dengan hambatan tahap awal sintesa peptidoglikan sehingga dinding sel lemah dan lisis.

Senyawa aktif yang didapat dari kardia berasal dari fraksi metanol air dan termasuk dalam senyawa tanin berdasarkan uji KLT. Beberapa penelitian menunjukkan senyawa aktif dari tumbuhan famili Melastomataceae tidak hanya berupa senyawa tanin. Berdasarkan beberapa penelitian seperti Suryaningsih *et al.* (2010), senyawa aktif *Melastoma candidum* D. Don. terhadap *Bacillus licheniformis* adalah senyawa flavonoid dengan konsentrasi 0,2 g/ml dan diameter zona hambat 15,40 mm. Menurut Alnaja *et al.* (2012), senyawa flavonoid dari tumbuhan *Melastoma malabathricum* memiliki aktivitas yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *S. agalactiae* dengan diameter hambat masing-masing $11 \pm 0,3$ mm dan $12 \pm 0,6$ mm.

Senyawa tanin dikenal sebagai senyawa yang dapat mengendapkan protein dan terdapat hubungan dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Scalbert (1991), aktivitas tanin terhadap bakteri terjadi dengan merusak dinding sel bakteri sehingga dapat menembus membran sel bakteri. Target tanin adalah polipeptida pada dinding sel sehingga dapat menghambat sintesis dinding sel dan sintesis protein. Aktivitas tanin sebagai antimikroba terjadi melalui mekanisme yaitu menghambat enzim antimikroba dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginvasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa tanin dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik sehingga terjadi denaturasi dan metabolisme sel terganggu.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan:

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi aktif dari daun kardia (*Bellucia pentamera* Naudin) adalah fraksi metanol air.
2. Nilai KHM fraksi aktif daun kardia terhadap *Escherichia coli* adalah 125 µg/ml dan *Staphylococcus aureus* 500 µg/ml.
3. Senyawa aktif yang didapat dari daun kardia merupakan senyawa tanin yang ditunjukkan dengan warna coklat kekuningan pada plat KLT dan nilai *Rf* isolat M_{15} sebesar 0,125 dengan pelarut etil asetat:metanol (5:5).
4. Nilai KHM senyawa aktif daun kardia terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 62,5 µg/ml.

5.2. Saran:

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pengujian ulang terhadap hasil yang memiliki diameter zona hambat dengan standar deviasi yang cukup besar.
2. Dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai potensi daun kardia sebagai antioksidan dikarenakan kandungan tanin yang didapatkan sebagai senyawa aktif.
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan fitokimia bagian-bagian lain dari kardia seperti akar, batang, bunga, dan buah karena belum banyaknya penelitian yang ditemukan mengenai tumbuhan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Albertus, Dewantara, I., dan Herawatiningsih, R. 2015. Jenis dan Potensi Tumbuhan Obat pada Kawasan Hutan Adat Gunung Semarong Kecamatan Tayan Hulu Kabupaten Sanggau. *Jurnal Hutan Lestari*. 3 (3): 446-455.
- Alnajar, Z. A. A., Abdulla, M. A., Ali, H. M., Alshawsh, dan Hadi, A. H. A. 2012. Acute Toxicity Evaluation, Antibacterial, Antioxidant, and Immunomodulatory Effect of *Melastoma malabathricum*. *Molecules*. 17: 3547-3559.
- Bailey dan Scott's. 2007. *Diagnostic Microbiology- Twelfth Edition*. Elsevier Inc: Missouri.
- Berg, H. C. 2003. *E. coli in Motion*. Cambridge: Harvard University.
- Branen, A. L. dan Davidson, P. M. 2005. *Antimicrobials in Food- Third Edition*. Boca Raton: CRC Press.
- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., 2005. *Bergey's Manual Systematic Bacteriology, 2nd edition*. East Lansing: Bergey's Manual Trust.
- Bauman, R, W, 2012. *Microbiology:With Diseases by Body Sistem*. San Fransisco: Pearson Education, Inc.
- Carr, J., H. 2016. *Escherichia coli* Electron Microscopy. <http://www.bacteriainphotos.com/Escherichia%20coli%20electron%20microscopy.html>. Diakses pada 30 Oktober 2016 pukul 19.35 WIB.
- Carr, J., H. 2016. *Staphylococcus aureus* Electron Microscopy. <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html>. Diakses pada 30 Oktober 2016 pukul 19.37 WIB.
- Coronado, I. 2016. *Bellucia pentamera* Naudin: Coronado González- 4754–Nicaragua. <http://www.tropicos.org/Image/100131160>. Diakses pada 11 Agustus 2016 pukul 06.32 WIB.
- Crossley, K. B., Jefferson, K. K., Archer, G. L., dan Fowler Jr, V. G. 2009. *Staphylococci in Human Disease*. West Sussex: Blackwell Publishing.
- Cunha, W. R., Matos, G. X. D., Souza, M. G. M., Tozatti, M. G., Silva, M. L. E., Martins, C. H. G, Silva, R. D., Filho, A. A. D. S. 2010. Evaluation of the Antibacterial Activity of the Methylene Chloride Extract of *Miconia ligustroides*, Isolated Triterpene Acids, and Ursolic Acid Derivatives. *Pharmaceutical Biology*. 48 (2): 166-169.

- Fendiyanto, M. H., Satrio, R. D., Aprilia, A., Ukhraenah, R., dan Nurdin, A. 2014. IAS (*Invasive Alien Species*) *Clidemia hirta* D. Don sebagai Antibakteri dalam Upaya Mengatasi Penyakit Tifus. *Laporan Akhir PKM-P*. Bogor: IPB.
- Fern, K. 2016. Useful Tropical Plant- *Bellucia grossularioides*. <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Bellucia+grossularioides>. Diakses pada 11 September 2016 pukul 20.21 WIB.
- Hanani, E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harborne. J. B. 2006. *Metode Fitokimia- Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. 2015. *Analisis Fisikokimia- Volume 2: Kromatografi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harti, A. S. 2012. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medica.
- Holetz, F. B., Pessini, G. L., Sanches, N. R., Cortez, A. G., Nakamura, C. V., Filho, B. P. D. 2002. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 97 (7): 1027-1031.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi- Menguak Dunia Mikrobiologi Jilid 1*. Bandung: Yrama Widya.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi- Menguak Dunia Mikrobiologi Jilid II*. Bandung: Yrama Widya.
- Iwan. 2010. Pengenalan Morfologi *Bellucia Pentamera* Pada Tiga Jenis Tanah Di Kecamatan Tebas Kabupaten Sambas. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura: Pontianak.
- Kar, A. 2007. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology (Revised-Expanded Second Edition)*. New Delhi: New Age International (P) Publishers.
- Killedar, S. G. dan More, H. N. 2012. Antimicrobial and Phytochemical Screening of Different Leaf Extracts of *Memecylon umbellatum* Burm. *International Research Journal of Pharmacy*. 3 (2): 188-192.
- Malangngi, L. P., Sangi, M. S., Paendong, J. J. E. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 1 (1): 5-10.

- Mardiono, S. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Proceeding Seminar Nasional Keperawatan*. STIK Bina Husada: Palembang.
- Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. Trans Info Media: Jakarta.
- Martins, R. T. D. M. C., Borges, A. K. P., Armiato, A. M., dan Pimenta, R. S. 2016. Antimicrobial and Phytotoxicity Activities of Aqueous Crude Extract from Amazonian Ethnomedicinal Plant *Bellucia grossularioides* (L.) Triana. *Journal of Medicinal Plant Research*. 10 (10): 130-138.
- Myers, J. A., Curtis, B. S., dan Curtis, W. R. 2013. Improving Accuracy of Cell and Chromophore Concentration Measurements Using Optical Density. *BMC Biophysics*. 6 (4): 1-15.
- Nazri, N. A. A. M., Ahnat, N., Andnan, A., Mohammad, S. A. S., dan Ruzaina, S. A. 2011. *In Vitro* Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad. *African Journal of Biotechnology*. 10 (30): 5728-5735.
- Niswah, L. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN.
- Nono, R. N., Barboni, L., Teponno, R. B., Quassinti, L., Bramucci, M., Vitali, L. A., Petrelli, D. 2014. Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities and phytoconstituents of extracts from the roots of *Dissotis tholloni* Cogn. (Melastomataceae). *South African Journal of Botany*. 93: 19-26.
- Permana, R. C. E. 2009. Masyarakat Baduy dan Pengobatan Tradisional Berbasis Tanaman. *Jurnal Wacana*. 11 (1): 81-94.
- Purwanto, S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*. 2 (2): 84-92.
- Renner, S., S. 1986. Reproductive Biology of *Bellucia* (Melastomataceae). *Acta Amazonica*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 16 (17): 197-208.
- Retnowati, R., Ismawati, F., Sutrisno. 2015. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*. 1 (1): 785-790.
- Rinawati, N. D. 2010. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Surabaya: FMIPA ITS.

- Rivai, H., Widiya, E. S., dan Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 18 (1): 35-42.
- Rodrigues, J., Michelin, D. C., Rinaldo, D., Zocolo, J., Santos, L. C. D., Vilegas, W., Salgado, H. R. N. 2008. Antimicrobial Activity of Miconia Species (Melastomataceae). *Journal of Medicinal Food*. 11 (1): 120-126.
- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R. 2014. Pengaruh Ukuran Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia: Samarinda*
- Sari, E. L., Subdrajat, Dharma, B., 2015. Bioaktivitas Ekstrak Etanol Batang Karamunting (*Melastoma malabathricum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteric serovar* Thypi. *Jurnal Science East Borneo*. 3 (2): 17-23.
- Sarker, S. D., Latif, Z., dan Gray, A. I. 2006. *Natural Product Isolation, 2nd edition*. New Jersey: Humana Press, Inc.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial Properties of Tannin. *Phytochemistry*. 30 (12): 3875-3883.
- Sedyaningsih, E. R. 2011. Aturan Menteri Kesehatan Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. NOMOR: 2406/MENKES/PER/XII/2011.
- Serna, D. M. O. dan José H. I. M. 2015. Phenolics and Polyphenolics from Melastomataceae Species. *Journal Molecules*. 20 (10): 17818-17847.
- Sherma, J. dan Fried, B. 2003. *Handbook of Thin-Layer Chromatography- Third edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Singh. A. S. 2011. *Herbalism, Phytochemistry, and Ethnopharmacology*. New Hampshire: Science Publishers.
- Soebandrio, A. 2012. Penyakit Infeksi Penyakit Dominan di Indonesia. <http://www.antaraneews.com/berita/318490/penyakin-infeksi-penyakit-dominan-di-indonesia>. Diakses pada 07 September 2016 pukul 20.34 WIB.
- Suriawiria, U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Suryaningsih, A. E., Mulyani, S., dan Retnaningtyas, E. N. 2010. Uji Aktivitas Senyawa Aktif Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) terhadap *Bacillus licheniformis*. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS: Solo*

- Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 19 (2): 46-49.
- Tarman, K., Purwaningsih, S., dan Negara, A. A. P. P. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap Bakteri Penyebab Diare. *JPHPI*. IPB: Bogor. 16 (3): 249-258.
- Tjitrosoepomo, G. 2010. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Tille, P. M. 2014. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology- 13th Edition*. Missouri: Mosby, Inc.
- Yolanda, E. 2016. Pengaruh Gelombang Sinusoidal dan Non-Sinusoidal dalam Frekuensi Audio terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Indralaya: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.

LAMPIRAN

1. Ekstraksi



Penghalusan daun kardia



Maserasi simplisia

2. Fraksinasi

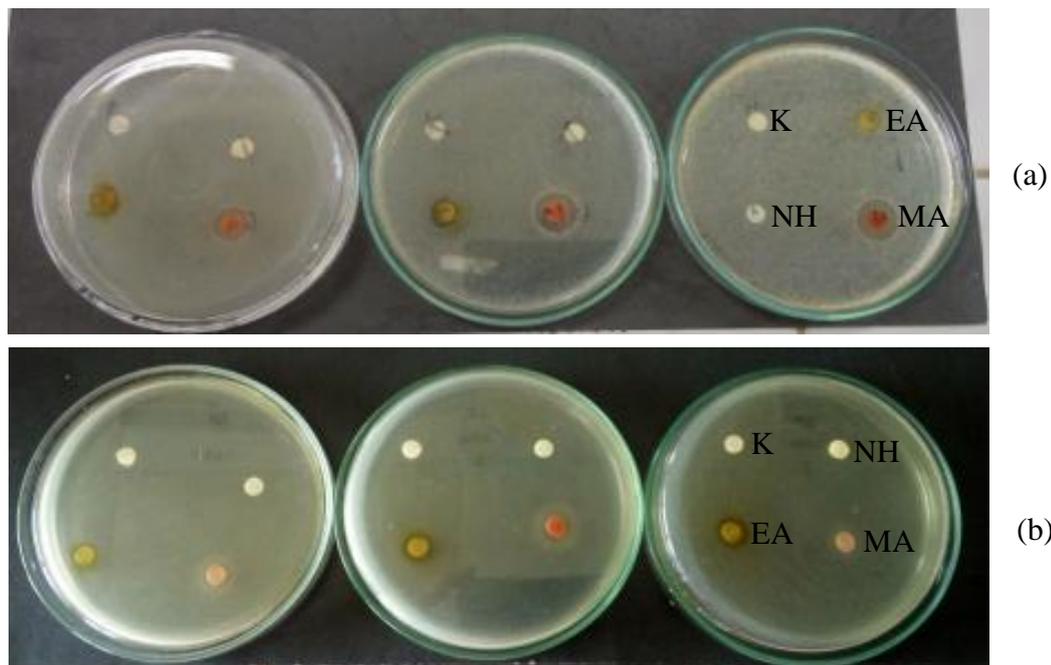


Fraksinasi menggunakan n-heksana



Fraksinasi menggunakan etil asetat

3. Uji Aktivitas Fraksi dan KHM Fraksi Aktif



Uji aktivitas fraksi kardia terhadap *Escherichia coli* (a) dan *Staphylococcus aureus* (b)

Keterangan: K : Kontrol

NH : Fraksi n-heksana

EA : Fraksi Etil Asetat

MA : Fraksi Metanol air

4. Uji Bioautografi dan Penentuan Senyawa Aktif



Plat KLT yang telah ditotol fraksi aktif kardia dicelupkan dalam wadah berisi eluen [etil asetat:metanol (5:5)]



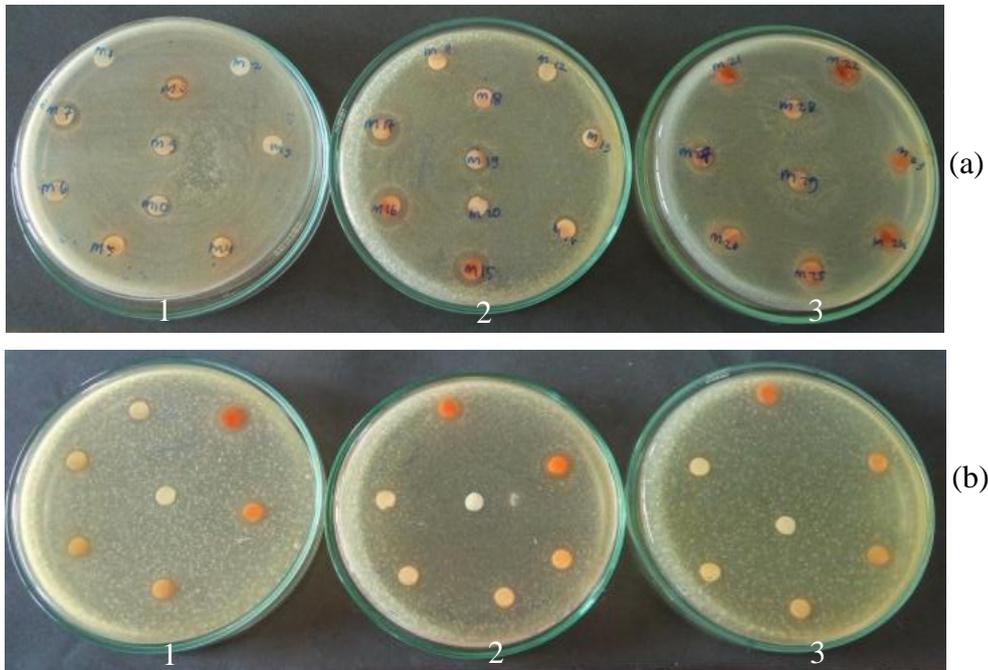
Salah satu plat KLT diletakkan pada medium yang telah diberi biakan bakteri, plat lainnya setelah disemprot H_2SO_4 2% dan dipanaskan di atas hotplate

5. Pemurnian Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif



Kromatografi kolom fraksi metanol air daun kardia menggunakan pelarut dengan perbandingan yang bertingkat

Eluat hasil kromatografi kolom fraksi metanol air daun kardia



Uji aktivitas eluat hasil kromatografi kolom terhadap *Escherichia coli* (a) dan *Staphylococcus aureus* (b)

Keterangan : 1= Botol 1-10
2= Botol 11-20
3= Botol 21-29

BIODATA PENULIS

Nama : Yunita Sari
Tempat Lahir : Palembang
Tanggal Lahir : 03 Agustus 1995
Alamat : Jl. Bambang Utoyo No. 28,
Sumatera Selatan.
Email : yunita.tegochan@gmail.com

Tentang Penulis,

Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari Bapak Suparno dan Ibu Merry. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Xaverius 1 Palembang tahun 2007, pendidikan menengah pertama di SMP Xaverius 6 Palembang tahun 2010, dan pendidikan menengah atas di SMA Xaverius 3 Palembang tahun 2013. Penulis berhasil diterima di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya dengan mengikuti tes seleksi masuk perguruan tinggi jalur SBMPTN pada tahun 2013. Penulis selama masa perkuliahan aktif sebagai asisten praktikum Biologi Umum, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan I, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan II, dan Fisiologi Tumbuhan I. Penulis dinyatakan lulus dari studi S1 nya pada 17 Mei 2017 dengan masa studi 3 tahun 9 bulan dan puji Tuhan mendapatkan predikat kelulusan Dengan Pujian.