

**IDENTIFIKASI DAN UJI POTENSI ANTIMIKROBA
SENYAWA EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN TANAMAN
KALAYU (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum)
TERHADAP BAKTERI INFEKSI PIOGENIK**

SKRIPSI

Diajukan Oleh:

**DEBI MASTHURA PUTRI
NIM. 150703064
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
DARUSSALAM - BANDA ACEH
2021 M/1442 H**

LEMBAR PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI DAN UJI POTENSI ANTIMIKROBA
SENYAWA EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN TANAMAN
KALAYU (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) TERHADAP
BAKTERI INFEKSI PIOGENIK**

SKRIPSI

Diajukan Kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Beban Studi untuk Memperoleh Gelar Sarjana dalam Ilmu Biologi

Oleh:

DEBI MASTHURA PUTRI
NIM. 150703064
Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi

Disetujui Oleh:

Pembimbing I,



Syafrina Sari Lubis, M.Si.
NIDN. 2025048003

Pembimbing II,



Diannita Harahap, M.Si.
NIDN. 2022038701

**IDENTIFIKASI DAN UJI POTENSI ANTIMIKROBA
SENYAWA EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN TANAMAN
KALAYU (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) TERHADAP
BAKTERI INFEKSI PIOGENIK**

SKRIPSI

**Telah Diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan Dinyatakan Lulus
Serta Diterima Sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)
Dalam Ilmu Biologi**

Pada Hari/Tanggal: Senin, 16 Agustus 2021
7 Muharam 1443 H

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi

Ketua,



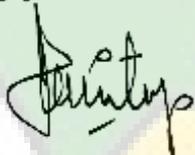
Syafrina Sari Lubis, M.Si.
NIDN. 2025048003

Sekretaris,



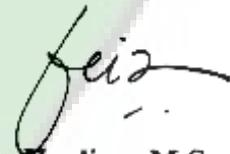
Ayu Nirmala Sari, M.Si.
NIDN. 2027028901

Penguji I,



Diannita Harahap, M.Si.
NIDN. 2022038701

Penguji II,



Feizia Huslina, M.Sc.
NIDN. 2012048701

Mengetahui,

**Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh**



Dr. Azhar Amsal, M.Pd
NIDN. 2001066802

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Debi Masthura Putri
NIM : 150703064
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penelitian skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung-jawabkan
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain
3. Tidak menggunakan karya orang lain yang menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung-jawab atas karya ini.

Bila dikemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggung-jawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 16 Juli 2021
Yang Menyatakan,



Debi Masthura Putri

ABSTRAK

Nama : Debi Masthura Putri
NIM : 150703064
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik
Tanggal Sidang : 16 Agustus 2021
Tebal Skripsi : 105 halaman
Pembimbing I : Syafrina Sari Lubis, M.Si.
Pembimbing II : Diannita Harahap, M.Si.
Kata Kunci : skrining fitokimia, aktivitas antimikroba, kalayu, *Erioglossum rubiginosum*, piogenik, etil asetat

Infeksi piogenik merupakan infeksi jaringan lokal oleh mikroorganisme yang ditandai dengan terbentuknya pus (nanah). Salah satu alternatif untuk mengatasi infeksi piogenik dapat dilakukan dengan mencari bahan alami yang bersifat antimikroba. Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa kimia yang bersifat antimikroba. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FST UIN Ar-Raniry Banda Aceh selama 8 minggu. Sampel daun kalayu diperoleh dari Kecamatan Birem Bayeun, Aceh Timur. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat, dan dilanjutkan dengan skrining fitokimia. Isolat bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* strain PA01 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA USK. Isolat bakteri uji *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 diperoleh dari Balai Kesehatan Yogyakarta. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Beuer Methode*) dengan empat perlakuan konsentrasi ekstrak yaitu konsentrasi 0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml, dan 1 mg/ml. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kalayu positif mengandung senyawa tanin dan saponin, dan tidak mengandung flavonoid dan alkaloid. Aktivitas penghambatan terbesar terhadap bakteri *S. aureus*, *S. pyogenes* dan *P. aeruginosa* berturut-turut terdapat pada konsentrasi ekstrak 1 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,78 mm (8,88%), 4,5 mm (10,22%) dan 1,714 mm (8,16%). Dan aktivitas penghambatan terbesar terhadap bakteri *K. pneumoniae* terdapat pada konsentrasi ekstrak 0,50 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,874 mm (9,47%). Analisis sidik ragam (ANOVA) dengan kepercayaan taraf 95% menunjukkan nilai signifikansi (p) aktivitas penghambatan terhadap keempat bakteri uji sama dengan 0 ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan diameter zona hambat pada keempat bakteri uji yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak daun kalayu 0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml, dan 1 mg/ml dengan kelompok kontrol positif (amoksilin dan kloramfenikol) dan negatif (20 μ L DMSO 100%).

ABSTRACT

Name : Debi Masthura Putri
NIM : 150703064
Department : Biology
Title of Thesis : Identification and Antimicrobial Potency Test of Ethyl Acetat Extract of Kalayu Leaves (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Against Pyogenic Infection Bacterias
Thesis Defense Date : August 16th, 2021
Total of Pages : 105 pages
Supervisor I : Syafrina Sari Lubis, M.Si.
Supervisor II : Diannita Harahap, M.Si.
Keywords : phytochemical screening, antimicrobial activity, kalayu, *Erioglossum rubiginosum*, pyogenic, ethyl acetat

Pyogenic infection is a local tissue infection caused by microorganisms characterized by the formation of pus. The plant bioactive compounds have use as an alternative to treat pyogenic infections caused by pathogenic bacteria. One of the plants suspected of having antimicrobial compounds is kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). This research is experimental using Rancangan Acak Lengkap (RAL). The study was conducted at the Microbiology Laboratory of the UIN Ar-Raniry Banda Aceh for 8 weeks. The sample of kalayu leaves were obtained from Birem Bayeun, Aceh Timur. The extraction process was carried out by maceration method using ethyl acetate and continued with phytochemical screening. Isolates of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* strain PA01 were obtained from the Microbiology Laboratory, FMIPA USK. Isolates of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 were obtained from the Yogyakarta Health Center. The antimicrobial activity test was carried out using the Disc Diffusion Method (*Kirby-Bauer Method*) with four concentrations of extracts, namely 0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml, 0.75 mg/ml, and 1 mg/ml. The phytochemical screening showed positive results for tannins and saponins and did not contain flavonoids and alkaloids which these four compounds were antimicrobial. The greatest inhibitory activity against *S. aureus*, *S. pyogenes*, and *P. aeruginosa* was found at a concentration of 1 mg/ml, respectively, with an average inhibition zone diameter of 1.78 mm (8.88%), 4.5 mm (10.22%), and 1.714 mm (8.16%). And the greatest inhibitory activity against *K. pneumoniae* was found in the extract concentration of 0.50 mg/ml with an average inhibition zone diameter of 1.874 mm (9.47%). Analysis of variance (ANOVA) with 95% confidence level showed the significance value (p) of the inhibitory activity against the four test bacteria was equal to 0 ($p < 0.05$), meaning that there was a difference in the diameter of the inhibition zone on the four test bacteria formed at the leaf extract concentration Kalayu 0.25 mg/ml, 0.50 mg/ml, 0.75 mg/ml, and 1 mg/ml with a positive control group (amoxicillin and chloramphenicol) and negative (20 μ L DMSO 100%).

KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjuk-Nya dalam menyelesaikan skripsi dengan judul “**Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik**”. Shalawat dan salam penulis tujukan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya dari zaman kebodohan menuju alam yang penuh dengan ilmu pengetahuan.

Penghargaan dan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua saya **Ayahanda Syafrizal** dan **Ibunda Lilis Suriani** yang telah memberikan segenap cinta, doa, dan dukungannya kepada saya selama menempuh pendidikan. Setiap pencapaian saya hingga saat ini tak luput dari peran dan jasa keduanya, termasuk pada penulisan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi S1 pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry, Banda Aceh. Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini penulis telah banyak mendapatkan bantuan dan motivasi dari berbagai pihak baik secara langsung, maupun tidak langsung, untuk itu dalam kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan terima kasih yang tidak terhingga kepada:

1. **Dr. Azhar, M.Pd.** selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
2. **Arif Sardi, M.Si.** selaku ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
3. **Syafrina Sari Lubis, M.Si.** selaku Pembimbing I, **Diannita Harahap, M.Si.** selaku Pembimbing II dan **Kamaliah, M.Si.** selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberi arahan, masukan dan kritikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
4. **Feizia Huslina, M.Sc., Ayu Nirmala Sari, M.Si., Lina Rahmawati, M.Si., Muslich Hidayat, M.Si., Ilham Zulfahmi, M.Si.,** dan seluruh

dosen Biologi yang mengajarkan dan membimbing saya dari semester awal hingga sampai saat ini.

5. Bapak/Ibu laboran dan staf yang membantu selama perkuliahan dan penelitian hingga saat ini.
6. **Adinda Putri Manja Azla, M. Fauzul Ridha, M. Rezeki Ananda, Muhammad, dan M. Furqan** yang telah menjadi penyemangat dan teman berbagi di rumah.
7. Nenek tercinta **Almh. Hj. Alawiyah Binti Muhammad** yang semasa hidup telah mendidik dan mengajarkan banyak hal serta mendoakan penulis dengan tulus, beserta segenap keluarga besar.
8. Sahabat-sahabat tercinta **Cut Dahlima Yustisia, Putri Yani, Nelda Fitri, Gustiana Afifah, Matoyah, Wilda Melia, Erbaita, Razi Wahyuni, dan Syahrial**, yang telah banyak membantu penulis.
9. Teman-teman seperjuangan yang telah memberi dukungan dan semangat kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan bantuan berupa kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan dan mutu penulisan skripsi ini.

Akhir kata, hanya kepada Allah SWT penulis mohon ampun, semoga selalu diberikan hidayah dan ridha-Nya kepada penulis dan kita semua. Dan penulis berharap, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekaligus demi menambah pengetahuan. Semoga segala bantuan dan dukungan dari semua pihak yang membantu mendapat balasan dari Allah SWT.

Banda Aceh, 1 Juli 2021

Penulis,

Debi Masthura Putri

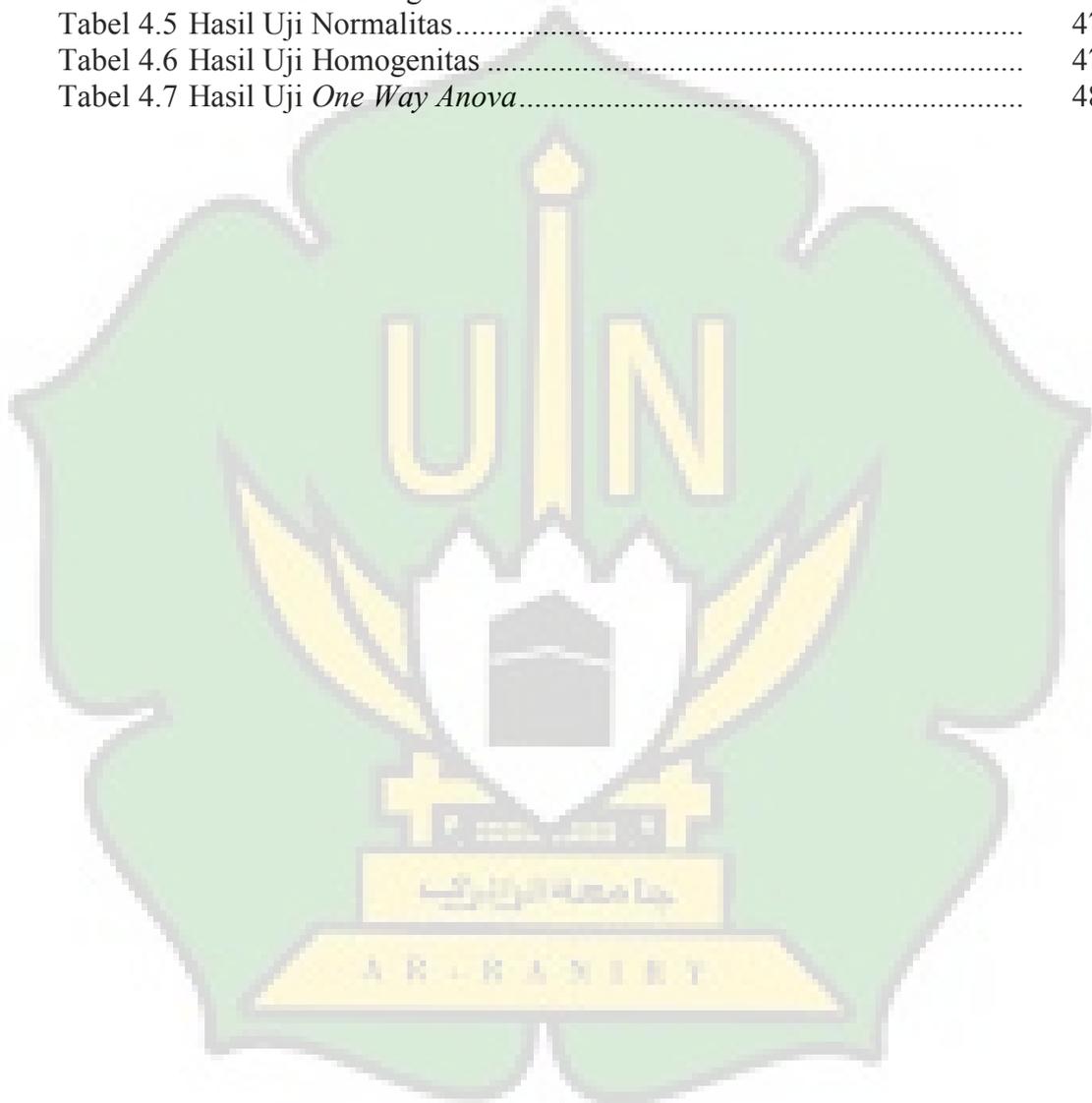
DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1. 1. Latar Belakang	1
1. 2. Rumusan Masalah	5
1. 3. Tujuan Penelitian.....	6
1. 4. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Infeksi Piogenik.....	7
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.1. Klasifikasi	9
2.2.2. Patogenitas	10
2. 3. <i>Streptococcus pyogenes</i>	12
2.3.1. Klasifikasi	13
2.3.2. Patogenitas	14
2.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
2.4.1. Klasifikasi	16
2.4.2. Patogenitas.....	16
2.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2.5.1. Klasifikasi	19
2.5.2. Patogenitas	20
2.6. Tanaman Kalayu (<i>Erioglossum rubiginosum</i>)	21
2.6.1. Klasifikasi Tanaman Kalayu	22
2.6.2. Morfologi Tanaman Kalayu.....	23
2.6.3. Kandungan Kimia Tanaman Kalayu.....	24
2.7. Ekstraksi Senyawa dari Tanaman	25
2.7.1. Metode Ekstraksi Senyawa dari Tanaman.....	26
2.8. Skrining Fitokimia.....	30
2.9. Uji Antibakteri.....	32
2.9.1. Metode Difusi	32
2.9.2. Metode Dilusi	33
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.2. Rancangan Penelitian	35
3.3. Alat dan Bahan	35

3.4.	Cara Kerja	36
3.4.1.	Persiapan Tanaman	36
3.4.2.	Sterilisasi Alat dan Bahan	36
3.4.3.	Pembuatan Media	37
3.4.4.	Peremajaan Isolat Uji	38
3.4.5.	Estraksi Daun Kalayu	38
3.4.6.	Pembuatan Konsentrasi	39
3.4.7.	Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kalayu	39
3.4.8.	Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Kalayu	39
3.5.	Teknik Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1.	Hasil Penelitian	42
4.1.1.	Skrining Fitokimia	42
4.1.2.	Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu ...	44
4.2.	Pembahasan	48
4.2.1.	Skrining Fitokimia	48
4.2.2.	Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu ...	53
BAB V PENUTUP		
5.1.	Kesimpulan	62
5.2.	Saran	63
DAFTAR PUSTAKA		64
RIWAYAT HIDUP PENULIS		92

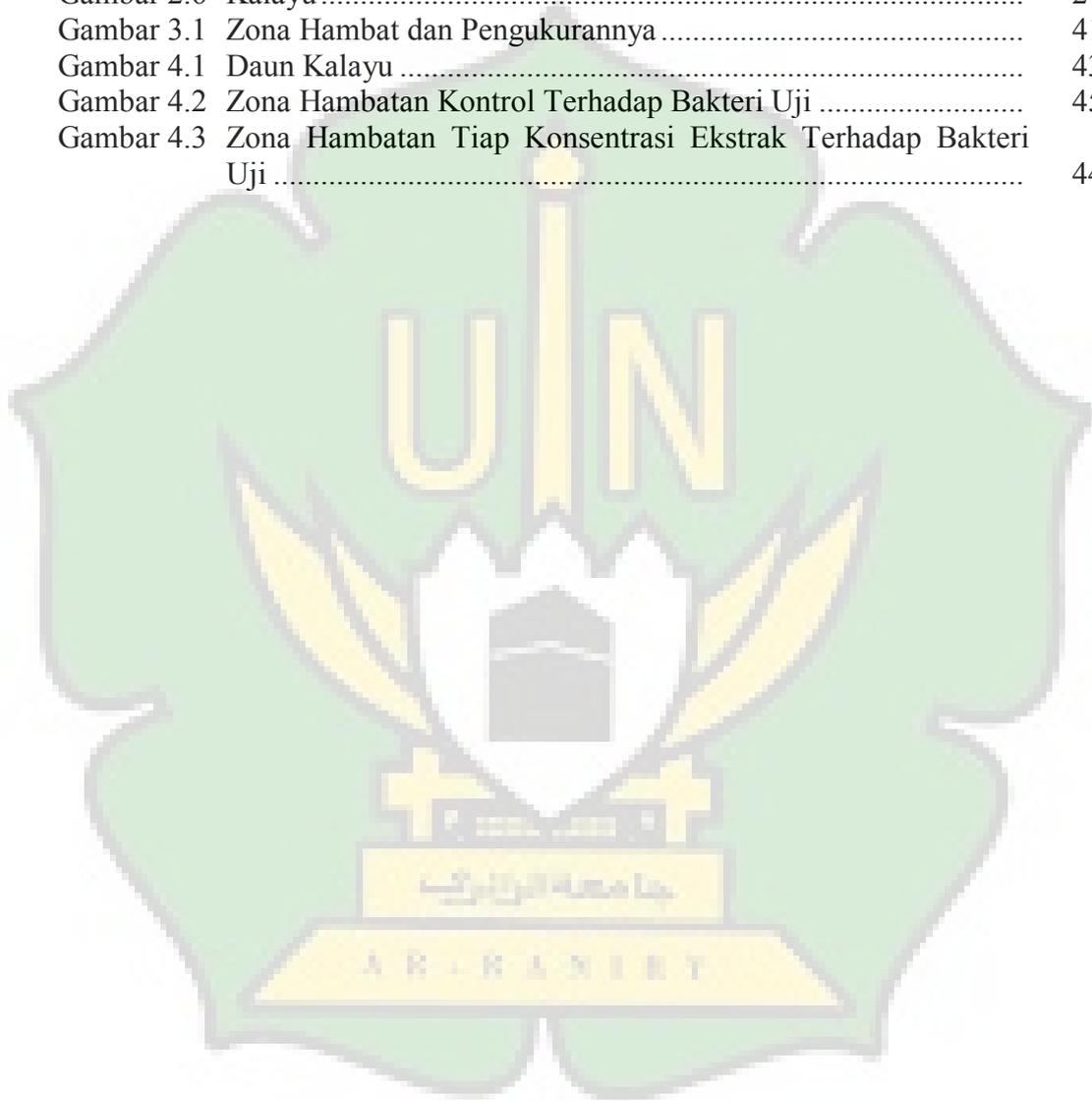
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kalayu.....	42
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Berbagai Tahap Ekstraksi	43
Tabel 4.3 Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu pada Bakteri Gram Positif.....	46
Tabel 4.4 Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu pada Bakteri Gram Negatif	46
Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas.....	47
Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas	47
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 2.2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	13
Gambar 2.3	<i>Klebsiella pneumonia</i>	16
Gambar 2.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
Gambar 2.5	Pohon Kalayu (<i>Erioglossum rubiginosum</i>).....	23
Gambar 2.6	Kalayu	24
Gambar 3.1	Zona Hambat dan Pengukurannya	41
Gambar 4.1	Daun Kalayu	43
Gambar 4.2	Zona Hambatan Kontrol Terhadap Bakteri Uji	45
Gambar 4.3	Zona Hambatan Tiap Konsentrasi Ekstrak Terhadap Bakteri Uji	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Surat Keterangan Pembimbing	73
Lampiran 2: Surat Izin Penelitian	74
Lampiran 3: Surat Selesai Penelitian	75
Lampiran 4: Alur Kegiatan Penelitian	76
Lampiran 5: Hasil Skrining Fitokimia	77
Lampiran 6: Rumus dan Perhitungan	78
Lampiran 7: Hasil Uji Antimikroba	80
Lampiran 8: Perhitungan Analisis Sidik Ragam (ANOVA)	82
Lampiran 9: Dokumentasi Kegiatan Penelitian	90



BAB I

PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang

Luka merupakan suatu kerusakan pada struktur dan fungsi jaringan tubuh dari kondisi normal yang disebabkan oleh suatu paksaan, tekanan fisik, kimiawi, mekanik dan termal. Berdasarkan tingkat kontaminasinya, luka dibagi menjadi luka bersih, luka bersih terkontaminasi, luka terkontaminasi, dan luka terinfeksi/luka kotor (Ariningrum *et al.*, 2018). Luka infeksi pada permukaan kulit umumnya sangat mudah dikolonisasi oleh berbagai macam mikroorganisme (Ekawati *et al.*, 2018). Luka yang meradang dapat menimbulkan kelebihan eksudat dan berdampak pada meningkatnya jumlah bakteri, kerusakan kulit, bau, serta infeksi piogenik berkelanjutan (Mahsunah, 2015).

Infeksi piogenik merupakan infeksi berupa terjadinya peradangan lokal yang parah dan umumnya disertai dengan pembentukan nanah (pus). Jika tidak ditangani secara tepat, peradangan lokal pada infeksi piogenik dapat menjadi peradangan sistemik dan berlanjut menjadi penyakit (Sangwan *et al.*, 2016). Infeksi piogenik dapat disebabkan oleh invansi satu atau lebih mikroba patogen. Beberapa mikroba patogen yang umum ditemukan pada luka infeksi piogenik antara lain *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* sp, *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typii*, dan *Candida albicans* (Ekawati *et al.*, 2018).

Terapi pengobatan untuk infeksi yang disebabkan oleh mikroba piogenik khususnya bakteri masih menjadi masalah yang cukup serius terutama di negara berkembang. Hal ini disebabkan oleh banyaknya mikroba piogenik yang resisten

terhadap antibiotik. Data statistik *World Health Organization* (WHO) (2018) menunjukkan persentase infeksi bakteri resisten terhadap antibiotik di 22 negara berpendapatan rendah meningkat dengan persentase kekebalan mencapai 65% hingga 82%. Bakteri patogen resisten yang paling sering dilaporkan meliputi *Eschericia coli*, *Staphylooccus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Salmonella sp.* *European Centers for Disease Control and Prevention* (2017) menyatakan bahwa 33,9% *P. aeruginosa* resisten terhadap antibiotik. Beberapa daerah di Eropa bagian selatan dan Asia-Pasifik juga ditemukan 25% sampai 50% isolat dari infeksi *S. aureus* galur *Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) (Lee *et al.*, 2016) yang merupakan patogen prioritas 2 (tinggi) sehingga perlu diteliti dan diperdalam lebih lanjut guna membuat antibiotik baru (*World Health Organization*, 2018). Sementara di Indonesia prevalensi kejadian MRSA pada infeksi *S. aureus* sebesar 83,3% (Adriani, 2017).

Staphylococcus aureus diketahui sering menyebabkan infeksi kulit, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih dan sindrom syok toksik (Otto, 2014). Sementara *Streptococcus pyogenes* menyebabkan sepsis, nekrosis fascitis, infeksi tenggorokan, infeksi pada kulit dan sindrom syok toksik (Hirose *et al.*, 2019). Infeksi saluran napas dapat disebabkan pula oleh infeksi *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua bakteri ini sering ditemukan pada kasus pneumonia nosokomial dan sangat mudah resisten terhadap antibiotik (Manggopa *et al.*, 2016; Bassetti *et al.*, 2018).

Fenomena resistensi antibiotik dan patogenitas mikroba patogen piogenik tersebut membuat para peneliti berusaha mengembangkan obat-obatan dan antibiotik baru dengan memanfaatkan sumber daya alam (SDA) sebagai alternatif.

Penelitian terhadap beragam tanaman berkhasiat obat yang diduga ataupun telah diteliti memiliki khasiat antibakteri banyak dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri senyawa bioaktif tanaman terhadap mikroba patogen. Misalnya jeruk purut (*Citrus hystrix*) (Jamaluddin *et al.*, 2017) dan lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) (Kandou *et al.*, 2016) yang terbukti mampu menghambat *K. pneumoniae*, biji pala (Ayunani *et al.*, 2018) dan alga laut (*Sargassum muticum*) (Hidayah *et al.*, 2016) yang terbukti mampu menghambat *S. aureus*.

Tanaman kalayu (*Erioglossum rubiginosum*) merupakan salah satu tanaman berkayu berkhasiat obat dari famili Sapindaceae. Di Indonesia buah kalayu dikonsumsi sebagai cemilan, batang mudanya digunakan sebagai obat untuk insomnia. Di Malaysia, India dan Bangladesh daun tanaman kalayu digunakan sebagai obat demam (*Philippine Medicinal Plant*, 2016) dan masalah kulit seperti lipsoriasis. Diketahui pula bahwa konsentrasi 1 mg ekstrak metanol daun tanaman kalayu berpotensi menstabilkan membran dan menghambat hemolisis eritrosit (Debnath *et al.*, 2013). Selain itu, tumbuhan lain anggota famili Sapindaceae juga diketahui berpotensi sebagai antibakteri seperti kelengkeng (*Euphoria longan*). Diketahui fraksi etil asetat ekstrak biji kelengkeng dengan konsentrasi 100.000 ppm mampu menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan diameter zona hambat sebesar 14,59 mm dan mampu menghambat pertumbuhan biofilm dengan persentase sebesar 99,08% (Prasetya *et al.*, 2019).

Daun kalayu diketahui memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan senyawa fenol yang bersifat antimikroba, berperan sebagai antioksidan dan dapat membantu proses penyembuhan luka (Rana *et al.*, 2014).

Penelitian Ulfa (2017) menunjukkan bahwa ekstrak methanol kulit batang tanaman kalayu mampu menghambat bakteri *Escherihia coli* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi fraksi 10.000 ppm, 13.000 ppm, dan 15.000 ppm. Pengujian ekstrak metanol kulit batang dan daun tanaman kalayu terhadap *S.aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kalayu berpotensi menghambat *S. Aureus* dan *E. coli* dengan signifikan (Rana *et al.*, 2014).

Ekstraksi senyawa kimia daun kalayu dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Metode ini dipilih karena mampu memberikan hasil ekstrak dengan tingkat kemurnian yang tinggi dan dapat mengurangi resiko kerusakan senyawa bioaktif tanaman akibat panas sebab tanaman hanya direndam dalam suatu larutan selama waktu tertentu dan diselingi pengadukan secara berkala. Selain itu ekstraksi dengan maserasi juga tidak cenderung mudah dilakukan dan tanaman bisa langsung diekstrak tanpa harus diubah menjadi serbuk halus terlebih dahulu (Endarini, 2016).

Pelarut etil asetat dipilih sebab merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semi polar, polar dan non-polar (Putri *et al.*, 2013). Diketahui etil asetat dapat melarutkan alkaloid, saponin, dan tanin (Romadanu *et al.*, 2014). Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat biji kelengkeng (*Euphoria longan*) menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak biji kelengkeng mengandung senyawa tanin, polifenol, saponin, triterpenoid, dan flavonoid (Prasetya *et al.*, 2019). Selain itu hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis menunjukkan bahwa pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa golongan alkaloid, flavonoid,

saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid yang terkandung dalam kulit buah manggis tersebut (Putri *et al.*, 2013).

Penggolongan dan identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan metode skrining fitokimia karena dapat digunakan untuk menggolongkan sekaligus mengidentifikasi senyawa kimia ke dalam beberapa golongan besar seperti alkaloid, flavonoid, steroid, dan lain-lain. Hal ini lebih praktis, hemat waktu dan biaya. Jika ingin mendapatkan hasil identifikasi yang lebih spesifik baik secara kualitatif atau kuantitatif dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri (Endarini, 2016).

Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan identifikasi dan uji potensi antimikroba senyawa ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubuginosum*) terhadap beberapa bakteri infeksi piogenik. Pada penelitian ini dipilih beberapa bakteri patogen piogenik yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penggolongan senyawa ekstrak etil asetat daun kalayu dilakukan dengan metode skrining fitokimia. Diharapkan ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubuginosum*) dapat dijadikan sebagai alternatif dalam mengatasi masalah infeksi yang disebabkan oleh patogen piogenik.

1. 2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apa saja kandungan senyawa ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubuginosum*) yang diidentifikasi menggunakan metode skrining fitokimia?

2. Bagaimana aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubuginosum*) terhadap bakteri uji?

1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kalayu dengan pelarut etil asetat menggunakan metode skrining fitokimia.
2. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi ilmiah serta menjadi rujukan tentang senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun kalayu.
2. Memberikan informasi ilmiah serta menjadi rujukan tentang aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Infeksi Piogenik

Infeksi piogenik adalah infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen yang menginfeksi jaringan luka sehingga menghasilkan nanah (Ekawati *et al.*, 2018). Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) makna piogenik adalah sifat jasad renik yang menghasilkan nanah pada luka yang menghasilkan infeksi. Infeksi piogenik dapat bersifat endogen atau eksogen, ditandai dengan adanya peradangan lokal atau sistemik akibat invasi organisme piogenik yang disertai pembentukan nanah atau pus (Sangwan *et al.*, 2016; Babar *et al.*, 2019). Nanah (pus) adalah cairan kuning keputihan yang terbentuk sebagai hasil dari mekanisme pertahanan tubuh yang dihasilkan selama infeksi peradangan piogenik, terdiri dari akumulasi sel-sel bakteri, leukosit, jaringan nekrotik dan cairan jaringan (Mantravadi *et al.*, 2015).

Infeksi kulit dan jaringan lunak pada manusia yang disebabkan oleh bakteri piogenik aerob maupun anaerob dapat terjadi pada luka traumatik, luka bakar, dan luka pasca bedah (Scalise *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Sangwan *et al.*, (2016) menyatakan bahwa bangsal bedah memiliki kontribusi terbesar pada kasus infeksi piogenik di Institut Perawatan Tersier di Haryana, India dengan persentase sebesar 72,6%. Sebagian besar infeksi tersebut (82,3%) disebabkan oleh satu jenis bakteri (*mono microbial*) dan sisanya (17,7%) merupakan infeksi yang disebabkan lebih dari satu bakteri (*poly microbial*). Adapun bakteri piogenik yang didapati yaitu *Staphylococcus aureus* (24,2%),

Pseudomonas (21,4%), *E. coli* (14,8%), *Proteus spp* (8,8%), *Citrobacter spp* (8,2%), *Enterococcus* (6,6%), *Klebsiella spp* (6,1%) dan *Streptococcus* (2,2%).

Infeksi piogenik dapat menyebabkan mordibitas yang signifikan (Mantravadi *et al.*, 2015). Perawatan dan penanganan terhadap infeksi piogenik dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik untuk menekan infeksi. Namun pada beberapa kasus, proses infeksi ini sulit ditangani karena bakteri yang menginfeksi telah mengalami resistensi terhadap antibiotik (Nurmala *et al.*, 2015). Selain itu strain bakteri patogen yang lebih ganas mampu beradaptasi dengan cepat terhadap lingkungan (misalnya antibiotik) sehingga perlu mendapat perhatian serius (Sowmya *et al.*, 2014).

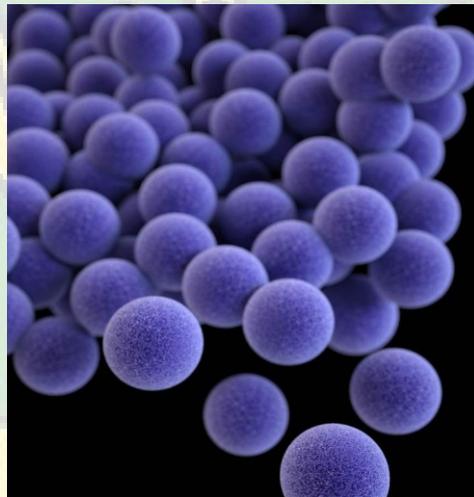
2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , fakultatif anaerob, amotil, dan tidak membentuk spora. *S. aureus* tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. Koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan pada media pembedahan padat dengan diameter koloni 2-3 mm, berbentuk bulat, halus, licin, timbul/cembung, dan mengkilap. *S. aureus* dapat membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar yaitu 20^o-25^oC dan tumbuh dengan optimum pada suhu 37^oC. Bakteri ini juga mampu tumbuh pada pH 4,0-9,8 dengan pH optimum 7,0-7,5 (Ibrahim, 2017). Uji koagulase *S. aureus* menunjukkan hasil positif. Hal ini merupakan ciri khas yang membedakan *S. aureus* dengan spesies *Staphylococcus* yang lain. *S. aureus* patogen bersifat invasif, mampu melisiskan darah (tipe beta

hemolisis), mampu meragikan monitol, dan membentuk koagulase (koagulase positif) dengan memproduksi enzim koagulase (Budiman *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus dapat ditemukan di udara, air, tanah, makanan, dan dapat pula ditemukan di kulit serta membran mukosa manusia sebagai flora normal. Namun *S. aureus* dapat menjadi patogen berbahaya dengan tingkat infeksi ringan hingga parah saat menginfeksi manusia dan menimbulkan masalah seperti infeksi piogenik, abses, menyebabkan supurasi dan septikemia yang fatal. *S. aureus* patogen umumnya memiliki selaput tipis (kapsul) polisakarida sebagai faktor virulensinya (Brooks *et al.*, 2012; Budiman *et al.*, 2020).

2.2.1. Klasifikasi



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Sumber: *Centres for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library*, 2013)

Adapun klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut

(Budiman *et al.*, 2020):

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.2.2. Patogenitas

Perlekatan bakteri pada permukaan mukosa merupakan faktor terpenting dalam patogenitas bakteri. Bakteri yang bersifat virulen umumnya memiliki kapsul berupa polisakarida yang membantu dalam proses perlekatan dan invasi serta mencegah bakteri dari fagositosis atau ingesti oleh sel fagositik. Beberapa bakteri juga membentuk *biofilm* polisakarida untuk membantu kolonisasi pada substrat (Husna, 2018). Peranan kapsul dan protein permukaan adalah unsur penting yang membuat bakteri mampu menginvasi dan melekat pada substrat sekaligus menjadi faktor virulensi dari bakteri itu sendiri (He, 2015).

Staphylococcus aureus memiliki beragam faktor virulensi yang meliputi protein-protein permukaan yang berperan dalam proses adhesi, dan hasil metabolit berupa enzim-enzim (nontoksin) maupun toksin (eksotoksin dan enterotoksin) (Husna, 2018). Faktor virulensi *S. aureus* ini saling mempengaruhi baik struktur maupun sekresi produk yang berperan dalam patogenitas *S. aureus*, berperan penting dalam kolonisasi dan invasi pada

jaringan *host*, memediasi sitotoksik pada sel *host*, dan memicu respon imun dari *host* (Bonar *et al.*, 2015).

Patogenitas *S. aureus* merupakan pengaruh gabungan antara faktor ekstraseluler dan toksin bersama sifat daya sebar invansif. Bakteri *Staphylococcus aureus* menginfeksi dengan dua cara yaitu dengan kemampuan bermultiplikasi dan menyebar dalam jaringan, dan melalui produksi banyak zat ekstraseluler. Strain *S. aureus* patogen umumnya memiliki mikrokapsul dan protein reseptor (misalnya laminin dan fibronektin) yang berperan dalam proses perlekatan (adhesi) pada permukaan sel epitel dan endotel, dimana protein reseptor akan melekat dengan protein ekstraseluler *host*. Selain itu bakteri ini menghasilkan enzim litik ekstraseluler (misalnya hiluronidase) yang memecah jaringan *host* dan membantu invasi (Husna, 2018).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi pada kulit, infeksi saluran pernapasan, infeksi nosokomial, infeksi piogenik, keracunan makanan, hingga infeksi sistemik. Infeksi ini dipengaruhi oleh virulensi toksin, sifat invasif *S. aureus*, dan ketahanan terhadap antibiotik. Infeksi pada kulit umumnya berasal dari penyebaran *S. aureus* yang menginfeksi kulit penderita lain, sedangkan infeksi saluran nafas biasanya disebabkan oleh *S. aureus* nosokomial (Otto, 2014). *S. aureus* menimbulkan peradangan piogenik yang khas karena sifat destruktif lokalnya (Husna, 2018). Halini sering ditandai dengan adanya kerusakan jaringan disertai abses bernanah pada bagian tubuh yang terinfeksi (Budiman *et al.*, 2020). Pada kasus keracunan makanan oleh *S. aureus* faktor virulensi yang terlibat adalah *Staphylococcus enterotoxin* (Ses)

dan gejala yang ditimbulkan berupa kram perut, muntah-muntah dan disertai diare (Karimela *et al.*, 2017).

Kasus infeksi *Staphylococcus aureus* menyebabkan mortalitas dan mordibitas yang tinggi. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh infeksi *S. aureus* yaitu bisul (Hidayah *et al.*, 2016), jerawat, impertigo, maningitis, pneumonia, masitis, infeksi saluran kemih, endokarditis, osteomielitis, *toxic shock syndrome*, *scaled skin syndrome*, dan penyakit lainnya yang dapat mengancam jiwa (Otto, 2014). Menurut Adriani (2017) kejadian infeksi *S. aureus* strain MRSA di Indonesia sebesar 83,3%. Infeksi *S. aureus* umumnya menyebabkan bakterimia. Persentase mortalitas pada kasus bakterimia sebesar 14%-45%, dan pada kasus pneumonia akibat *S. aureus* meningkat dari 8% menjadi 39% jika disertai dengan bakterimia (Marzec dan Bessesen, 2016).

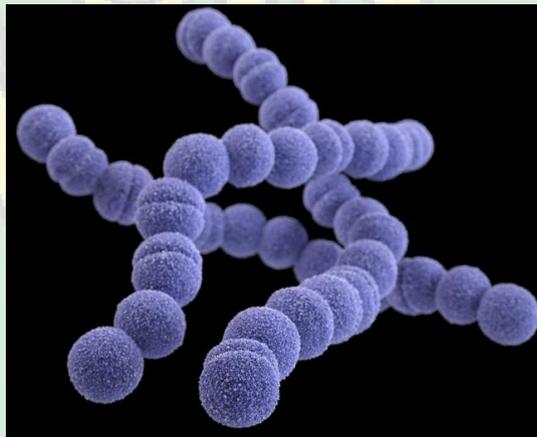
2. 3. *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri Gram positif patogen berbentuk bulat dan bersifat katalase negatif (Bennett *et al.*, 2015). Diameter *S. pyogenes* berkisar 0.5-1.0 μm . Sel bakteri ini biasanya tersusun berbentuk rantai panjang (Zhou dan Li, 2015). Berdasarkan struktur karbohidratnya, *S. pyogenes* digolongkan ke dalam Streptococcus grup A (*Group A Streptococcus*/GAS). Bakteri ini termasuk ke dalam Bakteri Asam Laktat (BAL) dan memiliki lebih dari 150 strain yang telah teridentifikasi berdasarkan perbedaan tipe protein M-nya (Bennett *et al.*, 2015).

Streptococcus pyogenes bersifat fakultatif anaerob dan dapat tumbuh optimal pada suhu 37°C. Koloni *S. pyogenes* dapat ditemukan di plak gigi,

hipofaring, dan saluran pernafasan bagian atas. Ada tiga tipe koloni *S. pyogenes* yang berkaitan dengan kondisi pertumbuhannya dan produksi enzim hialuronidase selama dikultur pada media agar darah, yaitu: tipe koloni β -hemolitik, koloni berlendir (mukoid), dan koloni loyo/biasa. Umumnya *S. pyogenes* bersifat β -hemolitik saat dikultur pada media agar darah. *Strain* mukoid *S. pyogenes* memiliki banyak kapsul asam hialuronat dan mampu memproduksi banyak toksin ekstraseluler seperti streptolisin O, streptolisin S, dan hemolisin (Bennett *et al.*, 2015; Zhou dan Li, 2015).

2.3.1. Klasifikasi



Gambar 2.2 *Streptococcus pyogenes* (Sumber: *Centres for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library*, 2013)

Adapun klasifikasi *Streptococcus pyogenes* adalah sebagai berikut

(*Centres for Disease Control and Prevention*, 2013):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus pyogenes</i>

2.3.2. Patogenitas

Streptococcus pyogenes dapat menghasilkan beberapa faktor virulensi patogen. *S. pyogenes* diketahui dapat menghasilkan bakteriosin, hemolisin O, streptolisin O, streptolisin S, streptokinase, hialuronidase, enzim NADH, dan protein M. Umumnya *S. pyogenes* berkolonisasi di saluran pernafasan bagian atas, hipofaring, atau di rongga mulut membentuk plak gigi. *S. pyogenes* juga dapat ditemukan pada peradangan jaringan ikat longgar dan dapat diisolasi dari darah, sekresi radang, atau lesi kulit (Zhou dan Li, 2015).

Streptococcus pyogenes merupakan salah satu patogen manusia yang penting. *S. pyogenes* menyebabkan berbagai infeksi akut seperti infeksi jaringan lunak dan faringitis, dan juga infeksi parah yang mengancam jiwa seperti sindrom syok toksik streptokokus. *S. pyogenes* juga dapat pneumonia neurotik dan terkait dengan empiema pleura khususnya pada anak-anak (Torres *et al.*, 2016). *S. pyogenes* juga dapat menginfeksi permukaan kulit dan jaringan lunak, impetigo, selulitis, bakteremia, myositis, dan fascitis nekrotik. Sebagian besar kasus infeksi *S. pyogenes* diawali dengan invasi pada jaringan luka seperti luka sayatan bedah/pasca bedah dan sepsis postpartum. Namun infeksi dapat juga terjadi langsung di jaringan bagian dalam atau otot pada pasien yang memiliki riwayat toksisitas sistemik (Bennett *et al.*, 2015).

2.4. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang, berukuran 0,5-1,5 μm x 1-2 μm , tidak berspora, tidak memiliki flagel, non-motil, dan bersifat fakultatif anaerob (Makalew *et al.*, 2016). *K. pneumoniae*

mampu memfermentasi laktosa dan mereduksi nitrat. Uji indol terhadap *K. pneumoniae* menunjukkan hasil negatif sedangkan uji dekarboksilase lisin dan sitrat menunjukkan hasil positif. *K. pneumoniae* merupakan patogen oportunistik (bukan patogen sebenarnya) dan hanya menyerang penderita dengan imunitas lemah. *K. pneumoniae* patogen mampu membentuk kapsul yang terdiri dari antigen K dan antigen O sebagai bagian dari faktor virulensinya (Qolbi dan Yuliani, 2018).

Koloni *Klebsiella pneumoniae* memiliki ciri yang berbeda pada media yang berbeda. Pada media *blood agar* (BA), koloni *K. pneumoniae* memiliki ciri-ciri berwarna abu-abu, koloni cembung, *smooth* (halus) dan tidak melisiskan sel darah (tipe gamma hemolisis). Artinya, bakteri ini tidak memiliki hemolisin sebagai salah satu faktor virulensinya. Sementara pada media *Mac Conkey* koloni *K. pneumoniae* memiliki ciri-ciri yaitu koloni berukuran besar, adanya pertumbuhan mukoid, cembung, halus, berwarna merah muda hingga merah bata, dan tidak dapat meragikan laktosa secara sempurna.

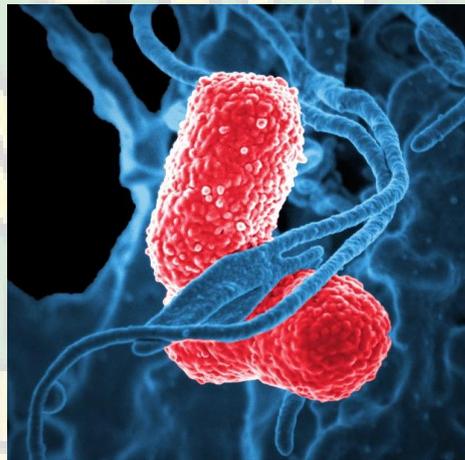
Habitat asli *Klebsiella pneumoniae* adalah di tanah. *K. pneumoniae* dapat pula ditemukan di mulut, kulit, jaringan usus, dan jaringan mukosa saluran pernapasan. Koloni *K. pneumoniae* juga dapat ditemukan di kerongkongan, saluran pencernaan, luka, dan urin penderita infeksi saluran kemih. *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran pernapasan akut. Menurut Data Pusat Paru di Indonesia menyebutkan bahwa *K. pneumoniae* merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi dengan persentase sebanyak 45,8%. Gejala umum yang ditimbulkan pada kasus infeksi *K. pneumoniae* berupa

pendarahan dan penebalan jaringan mukosa organ yang terinfeksi (Makalew *et al.*, 2016).

2.4.1. Klasifikasi

Adapun klasifikasi *Klebsiella pneumoniae* adalah sebagai berikut (Centers for Disease Control and Prevention, 2014):

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



Gambar 2.3 *Klebsiella pneumonia* (Sumber: Centres for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library, 2014)

2.4.2. Patogenitas

Klebsiella pneumoniae dapat menjadi salah satu patogen yang berbahaya. Patogenitas *K. pneumoniae* didukung oleh beberapa faktor virulensi yaitu kapsul, antigen K dan O, serotipe lipopolisakarida, adhesin fimbrial, adhesin non-fimbrial, dan enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL).

Selain itu, faktor-faktor virulensi ini juga terlibat dalam proses invasi dan kolonisasi bakteri *K. pneumoniae* pada permukaan jaringan mukosa organ (Agustina *et al.*, 2019).

Klebsiella pneumoniae merupakan salah satu bakteri patogen yang mampu menyebar dengan cepat terutama di saluran pencernaan dan pernapasan. *K. pneumoniae* dapat mencapai saluran pernapasan melalui beberapa cara yaitu melalui udara, kontak langsung dengan penderita, kontak tidak langsung dengan benda yang terpapar virus atau bakteri dari penderita, inhalasi bahan aerosol, kolonisasi pada permukaan mukosa jaringan (Qolbi dan Yuliani, 2018).

Klebsiella pneumoniae mampu menginfeksi saluran pernapasan dengan cukup serius. Gejala umum yang mengindikasikan adanya infeksi saluran pernapasan berupa intensitas batuk yang sering disertai dahak dalam waktu yang lama. Gejala lainnya yaitu sesak napas, menggigil dan demam. Hasil pemeriksaan terhadap sampel sputum pasien dengan gejala batuk mengindikasikan adanya infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* (Panggalo *et al.*, 2013; Manggopa *et al.*, 2016). Beberapa penyakit lain dengan gejala batuk antara lain pneumonia, penyakit paru obstruksi kronik (PPOK) eksaserbasi akut, bronkiektasis dan asma bronkial (Pakadang dan Salim, 2019).

Klebsiella pneumoniae dapat menyebabkan infeksi nosokomial seperti pneumonia (Azizah dan Artanti, 2019), PPOK, dan infeksi saluran kemih (ISK). Bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi piogenik, abses, bakteremia,

bronkitis, dan infeksi jaringan lunak. Rata-rata angka kejadian ISK yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* berkisar 6-17% (Qolbi dan Yuliani, 2018). Berdasarkan data Pusat Paru di Indonesia, persentase penyakit infeksi saluran pernapasan yang disebabkan *K. pneumoniae* sebanyak 45,18% (Juariah dan Adillah, 2018). Menurut American Lung Association (2015) angka kejadian pneumonia sekitar 7-14% dan rata-rata angka kejadian PPOK di Amerika Serikat pada tahun 2013 adalah 3-11% (*Global Initiative for Chronic Obstructive Disease*, 2015). Penelitian Lubis *et al.* (2016) menyatakan bahwa persentase kejadian infeksi pernapasan bawah di RSUP M. Djamil yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* mencapai 56,25%. Selain itu *K. pneumoniae* juga berperan dalam menyebabkan penyakit pneumonia (Azizah dan Artanti, 2019).

2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif aerob berbentuk batang dan merupakan anggota dari kelas Gamma Proteobacteria. *P. aeruginosa* berukuran 1.5-3.0 μm dengan lebar 0.5-0.8 μm , dan memiliki satu flagel tunggal (monoflagelata) sehingga mampu bergerak bebas. Normalnya *P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 25°C hingga 37°C, namun ia juga memiliki tingkat toleransi suhu yang tinggi. Hal ini membuat *P. aeruginosa* mampu tumbuh di suhu 42°C sekaligus menjadi ciri pembeda *P. aeruginosa* dari spesies *Pseudomonas* lainnya (Wu *et al.*, 2015).

Pseudomonas aeruginosa tergolong patogen oportunistik bagi manusia dan terkadang menjadi patogen sejati bagi tumbuhan (*Thodar's Online Textbook of*

Bacteriology, 2020). *P. aeruginosa* umumnya hidup bebas di tanah, air, lapisan permukaan tumbuhan dan di permukaan kulit hewan (Wu *et al.*, 2015). Bakteri ini juga dapat hidup pada permukaan benda seperti bungkus makanan dan peralatan rumah sakit dalam bentuk biofilm. *P. aeruginosa* dapat kebal terhadap berbagai agen antibakteri seperti komponen antiseptik, desinfektan ringan, dan antibiotik serta mampu bertahan dalam kondisi salinitas yang tinggi (Batt dan Tortorello, 2014).

Isolat *Pseudomonas aeruginosa* memiliki tiga tipe koloni. *P. aeruginosa* non-patogen yang diisolasi dari tanah atau air memiliki ciri koloni berukuran kecil dan kasar. Isolat klinis *P. aeruginosa* patogen cenderung memiliki koloni halus, cembung dan bertepi rata. Dan isolat klinis *P. aeruginosa* yang diisolasi dari sekresi saluran pernafasan dan saluran kemih menunjukkan tipe mukoid (berlendir). *P. aeruginosa* juga memiliki dua pigmen warna yaitu pyoverdine dan pyosianin. Pigmen pyosianin menyebabkan nanah berwarna kebiruan dan menjadi ciri khas infeksi supuratif yang disebabkan *P. aeruginosa* (Wu *et al.*, 2015).

2.5.1. Klasifikasi

Adapun klasifikasi *Klebsiella pneumoniae* adalah sebagai berikut (Centers for Disease Control and Prevention, 2013):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 2.4 *Pseudomonas aeruginosa* (Sumber: *Centers for Disease Control and Prevention*, 2013)

2.5.2. Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa adalah patogen oportunistik yang menyerang penderita yang memiliki imunitas lemah. *P. aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi pada saluran urinaria (Goldman dan Schafer, 2012), saluran pernafasan, infeksi kulit dan jaringan lunak, bakteremia hingga sistem pencernaan dan darah khususnya bagi penderita yang memiliki luka bakar, kanker, tuberkulosis dan AIDS. Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) rata-rata kasus infeksi *P. aeruginosa* di rumah sakit Amerika Serikat sekitar 0,4%. *P. aeruginosa* merupakan patogen penyebab infeksi nosokomial paling umum keempat (sebesar 10% kejadian) dari seluruh kasus infeksi yang terjadi di rumah sakit (Wu *et al.*, 2015).

Multidrug-resistant (MRD) *Pseudomonas aeruginosa* kini menjadi salah satu masalah kesehatan utama di dunia. *P. aeruginosa* mampu menghasilkan gen resistensi secara alami dan mampu mentransfer gen-gen ini secara konjugasi dan transduksi. Isolat *P. aeruginosa* patogen dapat ditemukan

di lingkungan seperti air dan dilaporkan mengalami perkembangan menjadi lebih resisten terhadap antibiotik yang digunakan dalam praktik klinis (Batt dan Tortorello, 2014). Isolat MRD *P. aeruginosa* dapat resisten terhadap antibiotik piperacillin, ceftazidime, ciprofloxacin, carbapenem, dan *aminoglycosides* (Preedy dan Watson, 2020).

2.6. Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum*)

Kalayu adalah tanaman berkayu dari famili Sapindaceae, memiliki nama lain yaitu *Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh dan *Sapindus rubiginosa* Roxb.. Di China tanaman ini dikenal dengan nama Chi Cai, Bara harina dan Chagalnadi (Bangladesh), Chan ru (Thailand), Terajang dan Kalaju (Malaysia), Damai, Borobongan, Suang rason di Borneo, dan Kalayu, Katilayu atau Kilalayu di Indonesia (*Plant of Southeast Asia*, 2019).. Kalayu umumnya ditemui di hutan-hutan wilayah tropis. Persebaran tanaman ini meliputi bagian utara India, Bangladesh, China, Indo-China, Asia Tenggara, New Guinea, hingga wilayah tropis Australia (*Philiphine Medicinal Plant*, 2016).

Selain di konsumsi, kalayu sudah sejak lama dimanfaatkan oleh masyarakat setempat untuk pengobatan. Secara ekstensif tanaman kalayu digunakan untuk pengobatan folklorik (pengobatan yang diwariskan secara turun-temurun) seperti untuk mengatasi demam (akar dan daun), batuk (rebusan akar), dan permasalahan pada kulit (*Plant of Southeast Asia*, 2019). Selain itu daun kalayu juga dapat digunakan sebagai sumber membran *stabilizer* alami (Rana *et al.*, 2014).

Banyaknya manfaat dan potensi yang terdapat pada tanaman kalayu ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam AL-Quran surah Asy-Syu'ara (26):7:

(٧) كَرِيمٌ وَجَدْنَاهُمْ فِيهَا أَنْبَتًا كَمَا لِلْأَرْضِ ضِبَابٍ بَيْرٍ وَأَوْلَامٍ

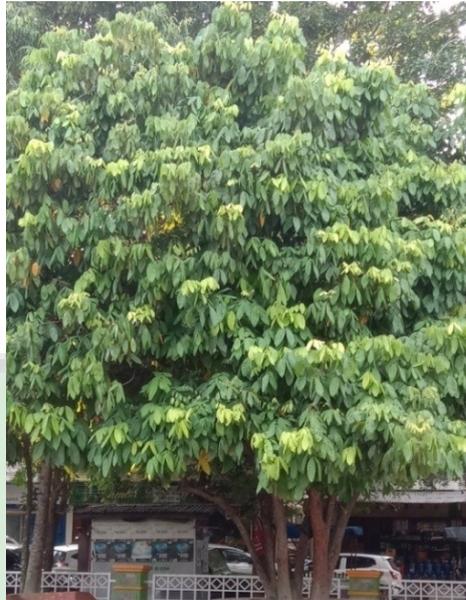
“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”

Ayat di atas menjelaskan bahwa terdapat banyak tanaman di bumi ini (termasuk tanaman kalayu) yang memiliki sejuta manfaat bagi makhluk hidup lainnya, termasuk sebagai obat bagi berbagai macam penyakit. Hal ini merupakan tanda kebesaran Allah SWT sekaligus nikmat-Nya yang harus selalu kita syukuri. Salah satu cara untuk mensyukuri nikmat-Nya tersebut adalah dengan mempelajari dan mengkaji tanda-tanda kebesaran Allah SWT yang terdapat pada makhluk ciptaan-Nya untuk kemashlahatan umat manusia.

2.6.1. Klasifikasi Tanaman Kalayu

Berikut ini adalah klasifikasi tanaman kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blume) (*Philiphine Medicinal Plant*, 2016):

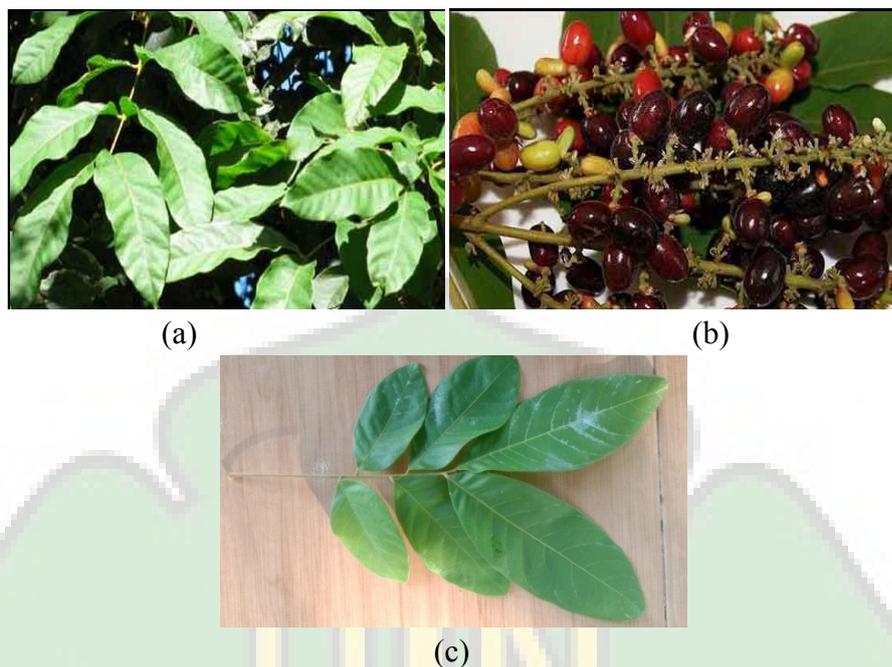
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Superdivisi	: Spermatophyta (Berbiji)
Divisi	: Magnoliophyta (Berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua)
Subkelas	: Malvidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Sapindaceae
Genus	: <i>Erioglossum</i>
Spesies	: <i>Erioglossum rubiginosum</i>



Gambar 2.5 Pohon Kalayu (*Erioglossum rubiginosum*)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

2.6.2. Morfologi Tanaman Kalayu

Kalayu dapat digolongkan dalam perdu atau pohon. Tinggi tanaman berkisar 2-3 meter (*Useful Tropical Plant*, 2021). Batangnya berkayu dan seluruh bagian tanaman ini ditumbuhi oleh rambut-rambut halus. Daunnya berupa daun majemuk dengan panjang 15 hingga 50 cm, dan terdiri dari 4-6 anak daun. Tangkai anak daun kurang dari 5 mm (*Plant of Southeast Asia*, 2019), anak daun berbentuk elips atau langset, pangkal dan ujung anak daun tumpul dengan tulang daun menyirip. Panjang anak daun berkisar 7,5-18 cm dan lebar 3-7 cm (*Philiphine Medicinal Plant*, 2016).



Gambar 2.6 Kalayu (Sumber: *Philiphine Medicinal Plant*): (a) Daun Kalayu, (b) Buah Kalayu, (c) Daun Kalayu di Taman Bambu Runcing Kota Langsa (Sumber: Dokumentasi)

Bunga tergolong *monoceus* berkelamin ganda. Bunganya majemuk berbentuk tandan, berwarna putih dengan diameter 5 mm, dan tersusun melingkar dalam kelompok-kelompok kecil disepanjang tangkai bunga dengan panjang 12-30 cm. Buah kalayu berbentuk bulat telur, panjang sekitar 1 cm dan memiliki rasa yang manis. Warna buah beragam tergantung usia kematangan. Buah berwarna kuning, oranye, dan merah, serta berwarna ungu kehitaman jika sudah matang sempurna (*Philiphine Medicinal Plant, 2016*).

2.6.3. Kandungan Kimia Tanaman Kalayu

Tanaman kalayu memiliki senyawa kimia yang beragam. Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap daun, buah, bunga dan kulit batang tanaman menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki senyawa kimia dan kandungan bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan. Daun kalayu diketahui

memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan senyawa fenol yang bersifat antimikroba dan berperan sebagai antioksidan (Rana *et al.*, 2014). Ekstrak metanol kulit batang tanaman kalayu juga diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin dan karbohidrat (Barua *et al.*, 2013).

Penelitian terhadap bunga dan buah kalayu juga dilakukan. Analisis terhadap kandungan minyak esensial bunga kalayu menunjukkan bahwa minyak esensial bunga kalayu mengandung neridol (34,8%), asam palmitat (13,2%), dan farsenol (10,0%). Sementara minyak esensial dari buah kalayu mengandung asam palmitat (66,1%), asam miristik (10,0%), dan asam linolik (5,5%) (*Philiphine Medicinal Plant*, 2016).

2.7. Ekstraksi Senyawa dari Tanaman

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan senyawa atau zat kimia yang dapat larut dari suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut cair. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik senyawa aktif dari sel yang terdapat pada bahan alam tersebut (Sutrisna, 2016).

Proses ekstraksi secara umum digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Penggolongan ini didasari pada ada tidaknya penggunaan kalor atau temperatur yang tinggi selama proses ekstraksi. Contoh ekstraksi cara dingin yaitu metode maserasi dan metode perkolasi. Beberapa yang termasuk ekstraksi cara panas antara lain metode infundasi, metode sokletasi, metode digesti dan metode refluk (Mukhriani, 2014).

Tahapan dalam proses ekstraksi tanaman secara umum ada dua yaitu (1) pemilahan bagian tanaman, pengeringan dan penggilingan, dan (2) pemilihan pelarut. Berdasarkan polaritasnya pelarut digolongkan menjadi tiga: (1) pelarut polar yaitu air, etanol dan metanol, (2) pelarut semipolar yaitu etil asetat dan diklorometan, dan (3) pelarut non polar seperti n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan lain-lain. Pemilihan metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan didasarkan atas sifat bahan dan senyawa kandungan bahan yang akan diisolasi (Mukhriani, 2014).

2.7.1. Metode Ekstraksi Senyawa dari Tanaman

Metode ekstaksi dapat berupa metode panas dan metode dingin. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dapat ditentukan dari sifat senyawa yang ingin diekstrak dan pelarut yang digunakan. Jika senyawa yang ingin diekstraksi termasuk senyawa termolabil, maka metode maserasi atau perkolasi adalah pilihan yang tepat. Ekstaksi dengan cara dingin juga lebih efektif untuk mengesktrak senyawa-senyawa yang belum diketahui sifatnya. Adapun beberapa metode ekstraksi senyawa (Sutrisna, 2016) yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang sangat sederhana. Penyarian senyawa kimia atau zat aktif suatu bahan dilakukan dengan merendam bahan dengan pelarut tertentu pada suhu kamar dan diaduk secara berkala. Perendaman dilakukan di tempat yang terlindung dari sinar matahari. Selama proses perendaman cairan pelarut akan masuk ke sitoplasma. Perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel menyebabkan

senyawa aktif berdifusi keluar dari sel dan terlarut dalam cairan pelarut hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi (Sutrisna, 2016).

Proses maserasi memerlukan waktu yang lama dan jumlah pelarut yang banyak. Umumnya proses maserasi memerlukan waktu 5 hari. Beberapa penelitian melakukan ekstraksi dengan maserasi selama 3 hari (Qolbi dan Yuliani, 2018), dan 1 hari sesuai kebutuhan (Azizah dan Artanti, 2019). Perbandingan simplisia dan pelarut untuk maserasi adalah 1:4. Selama perendaman rendemen sesekali diaduk dan disaring (filtrasi) setelah 5 hari. Residu atau ampas hasil ekstraksi pertama dimaserasi kembali (re-maserasi) dengan cairan pelarut yang baru. Proses re-maserasi bisa berulang beberapa kali sampai cairan pelarut jernih (Sutrisna, 2016).

Kelebihan maserasi adalah prosesnya sederhana dan mudah dilakukan, tidak memerlukan banyak tempat, dan tidak merusak senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (tidak tahan panas) (Mukhriani, 2014). Kekurangan metode maserasi adalah prosesnya memerlukan waktu yang relatif lama dan pelarut dalam jumlah banyak (Sutrisna, 2016).

b. Perkolasi

Perlokasi merupakan suatu metode esktraksi yang dilakukan dengan cara mengalirkan cairan pelarut secara lambat melewati serbuk simplisia yang telah dibasahi dalam suatu alat perkolator. Perkolasi umumnya dilakukan pada suhu ruang tanpa prosedur pemanasan. Bagian tanaman yang akan diekstrak direndam dan dibiarkan dalam wadah tertutup selama empat jam lalu dimasukkan ke dalam alat perkulator tertutup selama 24 jam.

Perkolasi bertujuan agar seluruh senyawa berkhasiat dapat terlarut sepenuhnya baik yang bersifat termolabil maupun termostabil (Endarini, 2016).

Prinsip kerja perkolasi adalah dengan mengalirkan cairan pelarut melewati simplisia. Serbuk simplisia akan diletakan dalam wadah silinder dan bagian bawahnya diberi sekat berpori. Selanjutnya pelarut akan dialirkan melewati simplisia tersebut dari atas ke bawah dengan dipengaruhi beberapa faktor seperti: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, osmosis, difusi, adesi, daya geser (friksi), dan daya kapiler. Penambahan pelarut terus dilakukan sampai tercapainya keadaan jenuh (tidak terdapat lagi senyawa aktif pada simplisia) yang ditandai dengan tidak terdapat lagi warna pada tetesan perkolat (Sutrisna, 2016).

Langkah ekstraksi dengan metode perkolasi diawali dengan merendam simplisia dalam pelarut dengan perbandingan 2:1 selama 3 jam. Massa dipindahkan secara bertahap ke dalam perkolator dan ditambahkan dengan pelarut, lalu ditutup selama 1 x 24 jam. Selanjutnya perkolator di buka dengan kecepatan 1 ml/menit. Filtrat yang diperoleh ditutup dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari (Mukhriani, 2014).

Kelebihan ekstraksi perkolasi adalah simplisia selalu dialiri oleh pelarut baru. Kelemahan metode ini adalah diperlukan waktu yang lama dalam ekstraksi, jumlah pelarut yang banyak, dan simplisia tidak homogen

karena ketidakmampuan pelarut menjangkau seluruh bagian simplisia (Mukhriani, 2014).

c. Infundasi

Infundasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut air dan disertai pemanasan selama 15 menit pada suhu 90°C. Pertama-tama serbuk simplisia diletakan dalam bejana infundasi dan direndam dengan air. Kemudian bejana dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit (Sutrisna, 2016).

d. Sokletasi

Sokletasi merupakan metode ekstraksi cara panas berkesinambungan dengan menggunakan alat soklet (Mukhriani, 2014). Dikatakan berkesinambungan karena pelarut akan melaui siklus berulang dalam mengekstrak simplisia. Pertama-tama serbuk simplisia akan diletakan dalam kantong/sarung selulosa dan ditempatkan di bawah kondensor di atas labu. Selanjutnya pelarut dipanaskan hingga menguap dan naik melalaui pipa samping. Uap pelarut kemudian diembunkan kembali sehingga cairan pelarut akan turun dan mengekstrak simplisia. Pelarut akan mengalami siklus berulang jika mampu mencapai sifon dan turun ke bagian labu alas bulat. Proses sokletasi ini akan terus berlangsung hingga simplisia tidak mengandung senyawa aktif yang ditandai dengan kejernihan larutan (Sutrisna, 2016).

e. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi modifikasi dari maserasi dan prosesnya disertai pemanasan. Digesti dilakukan dengan merendam

simplisia dalam pelarut dan diaduk secara kontinyu disertai dengan pemanasan. Umumnya suhu yang dipakai dalam metode ini berkisar 40°C-50°C (Sutrisna, 2016).

f. Refluk

Refluk adalah metode ekstraksi secara berkesinambungan dengan pelarut pada suhu didihnya (pelarut) selama waktu tertentu (Mukhriani, 2014). Cara kerja metode ini yaitu diawali dengan merendam simplisia dengan pelarut dalam labu alas bulat yang telah dilengkapi alat pendingin. Lalu simplisia dan pelarut dipanaskan hingga pelarut mendidih. Pelarut yang menguap nantinya diembunkan dengan alat pendingin dan akan kembali digunakan untuk mengekstrak simplisia (Sutrisna, 2016).

2.8. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen pendeteksi golongan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan lain-lain (Putri *et al.*, 2013). Ekstrak tanaman yang ingin diuji terlebih dahulu dimasukan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan reagen pendeteksi. Perubahan yang terjadi pada ekstrak akan menentukan kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman tersebut (Purwati *et al.*, 2017). Di antara uji yang dilakukan pada skrining fitokimia adalah sebagai berikut:

a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan dua jenis reagen yaitu pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendrof. Ekstrak diambil sebanyak beberapa tetes dan dimasukkan dalam dua tabung berbeda. Tabung pertama ditetesi dengan 2-3 tetes pereaksi Mayer dan tabung kedua ditetesi beberapa pereaksi Dragendrof. Hasil uji dikatakan positif jika terjadi perubahan warna larutan ekstrak disertai endapan berwarna jingga pada pereaksi Dragendrof dan endapan kuning pada pereaksi Mayer (Putri *et al.*, 2013).

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid menggunakan serbuk Magnesium (Mg) dan larutan HCl pekat. Sampel ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg, kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan HCl dan dikocok. Perubahan Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada larutan mengindikasikan adanya senyawa flavonoid (Purwati *et al.*, 2017).

c. Uji Tanin dan Polifenol

Uji tanin dan senyawa polifenol menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman pada larutan yang ditambahi peraksi FeCl_3 1% menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin dan polifenol pada larutan ekstrak (Putri *et al.*, 2013).

d. Uji Saponin

Uji saponin menggunakan pereaksi HCl 2N. Lrutan positif mengandung saponin apabila terdapat busa stabil yang muncul selama 30 menit setelah penambahan 1 tetes pereaksi HCl 2N (Purwati *et al.*, 2017).

e. Uji Steroid dan Triterpenoid

Uji steroid dan triterpenoid menggunakan 2 tetes larutan CHCl_3 dan ditambah 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard (Putri *et al.*, 2013). Perubahan warna larutan menjadi merah dan disusul dengan perubahan warna atau terbentuknya cincin biru kehijauan menunjukkan bahwa larutan positif mengandung steroid. Jika terbentuk warna merah ungu maka larutan positif mengandung senyawa triterpenoid (Purwati *et al.*, 2017).

f. Uji Glikosida

Uji kandungan glikosida menggunakan 10 tetes asam sulfat. Larutan ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dengan 5 ml asam asetat anhidrat lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat. Reaksi positif glikosida ditandai dengan adanya perubahan warna biru dan hijau pada larutan (Putri *et al.*, 2013).

2.9. Uji Antibakteri

Untuk mengetahui suatu zat atau ekstrak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri maka perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu difusi dan delusi.

2.9.1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Prinsip kerja metode ini adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasikan mikroba uji (Yusmaniar *et al.*, 2017). Indikasi adanya aktivitas antibakteri suatu ekstrak atau senyawa antimikroba dapat dilihat dari pengukuran zona hambat atau zona bening yang terbentuk pada

media. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas ini adalah $10^5 - 10^8$ CFU/mL (Nasrullah, 2015).

Metode difusi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

a. Metode Sumuran/Lubang

Metode sumuran atau lubang dilakukan dengan membuat lubang kecil dengan diameter tertentu pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Lalu lubang diinjeksikan senyawa atau ekstrak yang akan diuji. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar lubang setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Yusmaniar *et al.*, 2017).

b. Metode Cakram Kertas

Metode uji antibakteri ini paling umum digunakan. Metode cakram kertas (*Disk Diffusion Test*) atau dikenal dengan metode *Kierby-Bauer* merupakan metode uji kepekaan dengan memanfaatkan kertas cakram (*disk*) sebagai media pengantar ekstrak. Ekstrak atau senyawa antibakteri dengan konsentrasi tertentu terlebih dahulu dituangkan ke dalam *disk* lalu ditanam di atas media *Muller-Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Senyawa ekstrak pada kertas cakram akan berdifusi ke dalam media agar. Aktivitas penghambatan senyawa ekstrak terhadap bakteri uji akan terlihat dari zona bening (zona hambat) yang terbentuk di sekitar kertas cakram setelah inkubasi selama 24 jam (Brown dan Smith, 2014).

2.9.2. Metode Dilusi

Metode dilusi sering dikenal dengan metode pengenceran. Prinsip kerja metode dilusi adalah dengan melarutkan atau mengencerkan senyawa

antibakteri ke dalam media padat atau cair, yang kemudian diinokulasikan bakteri uji. Aktivitas antimikroba metode ini dilihat dengan menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi terkecil zat antimikroba yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Jika bakteri tidak tumbuh pada media maka diketahui adanya aktivitas penghambatan dari zat antibakteri yang dilarutkan pada media. Metode dilusi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu (Yusmaniar *et al.*, 2017):

a. Metode dilusi padat

Zat antibakteri dengan konsentrasi tertentu dilarutkan ke dalam media agar. Media dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan beku lalu diinokulasikan dengan bakteri uji dan diinkubasi. Konsentrasi terendah zat yang masih memberikan efek penghambatan ditetapkan sebagai KHM.

b. Metode dilusi cair

Metode dilusi cair dikenal juga dengan metode serial pengenceran dalam tabung. Zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, lalu diinokulasikan bakteri uji dan diinkubasi. Konsentrasi terendah zat yang masih memberikan efek penghambatan ditetapkan sebagai KHM.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga April 2021 selama 8 minggu. Identifikasi senyawa kimia dari daun kalayu menggunakan metode skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Analisis Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry. Proses ekstraksi maserasi senyawa kimia daun kalayu dan uji aktivitas antibakteri ekstrak senyawa kimia tanaman kalayu terhadap bakteri uji dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

3.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdapat 4 konsentrasi ekstrak sebagai perlakuan dengan 5 kali ulangan.

3.3. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, *beaker glass*, spatula, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow cabinet (LAFC)*, *rotary evaporator*, *waterbath*, mikropipet, jarum ose, jangka sorong, blender, timbangan analitik, inkubator, autoklaf, dan oven.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun kalayu, isolat bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25923, isolat bakteri *Streptococcus*

pyogenes ATCC 19615, isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495, isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* strain PA01, *Natrium Agar* (NA), *Muller-Hilton Agar* (MHA), antibiotik kloramfenikol 30 µg/disk antibiotik amoksisilin 25 µg/disk, kertas saring, kertas cakram, tisu, *cotton swab* steril, plastik *wrab*, aluminium foil, pelarut etil asetat, DMSO (100%), larutan NaCl fisiologis (0,9%), dan aquades.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Persiapan Tanaman

Sebanyak 500 gram daun kalayu dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dijemur tanpa terkena sinar matahari langsung selama 7 x 24 jam (Iien *et al.*, 2018). Hal ini bertujuan untuk menghindari degradasi metabolit sekunder akibat sinar matahari. Selanjutnya daun yang sudah kering diblender untuk memperkecil ukuran partikelnya hingga menyerupai serbuk kasar (Qolbi dan Yuliani, 2018). Daun kalayu diambil dari Kecamatan Birem Bayeun, Aceh Timur.

3.4.2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dibungkus untuk sterilisasi. Cawan petri dan tabung reaksi disterilisasi menggunakan oven (sterilisasi kering). Mulut tabung reaksi ditutup dengan kapas kemudian tabung reaksi dan cawan petri dibungkus dengan kertas dan disterilkan menggunakan oven pada suhu 170 °C selama 1 jam. Bahan-bahan seperti media dan alat gelas seperti erlenmeyer disterilkan dengan autoklaf dengan terlebih dahulu ditutup bagian atasnya dengan *aluminium foil*.

Selanjutnya alat dan bahan dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm (Kandou *et al.*, 2016; Iien *et al.*, 2018).

3.4.3. Pembuatan Media

3.4.3.1. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar (NA) pada penelitian ini digunakan untuk meremajakan isolat bakteri uji. Pembuatan media dengan melarutkan 3 gr media NA ke dalam 100 ml aquades steril. Media dihomogenkan dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga homogen (Iien *et al.*, 2018). Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media dituang ke dalam cawan petri sebanyak ± 10 mL per cawan dan dibiarkan dingin (Hudzicki, 2016).

3.4.3.2. Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba adalah *Muller Hinton Agar* (MHA). Pembuatan media MHA dengan melarutkan 23 gr media MHA ke dalam 600 mL aquades steril. Media dihomogenkan dan dipanaskan dengan *hot plate* hingga homogen (Iien *et al.*, 2018). Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Media dituang ke dalam cawan petri sebanyak ± 25 mL per cawan dan dibiarkan dingin (Hudzicki, 2016).

3.4.4. Peremajaan Isolat Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Isolat murni *S. aureus* dan *P. aeruginosa* diperoleh dari Laboratorium FMIPA Unsyiah Banda Aceh, sedangkan isolat murni *S. pyogenes* dan *K. pneumonia* diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta. Isolat murni semua bakteri uji dinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA) secara aseptik, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Sowmya *et al.*, 2014).

3.4.5. Estraksi Daun Kalayu

Ekstraksi daun kalayu dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena mampu menghasilkan ekstrak dengan kemurnian yang tinggi. Pertama, serbuk kasar daun kalayu ditimbang sebanyak 100 gr dan direndam dalam 900 mL larutan etil asetat (Iien *et al.*, 2018). Sampel dimaserasi selama 3 x 24 jam dan diaduk secara berkala (Qolbi dan Yuliani, 2018). Maserat kemudian disaring dengan kertas saring (filtrat I) dan ampasnya dimaserasi kembali dengan 450 mL larutan etil asetat selama 1 hari dan disaring kembali (filtrat II). Filtrat I dan Filtrat II dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporation* dengan kecepatan 50 rpm dan suhu 40°C untuk memisahkan ekstrak dan pelarutnya (Kandou *et al.*, 2016) dilanjutkan menggunakan penanas air untuk memperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat (Haryoto *et al.*, 2018).

3.4.6. Pembuatan Konsentrasi

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi ekstrak yaitu 1 mg/ml, 0,75 mg/ml, 0,50 mg/ml dan 0,25 mg/ml. Pembuatan konsentrasi diawali dengan pembuatan larutan stok dengan konsentrasi 10 mg/ml menggunakan pelarut (DMSO). Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 5 ml. Konsentrasi ekstrak 1 mg/ml menggunakan 0,5 ml larutan stok ditambahkan dengan 4,5 ml pelarut DMSO. Konsentrasi ekstrak 0,75 mg/ml didapat dengan mencampur 0,375 ml larutan stok dengan 4,625 ml DMSO. Konsentrasi ekstrak 0,50 mg/ml diperoleh dengan mencampur 0,250 ml larutan stok dengan 4,750 ml pelarut DMSO. Dan konsentrasi ekstrak 0,25 mg/ml diperoleh dengan mencampur 0,125 ml larutan stok dengan 4,875 ml pelarut DMSO (Iien *et al.*, 2018; Qolbi dan Yuliani, 2018).

3.4.7. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kalayu

Identifikasi senyawa kimia tanaman kalayu dilakukan dengan menggunakan metode skrining fitokimia. Ekstrak kental daun kalayu hasil maserasi diuji dengan reagen tertentu untuk menentukan kandungan senyawa kimianya. Analisis yang dilakukan untuk menentukan adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Purwati *et al.*, 2017; Azizah dan Artanti, 2019).

3.4.8. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Kalayu

3.4.8.1. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan secara aseptik. Kultur bakteri uji berusia 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ose steril dan

dilarutkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL larutan NaCl fisiologis steril. Suspensi yang terbentuk disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0,5 atau setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Iien *et al.*, 2018).

3.4.8.2. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disk difusi agar*. *Cotton swab* steril dicelupkan ke dalam 5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumonia*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Cotton swab* diangkat sambil ditekan-tekan pada dinding tabung reaksi dengan gerakan melingkar untuk mengurangi cairan suspensi yang terserap pada *cotton swab*, kemudian digoreskan pada permukaan media *Muller Hinton Agar* (MHA) secara merata (Hudzicki, 2016). Kemudian pada masing-masing cawan yang telah diinokulasikan suspensi bakteri uji diletakan 4 buah *blankdisk* menggunakan pinset steril. Setiap *blankdisk* kemudian ditetesi 20 µl larutan ekstrak dengan konsentrasi berbeda dan diberi label. Kontrol positif menggunakan disk antibiotik kloramfenikol untuk bakteri Gram negatif dan disk antibiotik amoksisilin untuk bakteri Gram positif, sedangkan kontrol negatif menggunakan disk yang ditetesi 20 µL larutan DMSO 100%. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur dengan penggaris serta dicatat dalam tabel pengamatan (Qolbi dan Yuliani, 2018). Diameter zona hambat dapat diukur dengan rumus (Makalew *et al.*, 2016):

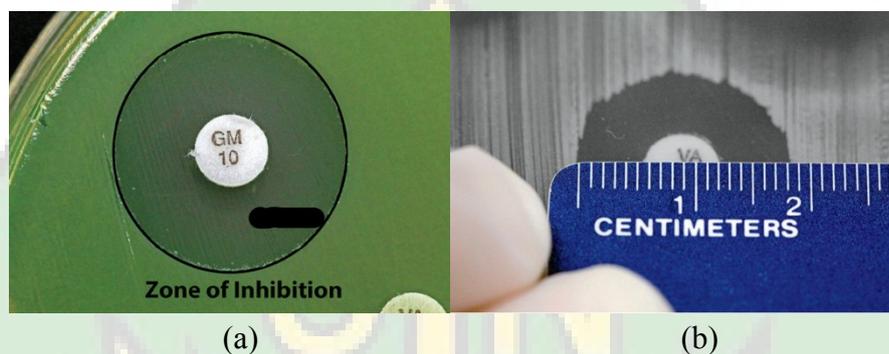
$$\frac{(D_v - D_c) + (D_h - D_c)}{2}$$

2

Keterangan: D_c : diameter cakram

D_v : diameter vertikal

D_h : diameter horizontal



Gambar 3.1 Zona Hambat dan Pengukurannya. Zona Hambat (a), Pengukuran Diameter Horizontal Zona Hambat (b). (Sumber: Brown dan Smith, 2014).

3.5. Teknik Analisis Data

Analisis kualitatif ekstrak etil asetat daun kalayu dilakukan dengan metode skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan kimia ekstrak etil asetat daun kalayu.

Analisis hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengamati dan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil pengukuran diameter semua zona hambat kemudian dihitung rata-rata dan standar deviasinya (SD) (Qolbi dan Yuliani, 2018). Selanjutnya dilakukan uji deskriptif, uji normalitas dan uji homogenitas. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan metode *One-way ANOVA* untuk melihat ada atau tidak perlakuan yang memberikan pengaruh berbeda (Kandou *et al.*, 2016).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

4.1.1. Skrining Fitokimia

Skrining fiokimia ekstrak etil asetat daun kalayu dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam ekstrak tersebut. Adapun hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kalayu sebagaimana tertera dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kalayu

No.	Pengujian	Nama Reagen	Hasil	Keterangan
1.	Flavonoid	Serbuk Mg + Larutan HCl	-	Tidak terjadi perubahan warna larutan ekstrak menjadi kuning, jingga, atau merah bata.
2.	Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih atau putih kekuningan
		Wagner	-	Tidak terbentuk endapan coklat atau coklat kemerahan
		Dragendrof	-	tidak terbentuk endapan jingga atau merah jingga
3.	Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman
4.	Saponin	HCl	+	Terdapat busa stabil selama 15-20 menit

Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum*) yang diteliti adalah daun yang memenuhi kriteria. Daun yang dipilih merupakan daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, masih berwarna hijau dan tidak ada tanda-tanda kerusakan yang disebabkan oleh penyakit atau hama seperti yang terlihat pada Gambar 1. Daun kalayu kemudian dimaserasi. Hasil maserasi tercantum dalam Tabel 4.2.

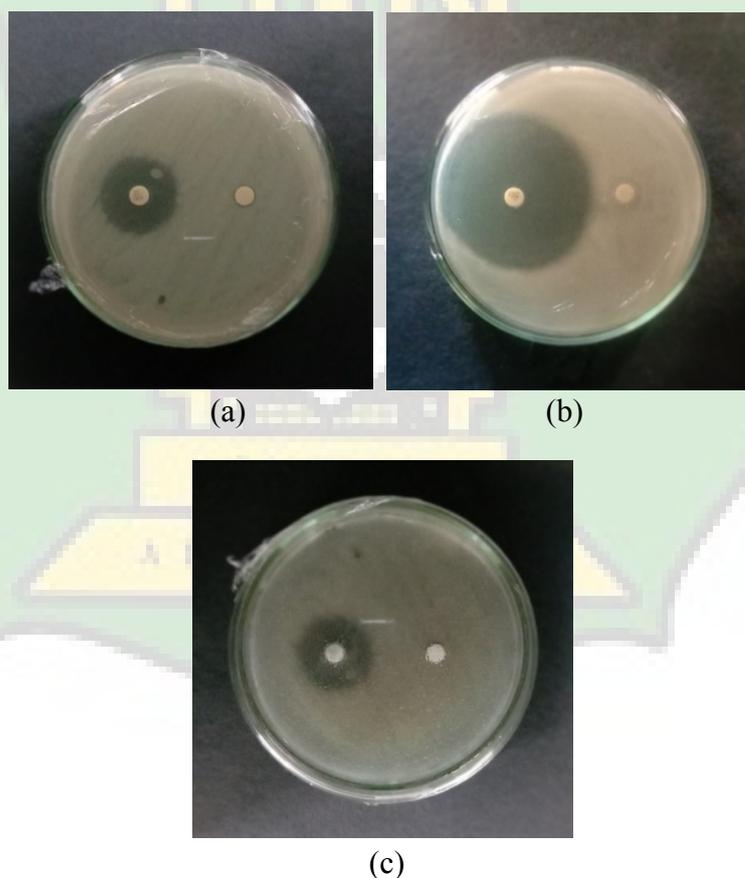
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Berbagai Tahap Ekstraksi

Bobot daun Kalayu Segar (g)	Bobot Simplisia (g)	Volume Filtrat (ml)	Bobot Ekstrak Kental (g)
256	123	1100	3,37

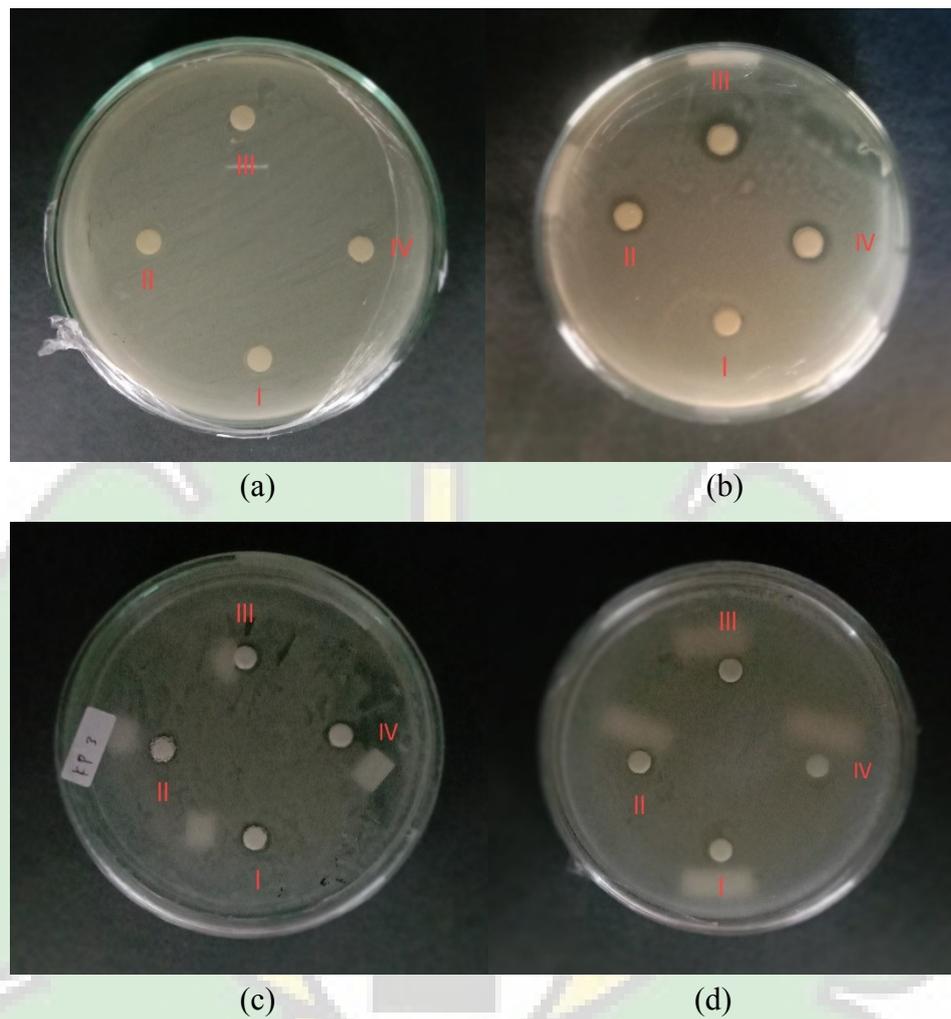
**Gambar 4.1** Daun Kalayu: Daun Segar (a), Ekstrak Kental (b), Daun Kering (c), Simplisia (d) (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

4.1.2. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu

Ekstrak etil asetat daun kalayu memiliki aktivitas antimikroba yang dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat oleh setiap perlakuan terhadap keempat bakteri uji seperti pada Gambar 4.3. Berdasarkan hasil penelitian, aktivitas penghambatan ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubiginosum*) terhadap bakteri uji memiliki rerata dan persentase yang berbeda-beda. Rata-rata zona hambat dan persentase kelompok perlakuan ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4 berikut.



Gambar 4.2 Zona Hambatan Kontrol Terhadap Bakteri Uji: *S. aureus* (a), *S. pyogenes* (b), *K. pneumoniae* (c)



Gambar 4.3 Zona Hambatan Tiap Konsentrasi Ekstrak Daun Etil Asetat Terhadap Bakteri Uji: *S. aureus* (a), *S. pyogenes* (b), *K. pneumoniae* (c), *P. aeruginosa* (d). Keterangan: I = Konsentrasi Ekstrak 0,25 mg/ml, II = Konsentrasi Ekstrak 0,50 mg/ml, III = Konsentrasi Ekstrak 0,75 mg/ml, IV = Konsentrasi Ekstrak 1 mg/ml.

Tabel 4.3 Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu pada Bakteri Gram Positif

Gram Positif						
Konsentrasi (mg/ml)	Rataan Zona Hambat Ekstrak Daun Kalayu (mm)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Persentase Penghambatan (%)	Ket.	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Persentase Penghambatan (%)	Ket.
0,25	0,876	4,36	Lemah	1,858	4,22	Lemah
0,50	1,498	7,47	Lemah	2,836	6,44	Lemah
0,75	1,214	6,05	Lemah	4,358	9,88	Lemah
1	1,78	8,88	Lemah	4,5	10,22	Lemah
Kontrol (+) Amoksilin 25 µg	20,05	-	Sensitif	44,03	-	Sensitif
Kontrol (-) DMSO 100%	0	-	-	0	-	-

Tabel 4.4 Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu pada Bakteri Gram Negatif

Gram Negatif						
Konsentrasi (mg/ml)	Rataan Zona Hambat Ekstrak Daun Kalayu (mm)					
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 33495	Persentase Penghambatan (%)	Ket.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	Persentase Penghambatan (%)	Ket.
0,25	0,848	4,28	Lemah	1,09	5,19	Lemah
0,50	1,874	9,47	Lemah	1,212	5,77	Lemah
0,75	1,634	8,25	Lemah	1,158	5,51	Lemah
1	1,6	8,08	Lemah	1,714	8,16	Lemah
Kontrol (+) Kloramfenikol 30 µg	19,8	-	Sensitif	21	-	Sensitif
Kontrol (-) DMSO 100%	0	-	-	0	-	-

4.1.2.1. Uji Statistik

a. Uji Normalitas

Uji normalitas merupakan salah satu syarat untuk melakukan uji parametrik Anova. Adapun hasil uji normalitas data zona hambat ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas

Uji One-Sample Kolmogorov-Smirnov	Sig.			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Zona hambatan oleh ekstrak etil asetat daun kalayu	0,050	0,050	0,164	0,103

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas menjadi salah satu syarat parametrik agar dapat melakukan uji Anova. Berikut adalah hasil uji homogenitas data zona hambat ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji.

Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas

Uji Varians	Sig.			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Zona hambatan oleh ekstrak etil asetat daun kalayu	0,463	0,770	0,176	0,247

c. Uji *One Way Anova*

Data yang terdistribusi normal dan bersifat homogen selanjutnya dapat dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap keempat

bakteri uji. Adapun hasil uji *One Way Anova* kelompok perlakuan ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri uji seperti dalam Tabel 4.7 berikut.

Tabel 4.7 Hasil Uji *One Way Anova*

Bakteri Uji	Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel (5%)	Sig.
<i>S. aureus</i>	Kelompok perlakuan ekstrak etil asetat daun Kalayu	5	340,331	68,066	119	2.852	0
<i>S. pyogenes</i>		5	1624,28	324,856	73,371	2.852	0
<i>K. pneumoniae</i>		5	327,609	65,522	41,725	2.852	0
<i>P. aeruginosa</i>		5	375,825	75,165	42,163	2.852	0

4.2. Pembahasan

4.2.1. Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.1, salah satu faktor yang mempengaruhi jenis senyawa kimia daun kalayu yang terkandung dalam ekstrak adalah jenis pelarut yang digunakan. Pelarut etil asetat merupakan jenis pelarut semi polar yang memiliki gugus metoksi yang dapat membentuk ikatan hidrogen (Romadanu *et al.*, 2014). Namun ikatan hidrogen pada pelarut etil asetat lebih lemah daripada ikatan hidrogen pada metanol (senyawa polar) sehingga pelarut etil asetat tidak mampu menarik senyawa flavonoid dan alkaloid yang terkandung di dalam daun kalayu.

Pengujian senyawa fitokimia ekstrak etil asetat daun kalayu dipilih berdasarkan sifat senyawa yang diduga mampu menghambat pertumbuhan

mikroorganisme (bersifat antimikroba). Beberapa senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Pengujian senyawa fitokimia ekstrak etil asetat daun kalayu yang telah dilakukan antara lain:

a. Uji Flavonoid

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat daun kalayu tidak mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna larutan ekstrak menjadi merah bata. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang bersifat polar yang terdapat hampir di setiap tumbuhan. Flavonoid umumnya akanlarut oleh pelarut dengan sifat kepolaran yang sama misalnya etanol atau metanol. Sementara pelarut etil asetat yang bersifat semi polar kurang efektif melarutkan senyawa bersifat polar seperti flavonoid dan akan lebih efektif larut pada pelarut polar. Hal ini selaras dengan penelitian Sajib *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa ekstrak methanol daun kalayu dan fraksi kloroform daun tersebut sangat signifikan mengandung senyawa flavonoid. Hasan *et al.*, (2017) juga mengemukakan bahwa ekstrak etanol daun kalayu positif mengandung senyawa flavonoid.

Pengujian flavonoid menggunakan serbuk magnesium yang ditambahkan pada ekstrak etil asetat daun kalayu. Penambahan serbuk magnesium dapat menyebabkan senyawa flavonoid tereduksi sehingga menghasilkan perubahan warna larutan ekstrak menjadi warna merah bata (Simaremare, 2014). Ekstrak etil asetat daun kalayu yang telah diuji pada

penelitian ini tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan serbuk magnesium, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun kalayu tidak mengandung senyawa flavonoid.

b. Uji Alkaloid

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa uji alkaloid pada ekstrak etil asetat daun kalayu menunjukkan hasil negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya endapan pada ekstrak yang ditambahkan dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendrof. Ekstrak etil asetat daun kalayu pada penelitian ini tidak mengandung senyawa alkaloid diduga karena perbedaan polaritas antara senyawa alkaloid dan pelarut. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kalayu (Hasan *et al.*, 2017) dan ekstrak metanol kulit batang kalayu positif mengandung senyawa alkaloid (Barua *et al.*, 2013).

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa. Pengujian alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendrof tidak menghasilkan endapan yang terbentuk dari pergantian ligan (Simaremare, 2014). Endapan terbentuk karena atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid menggantikan iod dalam pereaksi Mayer dan Dragendrof melalui ikatan kovalen. Jika tidak terbentuknya endapan berwarna, putih pada reagen Mayer, coklat kemerahan pada pereaksi Wagner atau jingga pereaksi Dragendrof maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa alkaloid.

c. Uji Tanin

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa senyawa tanin terdeteksi dalam ekstrak etil asetat daun kalayu. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan larutan ekstrak menjadi hijau kehitaman dan disertai terbentuknya endapan. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reaksi yang terjadi antara gugus senyawa tanin dengan reagen FeCl_3 1%. Simaremare (2014) mengemukakan bahwa gugus hidroksil pada senyawa tanin akan bereaksi dengan reagen FeCl_3 1% sehingga dapat terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi hijau kehitaman.

Tanin merupakan senyawa makro molekul dari senyawa polifenol yang bersifat polar. Umumnya senyawa tanin akan larut dalam pelarut polar. Sajib *et al.*, (2015) mengemukakan bahwa secara signifikan senyawa tanin terdapat pada ekstrak metanol daun kalayu (Hasan *et al.*, 2017). Meski demikian, pelarut etil asetat mampu menarik senyawa tanin dalam daun kalayu, diduga gugus hidroksil pada senyawa tanin mampu berikatan dengan gugus metoksil atau gugus hidroksil pada pelarut etil asetat.

d. Uji Saponin

Berdasarkan uji yang telah dilakukan dapat diketahui ekstrak etil asetat daun kalayu terdeteksi mengandung saponin yang ditandai dengan munculnya buih atau busa stabil selama 15-20 menit. Barua *et al.* (2013) mengemukakan ekstrak metanol kulit batang kalayu mengandung senyawa saponin. Sementara fraksi kloroform ekstrak metanol daun kalayu mengandung kadar saponin yang signifikan (Sajib *et al.*, 2015).

Saponin memiliki dua gugus berbeda sifat yaitu gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik. Penambahan HCl pada pengujian saponin menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya. Dalam keadaan tersebut, gugus yang bersifat polar (hidrofilik) akan menghadap ke luar dan gugus non-polar (hidrofobik) menghadap ke dalam dan membentuk struktur yang disebut struktur misel (Simaremare, 2014). Keadaan ini membentuk busa yang menjadi tanda adanya senyawa saponin dalam ekstrak.

Tanaman kalayu (*Erioglossum rubiginosum*) banyak mengandung senyawa bioaktif. Ekstrak metanol daun dan kulit batang kalayu diketahui mengandung glukosida, karbohidrat, protein, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenol dan presterol (Barua *et al.*, 2013; Sajib *et al.*, 2015). Sementara ekstrak etanol kulit batang tanaman kalayu diketahui mengandung senyawa protein, senyawa fenol, gula pereduksi, glikosida, flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin (Hasan *et al.*, 2017). Beberapa senyawa glikosida pada daun kalayu yang teridentifikasi yaitu lepisanthesida A, lepisanthesida B, akutosida A, dan asam oleanolik-3-O- $[\beta$ -D-xylopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glukopiranosil] (Tran *et al.*, 2020). Selain itu, ekstrak etil asetat tanaman kalayu juga mengandung senyawa lupeol, diosmetin, asam heptadekanoit, β -sitosterol dan β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosida (Ninh *et al.*, 2017).

4.2.2. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu

Berdasarkan data hasil penelitian ekstrak etil asetat daun kalayu secara umum memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas penghambatan dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan Tabel 4.3 dan Tabel 4.4, zona hambat terkecil bagi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa* terdapat pada konsentrasi 0,25 mg/ml yaitu masing-masing sebesar 0,876 mm, 1,858 mm, 0,848 mm, dan 1,09 mm. Aktivitas penghambatan tertinggi terhadap bakteri *S. aureus*, *S. pyogenes*, dan *P. aeruginosa* terdapat pada konsentrasi 1 mg/ml yaitu dengan rerata masing-masing 1,78 mm, 4,5 mm, dan 1,714 mm. Sementara rata-rata zona hambat terbesar *K. pneumoniae* terdapat pada konsentrasi ekstrak 0,5 mg/ml yaitu sebesar 1,874 mm.

Ukuran zona hambat bakteri uji yang terbentuk pada setiap konsentrasi ekstrak menentukan kategori aktivitas penghambatannya. Lingga *et al.* (2015) mengemukakan bahwa zona hambat ekstrak <5 mm dikategorikan lemah. Zona hambat ekstrak yang terbentuk antara 5-10 mm dikategorikan sedang. Zona hambat yang terbentuk antara 10-20 mm dikategorikan kuat. Dan zona hambat yang terbentuk >20 mm maka aktivitas penghambatan dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan data pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4, semua rerata zona hambat yang terbentuk memiliki hasil lebih kecil dari 5 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas penghambatan ekstrak etil asetat daun kalayu

terhadap bakteri uji tergolong lemah untuk semua konsentrasi ekstrak (0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml, dan 1 mg/ml).

Berdasarkan Tabel 4.3 dan Tabel 4.4, persentase efektivitas penghambatan ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap kelompok bakteri uji Gram positif dan Gram negatif memiliki nilai yang berbeda-beda. Pada kelompok Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*) persentase penghambatan ekstrak tertinggi terdapat pada konsentrasi 1 mg/ml dan persentase penghambatan terendah terdapat pada konsentrasi 0,25 mg/ml. Besar nilai persentase tertinggi kelompok bakteri Gram positif berturut-turut adalah 8,88% (*S. aureus*) dan 10,22% (*S. pyogenes*). Dan besar nilai persentase terendah kelompok bakteri Gram positif berturut-turut adalah 4,36% (*S. aureus*) dan 4,22% (*S. pyogenes*). Sementara pada kelompok Gram negatif persentase penghambatan ekstrak tertinggi untuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* terdapat pada konsentrasi 0,50 mg/ml yaitu sebesar 9,47% dan persentase penghambatan tertinggi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terdapat pada konsentrasi 1 mg/ml yaitu sebesar 8,16%. Persentase penghambatan terendah kelompok bakteri Gram negatif berturut-turut terdapat pada konsentrasi 0,25 mg/ml dengan nilai sebesar 4,28% (*K. pneumoniae*) dan 5,19% (*P. aeruginosa*).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, aktivitas antimikroba yang lemah pada ekstrak etil asetat daun kalayu dapat disebabkan oleh konsentrasi ekstrak yang rendah, volume ekstrak yang terlalu kecil (20 μ L) atau kandungan senyawa kimia yang terlarut pada ekstrak. Selain itu, suhu yang terlalu tinggi

pada saat pengentalan ekstrak menggunakan *waterbath* juga dapat merusak struktur senyawa antimikroba terlebih senyawa yang bersifat volatil (mudah menguap) seperti alkaloid (Masriany *et al.*, 2020). Penelitian terdahulu ekstrak kalayu yang di fraksinasi menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih tinggi daripada ekstrak mentahnya. Ulfa (2017) memaparkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak metanol kulit batang kalayu menunjukkan aktivitas antimikroba pada konsentrasi fraksi 10.000 ppm, 13.000 ppm dan 15.000 ppm, namun hasil tersebut masih jauh lebih rendah dibanding kontrol menggunakan antibiotik ciprofloxacin. Sementara empat konsentrasi fraksi lainnya tidak memiliki aktivitas antimikroba. Rana *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa fraksi kloroform ekstrak metanol daun kalayu memiliki aktivitas antimikroba yang paling besar pada kelompok mikroba uji Gram positif, Gram negatif dan fungi. Ekstrak metanol daun kalayu yang belum di fraksinasi tidak menunjukkan aktivitas penghambatan.

Aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji yang terdapat pada semua konsentrasi ekstrak pada penelitian ini disebabkan oleh senyawa tanin dan saponin yang terkandung di dalam ekstrak. Tanin dan saponin merupakan senyawa kimia tanaman yang bersifat antimikroba. Tanin sebagai antimikroba bekerja dengan menonaktifkan enzim dan adhesin sel mikroba (bakteri) serta mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel (Trisia *et al.*, 2018). Adhesin merupakan faktor virulensi bakteri patogen berupa komponen yang menjadi media bagi bakteri untuk menginvasi host (melakukan pelekatan dan infeksi) yang umumnya berupa protein. Tanin mengganggu fungsi

permeabilitas membran sel dimana senyawa tanin dapat membentuk ikatan non-spesifik dengan protein membran bakteri. Ketidakstabilan fungsi membran sel ini mengakibatkan kematian sel bakteri (Gayatri *et al.*, 2021). Mekanisme kerja saponin dalam menghambat pertumbuhan mikroba adalah dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan mengakibatkan kebocoran sel/lisis (Trisia *et al.*, 2018). Senyawa saponin yang berinteraksi dengan membran kolestrol *aglycon* menyebabkan ketidakstabilan struktur dan metabolisme sel bakteri. Hal ini mengakibatkan terganggunya pertumbuhan sel hingga kematian sel (Gayatri *et al.*, 2021). Berdasarkan mekanisme ini senyawa tanin dan saponin tergolong sebagai antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan sekaligus membunuh bakteri.

Bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun oleh lapisan peptidoglikan yang tebal. Peptidoglikan termasuk golongan polisakarida yang berikatan dengan rantai peptida pendek suatu asam amino. Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks. Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun oleh lapisan peptidoglikan yang sangat tipis dan terletak di antara dua membran yaitu membran plasma dan membran luar. Permukaan membran luar dinding sel bakteri Gram negatif terdapat lapisan lipopolisakarida (LPS) yang berperan dalam patogenitas bakteri Gram negatif. Putri *et al.* (2017) mengemukakan bahwa susunan dinding sel yang berbeda antara kedua kelompok bakteri ini

dapat mempengaruhi resistensi bakteri terhadap senyawa antimikroba. Antibiotik yang memiliki berat molekul yang besar cenderung butuh waktu lebih lama untuk melewati dinding sel bakteri Gram negatif yang mengandung molekul protein porin. Hal tersebut membuat kebanyakan bakteri Gram negatif bersifat patogen dan lebih resisten terhadap antibiotik atau senyawa antibakteri. Selain itu, lipopolisakarida pada dinding selnya menjadikan kebanyakan bakteri Gram negatif bersifat patogen.

Berdasarkan Tabel 4.3 dan 4.4, ekstrak etil asetat daun kalayu yang mengandung tanin dan saponin lebih mampu menghambat bakteri Gram positif daripada Gram negatif, dilihat dari besar diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini terkait dengan perbedaan struktur dinding sel kelompok bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki asam teikoat (polimer anionik) yang terbentang menembus lapisan peptidoglikan. Gabungan struktur ini berfungsi menjaga *homeostatis* kation sehingga dinding sel bakteri Gram positif cenderung bersifat polar. Pada bakteri Gram negatif, dua lapisan membran *lipid-bilayer* dan lipopolisakarida (glikolipid) menjadikan bakteri Gram negatif lebih bersifat non-polar (Gayatri *et al.*, 2021). Perbedaan kepolaran ini menyebabkan senyawa tanin dan saponin yang bersifat polar cenderung lebih mudah melewati dinding sel bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.3, kontrol positif (antibiotik amoksilin) mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*. Zona hambat bakteri *S. aureus* menggunakan cakram

antibiotik amoksilin 25 µg sebesar 20,05 mm. Dan zona hambat bakteri *S. pyogenes* menggunakan cakram antibiotik amoksilin 25 µg sebesar 44,03 mm. Menurut Brown dan Smith (2014), besar zona hambat antibiotik amoksilin 30 µg terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. pyogenes* di bawah atau sama dengan 19 mm menunjukkan bahwa bakteri bersifat resisten terhadap antibiotik. Apabila zona hambat yang terbentuk di atas atau sama dengan 20 mm, menunjukkan bakteri sensitif terhadap antibiotik amoksilin. Sehingga hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua bakteri sensitif terhadap antibiotik amoksilin.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.4, kelompok kontrol positif (antibiotik kloramfenikol) mampu menghambat bakteri Gram negatif. Zona hambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg sebesar 19,8 mm. Dan zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg sebesar 21 mm. Brown dan Smith (2014) memaparkan bahwa besar zona hambat antibiotik kloramfenikol 30 µg terhadap bakteri *K. pneumoniae* dan *P. aeruginosa* di bawah atau sama dengan 12 mm menunjukkan bahwa bakteri bersifat resisten terhadap antibiotik. Jika zona hambat yang terbentuk berkisar 13-17 mm maka dikatakan intermediet. Dan jika zona hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 18 mm maka menunjukkan bakteri sensitif terhadap antibiotik. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa bakteri *K. pneumoniae* dan *P. aeruginosa* pada penelitian ini tergolong sensitif terhadap antibiotik kloramfenikol.

Secara umum, perlakuan ekstrak dan kontrol (amoksilin) terhadap bakteri Gram positif lebih mudah menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes* daripada *Staphylococcus aureus*. *S. pyogenes* cenderung bersifat sensitif terhadap antibiotik dan senyawa antimikroba yang dapat mengganggu sintesis dinding selnya (Suardana *et al.*, 2021). Hal ini sesuai dengan mekanisme kerja antibiotik Amoksilin dan senyawa tanin dan saponin yaitu mengganggu kestabilan dan fungsi dinding sel bakteri. Sedangkan *S. aureus* dikenal sebagai bakteri yang mudah bermutasi dan menjadi resisten. Husna (2018) memapar bahwa *S. aureus* memiliki lebih banyak faktor virulensi daripada bakteri patogen lainnya dan berpengaruh pada sifat ketahanan *S. aureus* terhadap zat antimikroba. Beberapa faktor virulensi *S. aureus* seperti toksin ekstraseluler, enzim, hemolisin, protein permukaan (protein M), kapsul (mencegah fagositosis oleh leukosit) dan banyaknya plasmid yang mengkode sifat resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik.

Secara umum, perlakuan ekstrak dan kontrol (kloramfenikol) terhadap bakteri Gram negatif lebih mudah menghambat bakteri menghambat *Pseudomonas aeruginosa* daripada *Klebsiella pneumoniae*. Persentase penghambatan kedua bakteri pada konsentrasi ekstrak 1 mg/ml memiliki perbedaan yang sangat kecil (0,08%) dimana penghambatan terhadap *P. aeruginosa* lebih besar daripada *K. pneumoniae*. Hal yang sama juga terlihat pada zona hambat kontrol (kloramfenikol) yang lebih besar terbentuk pada bakteri *P. aeruginosa* daripada *K. pneumoniae*. Namun pada penelitian ini zona penghambatan ekstrak terhadap *K. pneumoniae* terbesar terdapat pada

konsentrasi ekstrak 0,50 mg/ml. Hal ini diduga terkait dengan kandungan senyawa ekstrak pada konsentrasi tersebut dan juga fungsi daripada senyawa yang terkandung.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang sangat patogen. *P. aeruginosa* memiliki dua tipe protein adhesi sebagai faktor virulensinya yaitu protein adhesi pada permukaan pili dan protein pada permukaan sel (Hidayati, 2010). Sementara *Klebsiella pneumonia* merupakan patogen yang mudah kebal terhadap antibiotik (resisten). *K. pneumonia* memiliki lipopoliskarida (LPS), protein adhesin yaitu *outer membrane protein* (OMP) berupa fimbrial adhesin dan amfimbrial adhesin, kapsul, resistensi serum dan siderofor yang berperan dalam mekanisme virulensi dan resistensi antibiotik (Agustina *et al.*, 2019). *K. pneumonia* juga mampu bermutasi menjadi bakteri penghasil enzim ESBL (*extended-spectrum beta-lactamases*) sehingga lebih tahan terhadap antibiotik (Olivia, 2017). Sehingga sangat memungkinkan bahwa zona hambat antibiotik Kloramfenikol terhadap *K. pneumonia* lebih kecil daripada *P. aeruginosa*.

4.2.2.1. Uji Statistik

Analisis statistik dilakukan menggunakan metode One-Way Anova dengan taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan Tabel 4.5, hasil uji normalitas data zona hambatan oleh ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap keempat bakteri uji menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Dengan taraf 0,05, nilai signifikansi (*Asym Sig 2-tailed*) *S. aureus* sebesar 0,050. Karena signifikansi lebih dari 0,05, maka residual terdistribusi normal. Nilai signifikansi (*Asym Sig 2-tailed*) *S. pyogenes* sebesar $0,050 \geq 0,05$ maka

residual terdistribusi normal. Nilai signifikansi (*Asym Sig 2-tailed*) *K. pneumoniae* sebesar $0,164 \geq 0,05$ maka residual terdistribusi normal. Dan nilai signifikansi (*Asym Sig 2-tailed*) *P. aeruginosa* sebesar 0,103. Karena signifikansi lebih dari 0,05, maka residual juga terdistribusi normal.

Berdasarkan Tabel 4.6, hasil uji homogenitas data zona hambatan oleh ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap keempat bakteri uji menunjukkan bahwa data bersifat homogen. Dengan taraf 0,05, nilai signifikansi (p) *S. aureus* $\geq 0,05$ ($0,463 \geq 0,05$), maka data bersifat homogen. Nilai signifikansi (p) *S. pyogenes* $\geq 0,05$ ($0,770 \geq 0,05$), maka data bersifat homogen. Nilai signifikansi (p) *K. pneumoniae* $\geq 0,05$ ($0,176 \geq 0,05$), maka data terdistribusi normal. Dan nilai signifikansi (p) *P. aeruginosa* $\geq 0,05$ ($0,247 \geq 0,05$), maka data juga bersifat homogen.

Berdasarkan Tabel 4.7 di atas, hasil analisis *One Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95%, nilai F hitung kelompok perlakuan terhadap keempat bakteri uji lebih besar dari F tabel sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima. Dan dilihat dari nilai signifikansi kelompok perlakuan terhadap bakteri uji lebih kecil dari 0,05, sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima. Oleh karena itu dapat dinyatakan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat keempat bakteri uji yang terbentuk pada konsentrasi kalayu 0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml, 1 mg/ml dengan kelompok kontrol positif (Kloramfenikol) dan negatif (20 μ L DMSO 100%).

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) terhadap empat senyawa yang bersifat antimikroba menunjukkan hasil bahwa ekstrak mengandung senyawa tanin dan saponin. Ekstrak etil asetat daun kalayu tidak mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid.
2. Ekstrak etil asetat daun kalayu memiliki aktivitas antimikroba yang berbeda-beda terhadap bakteri uji. Aktivitas antimikroba keempat konsentrasi ekstrak etil asetat daun kalayu (0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml dan 1 mg/ml) tergolong lemah pada semua bakteri uji (rata-rata zona penghambatan tiap konsentrasi ekstrak <5 mm).
3. Aktivitas penghambatan terbesar ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri Gram positif: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 terdapat pada konsentrasi 1 mg/ml yaitu sebesar 1,78 mm (8,88%) dan 4,5 mm (10,22%).
4. Aktivitas penghambatan terbesar ekstrak etil asetat daun kalayu terhadap bakteri Gram negatif : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 terdapat pada konsentrasi 0,50 mg/ml yaitu sebesar 1,874 mm (9,47%) dan *Pseudomonas aeruginosa* PA01 terdapat pada konsentrasi 1 mg/ml yaitu sebesar 1,714 mm (8,16%).

5. Analisis statistik menggunakan uji Anova dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat *S.aureus*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae* dan *P. aeruginosa* yang terbentuk pada konsentrasi kalayu 0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,75 mg/ml, 1mg/ml dengan kelompok kontrol positif (Amoksilin dan Kloramfenikol) dan negatif (20 μ L DMSO 100%).

5.2. Saran

Adapun saran daripada penelitian ini sebagai berikut:

1. Penelitian ini menggunakan pendekatan kualitatif mengenai identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak etil asetat daun tanaman kalayu yang berpotensi sebagai antimikroba. Maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan pendekatan kuantitatif untuk mengetahui kadar dari masing-masing senyawa yang bersifat antimikroba pada daun tanaman kalayu.
2. Perlu dilakukan penetapan kadar senyawa yang bersifat antimikroba dan dilanjutkan dengan dilakukannya fraksinasi senyawa ekstrak etil asetat daun kalayu untuk mendapatkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, M. (2017). *Potensi Salep Ekstrak Atuna racemosa Pada Kesembuhan Luka Infeksi Akibat Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Skripsi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. <http://etd.repository.ugm.ac.id/penelitian/detail/113800>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Agustina, D., Nadyatara, K., Mufida, D. C., Elfiah, U., Shodikin, M. A., dan Suswati, E. (2019). Faktor Virulensi Outer Membrane Protein 20 kDa *Klebsiella pneumoniae* sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 7(3), 200–204. <https://doi.org/10.23886/ejki.7.10425>.
- American Lung Assosiation. (2015). Pneumonia. <http://www.lung.org/lung-disease/influenza/in-depth-resources/pneumonia-fact-sheet.html>. Diakses pada tanggal 6 Maret 2020.
- Ariningrum, D., Subandono, J., Metria, I. B., Agustriani, N., Muthmainah, Wijayanti, L., Putra, K. Y., Mulyani, S., Erindra, Listyaningsi, E., dan Ermawan, R. (2018). Manajemen Luka. In *E-Book*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Ayunani, T. D., Hastuti, I. T., Ansory, H. M., dan Nilawati, A. (2018). Pemisahan Senyawa 1, 4-Terpineol dan Safrol dari Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), 88-100.
- Azizah, R., dan Artanti, A. N. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Getah Pelepah Serta Bonggol Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* Dengan Metode Difusi Agar. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 29–38. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.26544>
- Babar, N., Chaudhary, Z. A., Riaz, R., Shah, H., Anwar, B., dan Anjum, R. (2019). Changing Trends of Pyogenic Microorganisms in a Tertiary Care Hospital Introduction. *Ann Pak Inst Med Sci*, 15(2), 71–75. www.apims.net. Diakses tanggal 6 Juni 2020.
- Barua, S., Naim, Z., dan Sarwar, G. (2013). Pharmacological, Phytochemical and Physicochemical Properties of Methanol Extracts of *Erioglossum rubiginosum* Barks. *Journal of Health Sciences*, 3(11), 51–62.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., dan Guery, B. (2018). How to Manage *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *Drugs in Content*. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5978525/> DOI: <https://dx.doi.org/10.7573/dic.212527>.
- Batt, C. A., dan Tortorello. (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Academia Press. ISBN: 978-0-12-384730-0.

- Bennett, J. E., Dolin, R., dan Blaser, M. J. (2015). *Mendell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 8th Edition* (8th Editio). Academia Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2012-1-00075-6>.
- Bonar, E., Wójcik, I., dan Wladyka, B. (2015). Proteomics in Studies of *Staphylococcus aureus* Virulence. *Acta Biochimica Polonica*, 62(3), 367–381. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1083.
- Brown, A., dan Smith, H. (2014). *Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual In General Microbiology* (Thirteen Edition). McGraw-Hill Education. ISBN: 978-0-07-340241-3.
- Budiman, H. M., Soleha, T. U., Warganegara, E., dan Anggraini, D. I. (2020). Prevalensi Kolonisasi Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Ruang Inensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Majority*, 9(1), 19–23. <http://digilib.unila.ac.id/id/eprint/55333>. Diakses tanggal 9 Juni 2021.
- Centers for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*. <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=16876>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Centers for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library. (2013). *Staphylococcus aureus*. <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=19059>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Centers for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library. (2013). *Streptococcus pyogenes*. <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=22884>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Centers for Disease Control and Prevention: Public Health Image Library. (2014). *Klebsiella pneumoniae*. <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=18170>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Debnath, P.C., Das, A., Islam, A., Islam, A.M., Hassan, M.M., dan Uddin, S.M.D. (2013). Membrane Stabilization – A Possible Mechanism of Action for the Anti-inflammatory Activity for a Bangladeshi Medicinal Plant: *Erioglossum rubiginosum* (Bara Harina). *Pharmacognosy Journal*. 5(3), 104-107, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phcgj.2013.04.001>.
- Ekawati, E. R., Husnul Y. S. N., dan Herawati, D. (2018). Identifikasi Kuman Pada Pus Dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal SainHealth*, 2(1), 31–35. <https://doi.org/10.51804/jsh.v2i1.174.31-35>
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Pusdik SDM Kesehatan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Diakses tanggal 12 November 2020.

- European Centre for Disease Control and Prevention. (2017). *Surveillance Report: Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015*. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2015>. Diakses tanggal 9 Oktober 2019.
- Gayatri, D. A. A. M., Ernawati, D. K., dan Wihartini, I. A. A. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Secara In Vitro 1. *Jurnal Medika Udayana*, 10(1), 7–11, ISSN: 2303-1395, <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/view/70356>.
- Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. (2015). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Pulmonary Disease. Diakses tanggal 11 Februari 2020.
- Haryoto, Jayanti, Y. D., Saputro, P. H. W., dan Kosworo. (2018). Aktivitas Antibakteri Dan Bioautografi Ekstrak Etanol, Fraksi Non Polar, Semipolar Serta Polar Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(9), 497–504. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i9.60>
- Hasan, M. M., Hossain, A., Shamim, A., dan Rahman, M. M. (2017). Phytochemical and Pharmacological Evaluation of Ethanolic Extract of *Lepisanthes rubiginosa* L. Leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2010-y>
- He, Y. (2015). Bacterial Whole-Genome Determination and Applications. In *Molecular Medical Microbiology: Second Edition* (Second Edi, Vols. 1–3, pp. 357–368). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00020-2>
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, dan Mustikaningtyas, D. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*, 1(1), 1–9. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/jcs>. Diakses tanggal 16 Oktober 2019.
- Hidayati, D. Y. N. (2010). Identifikasi Molekul Adhesi Pili *Pseudomonas aeruginosa* pada Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs) Culture. *The Journal of Experimental Life Sciences*, 1(1), 7–14. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2011.001.01.02>
- Hudzicki, J. (2016). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. In *American Society For Microbiology*. <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>. Diakses tanggal 6 Juni 2021.
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraselular Dalam Patogenitas Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 4(2). <https://doi.org/10.29103/averrous.v4i2.1041>

- Ibrahim, J. (2017). *Tingkat Cemaran Bakteri Staphylococcus aureus pada Daging Ayam yang Dijual di Pasar Tradisional Makassar*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. eISSN: 2716-2222. Diakses tanggal 10 Maret 2020.
- Ien, H., Wirajagat, G. C., Ramdani, R. F., dan Rasmi, D. A. C. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa belimbi*) dan Daun Sirih Merah (*Piper ornatum*) Terhadap Bakteri Penyebab Pneumonia Pada Balita. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. <https://doi.org/ISBN:978-602-61265-2-8>
- Jamaluddin, N., Pulungan, M. H., dan Warsito. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC. *Journal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, 6(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.21776/ub.industria.2017.006.02.1>
- Juariah, S., dan Adillah, M. K. (2018). Uji Daya Hambat *Klebsiella pneumoniae* Menggunakan Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *Jurnal Analisis Kesehatan Klinik Sains*, 6(2). <https://doi.org/e-ISSN:2614-1515>.
- Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI). <https://kbbi.web.id/piogenik.html>. Diakses pada tanggal 23 Februari 2020.
- Kandou, L. A., Fatimawati, dan Bodhi, W. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum Penderita Bronkitis Secara in Vivo. *Pharmakon: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(3), 131–137. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12947>
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., dan Dien, H. A. (2017). Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangehe. *JPHPI*, 20(1), 188–198. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2017.20.1.356>
- Lee, A. S., Huttner, B., dan Harbarth, S. (2016). Prevention and Control of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* in Acute Care Settings. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(4), 931–952. <https://doi.org/10.1016/J.IDC.2016.07.006>
- Lingga, A., Pato, U., dan Rossi, E. (2015). Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*, 2(2). ISSN: 2355-6838, <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERTA/article/view/9580/9244>
- Lubis, V. A., Katar, Y., dan Bahar, E. (2016). Identifikasi Bakteri Infeksi Saluran Pernafasan Bawah Non Tuberkulosis (Non TB) dan Pola Resistensinya pada Penderita Diabetes Melitus di RSUP M. Djamil. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 5(3), 692–696. <https://doi.org/10.25077/jka.v5i3.603>

- Mahsunah, A. (2015). *Pengembangan Komposit Polivinil Alkohol (Pva)-Alginat Dengan Getah Batang Pisang Sebagai Wound Dressing Antibakteri*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Makalew, M. A. J., Nangoy, E., dan Wowor, P. M. (2016). Uji Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Jurnal E-Biomedik (EBm)*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.11287>
- Manggopa, O. N., Soeliongan, S., dan Homenta, H. (2016). Pola Bakteri Aerob pada Sputum Penderita Infeksi Saluran Pernapasan Infeksi Saluran Pernapasan Akut di Poliklinik Paru RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik (EBm)*, 4(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.12136>
- Mantravadi, H. B., Chuntaparathi, M. R., dan Shravani, V. (2015). Aerobic Isolates in Pus and Their Antibiotic Sensitivity Pattern: A Study Conducted in Tertiary Hospital in Andra Pradesh. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 4(8). <https://doi.org/10.5455/ijmsph.2015.12012015225>
- Marzec, N. S., dan Bessesen, M. T. (2016). Risk and Outcome of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Bacteremia Among Patients Admitted With and Without MRSA Nares Colonization. *American Journal of Infection Control.*, 44(4). <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2015.11.006>.
- Masriany, Sari, A., dan Armita, D. (2020). Diversitas Senyawa Volatil dari Berbagai Jenis Tanaman dan Potensinya Sebagai Pengendali Hama yang Ramah Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*, 475-481. ISBN: 978-602-72245-5-1, <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>. Diakses tanggal 9 Januari 2022.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, II(2), 361–367. ISSN: 2622-7363.
- Nasrullah, F. (2015). *Pengembangan Komposit Polivinil Alkohol (PVA)-Alginat Dengan Perasan Daun Binahong Sebagai Wound Dressing Antibakteri*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Ninh, P. T., Thị, T., Thảo, P., Lộc, T. V., dan Dung, N. T. (2017). Về thành hóa học từ dịch chiết etyl axetat của cây nhãn dê (*Lepisanthes rubiginosa*) thu hái tại huyện Phú Lộc, tỉnh Thừa Thiên-Huế. *TCHH*, 55(1), 1–5. <https://doi.org/10.15625/0866-7144.2017-00407>.
- Nurmala, Virgiandhy, I.G.N., Andriani, Liana, D.F. (2015). Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 3(1), 21-28, eISSN: 2338-6037. DOI: <https://doi.org/10.23886/ejki.3.4803>.

- Olivia, C. K. (2017). Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* Spp *Pneumoniae* Pada Ulkus Kruris Et Femoralis Pada Pasien Diabetes Melitus Type II. *Fakultas Kedokteran UNUD/RS Sanglah Denpasar* Vol. 8. Diakses tanggal 23 Februari 2020. https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_penelitian_1_dir/0da101889d47554891ae98cb6f87ed5c.pdf.
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* Toxins. *Curr Opin Microbiol*, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>
- Pakadang, S. R., dan Salim, H. (2019). Kombinasi Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) dan Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Sebagai Antibakteri *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Klebsiella pneumoniae* Penyebab Batuk. *Media Farmasi*, 15(11), 102–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.779>
- Panggalo, J. T., Porotu'o, J., dan Buntuan, V. (2013). Identifikasi Bakteri Aerob pada Penderita Batuk Berdahak di Poliklinik Interna Blu RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik (EBM)*, 1(1), 408–413. <https://doi.org/10.35790/ebm.1.1.2013.4572>.
- Philippine Medicinal Plant. Kalayo. (2016). <http://www.stuartxchange.com/Kalayo>. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Plant of Southeast Asia. (2019). *Lepisanthes rubiginosa*. <https://asianplant.net/>. Diakses tanggal 6 Oktober 2019.
- Prasetya, O. S., Soegiarto, L., dan Wijaya, S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri dan Antibiofilm Fraksi Biji Kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Journal of Pharmaceey Science and Practice*, 6(1), 84–90. <http://repository.wima.ac.id/11286/2/ABSTRAK.pdf>. Diakses tanggal 19 Juni 2021.
- Preedy, V. R., dan Watson, R. . (2020). *Olive and Olive Oil in Health and Disease Prevention 2nd Edition*. Elsevier. eISBN: 9780128199893.
- Purwati, S., Lumora, S. V. T., dan Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura di Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017*, 153–158. <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/prosiding/article/view/565>. Diakses tanggal 20 Juni 2021.
- Putri, A. V. A. A., Hafida, N., dan Megawati, V. (2017). Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia Terhadap *Streptococcus mutans* (In Vitro). *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 1(1), 9–14. <https://journals.ums.ac.id/index.php/jikg/article/view/4147/2662>. Diakses tanggal 20 Juni 2021.

- Putri, W. S., Warditiani, N. K., dan Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59. eISSN: 2622-4607.
- Qolbi, N., dan Yuliani, R. (2018). Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Sepuluh Daun Tanaman Terhadap *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), 8–18. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v15i1.6169>
- Rana, S. M. M, Billah, M. M., Hossain, M. S., Saifuddin, A. K. M., Islam, S. K. M. A., Banik, S., Naim, Z., dan Raju, G. S. (2014). Susceptibility of Microorganism to Selected Medicinal Plants in Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(11), 911–917. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.201414B362>
- Rana, S.M. Masud, Billah, M., Barua, S., dan Moghal, M. R. (2014). A Study on *Erioglossum rubiginosum* for Evaluation of Biological Properties. *Journal of Health Science*, 4(1), 18–23. <https://doi.org/10.5923/j.health.20140401.04>
- Romadanu, Rachmawati, H. S., dan Lestari, D. S. (2014). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus. *Fishtech*, III(1), 1–7. <http://www.thi.fp.unsri.ac.id>. Diakses tanggal 5 Juli 2021.
- Sajib, A. I., Dewan, S. M. R., Das, A., Sarwar, M. S., Sarkar, R. C., Ahmed, M. U., dan Islam, M. S. (2015). In Vitro Antimicrobial Activity Study and In Vivo Antiemetic, Antinociceptive Activity Evaluation of Leaves Extract of *Erioglossum rubiginosum* Using Experimental Animal Model. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15(2), 135–140. <https://doi.org/10.1007/s13596-015-0181-y>
- Sangwan, J., Singla, P., Mane, P., Lathwal, S., dan Malik, A. K. (2016). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Aerobic Bacterial Isolates from Pyogenic Wound Infections at a Tertiary Care Institute in Haryana, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(2), 78–85. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.502.008>
- Scalise, A., Bianchi, A., Tartaglione, C., Bolleta, E., Pierangeli, M., Torresetti, M., Maarazzi, M., dan Benedetto, G. D. (2015). Microenvironment and Microbiology of Skin Wounds: The Role of Bacterial Biofilms and Related Factors. *Semin Vasc Surg*, 28(3–4). <https://doi.org/10.1053/j.semvascsurg.2016.01.003>
- Simaremare, E. . (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), 98–107. eISSN: 2579-910X.
- Sowmya, N., Savitha, S., Swapna, M., Mohanakrishnan, K., Sumathi, G., dan Arumugam, P. (2014). A Two Year Study of Spectrum of Bacterial Isolates From Wound Infections by Aerobic Culture and Their Antibiotic Pattern in a Tertiary Care Center. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8), 292–295. <http://www.ijcmas.com>. Diakses tanggal 19 Juni 2020.

- Suardana, I. W., Dinarini, N. M. A. A., dan Sukrama, I. D. M. (2021). Identifikasi Spesies Streptokokus ?-Hemolisis Hasil Isolasi dari Nasal dan Tonsil Babi dengan Uji Basitrasin. *Buletin Veteriner Udayana*, 13(1), 27–33. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2021.v13.i01.p05>
- Sutrisna, E. M. (2016). *Herbal Medicine. Suatu Tinjauan Farmakologis (Buku Ajar Mata Kuliah Herbal Medicine Mahasiswa Kedokteran)*. Muhammadiyah University Press. <https://doi.org/> e-ISBN: 978-0-12-3971639-2.
- Todar's Online Textbook of Bacteriology. *Pseudomonas aeruginosa*. <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>. Diakses tanggal 6 Juni 2020.
- Torres, A., Menéndez, R., dan Wunderink, R. G. (2016). Bacterial Pneumonia and Lung Abscess. In *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine* (Vol. 1, pp. 557-582.e22). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3383-5.00033-6>
- Tran, L. Van, Pham Thi, N., Nguyen Thi, L., Van Tran, C., Vo, N. T. Q., Ho, A. N., Do, V. C., Tran, V. S., dan Tran, T. T. P. (2020). Two New Glycosides, Farnesyl Pentaglycoside and Oleanane Triglycoside From *Lepisanthes rubiginosa*, a Mangrove Plant Collected From Thua Thien-Hue Province, Vietnam. *Natural Product Research*, 1–7. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1817010>
- Trisia, A., Philyria, R., dan Toemon, A. N. (2018). Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract from Kalanduyung Leaf (*Guazuma ulmifolia* Lam.) on *Staphylococcus aureus* Growth with Difussion Method (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143. <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/anterior/article/view/12/9>
- Ulfa, A. (2017). *Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Kulit Batang Tanaman Kalayu (Erioglossum rubiginosum) Terhadap Daya Hambat Escherichia coli dan Staphylococcus epidermidis Secara in Vitro* [Universitas Syiah Kuala]. https://etd.unsyiah.ac.id/index.php?p=show_detail&id=35991. Diakses tanggal 3 Oktober 2019.
- Useful Tropical Plant. (2021). *Lepisanthes rubiginosa*. <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Lepisanthes+rubiginosa>. Diakses tanggal 20 Juni 2021.
- World Health Organization. (2018). *Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS)* <https://www.who.int/publications/i/item/9789241513449>. Diakses tanggal 6 Oktober 2019.
- Wu, W., Jin, Y., Bai, F., dan Jin, J. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular Medical Microbiology Volume 2* (Eecond Edi). Academia Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2-00041-X>

Yusmaniar, Wardiah, dan Nida, K. (2017). *Mikrobiologi dan Parasitologi. Bahan Ajar Farmasi*. BPPSDM Kemenkes RI. Diakses tanggal 20 Juni 2020. <http://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wp-content/uploads/2017/08/Mikrobiologi-dan-Parasitologi-Komprehensif.pdf>.

Zhou, X., dan Li, Y. (2015). *Atlas of Oral Microbiology from Healthy Microflora to Disease* (eBook). Zhejiang University Press. ISBN: 978-0-12-802234-4.



LAMPIRAN 1
(Surat Keterangan Pembimbing)



SURAT KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH
Nomor: B-024/Un.08/FST/KP.07.6/01/2021

TENTANG

**PENETAPAN PEMBIMBING SKRIPSI MAHASISWA PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH**

DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

- Menimbang : a. bahwa untuk kelancaran bimbingan skripsi mahasiswa pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry, maka dipandang perlu menunjuk pembimbing dimaksud;
- b. bahwa yang namanya tersebut dalam Surat Keputusan ini dianggap cakap dan mampu untuk ditetapkan sebagai pembimbing skripsi mahasiswa.
- Mengingat : 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
2. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012, tentang Pendidikan Tinggi;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 19 Tahun 2005 tentang Standar Nasional Pendidikan;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
5. Peraturan Presiden RI Nomor 64 Tahun 2013 Tentang Perubahan Institut Agama Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh menjadi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh;
6. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 12 Tahun 2014, tentang Organisasi dan Tata Kerja UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
7. Keputusan Menteri Agama Nomor 21 Tahun 2015 Tentang Statuta UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
8. Keputusan Rektor UIN Ar-Raniry Nomor 01 Tahun 2015 Tentang Pemberian Kuasa dan Pendelegasian Wewenang Kepada Para Dekan dan Direktur Program Pascasarjana dalam Lingkungan UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
9. Surat Keputusan Rektor UIN Ar-Raniry Banda Aceh Nomor 28 Tahun 2019 Tentang Satuan Biaya Khusus Tahun 2020 di Lingkungan UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
- Memperhatikan : Keputusan Sidang/Seminar Proposal/ Skripsi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh tanggal 07 Januari 2021.
- MEMUTUSKAN**
- Menetapkan :
Kesatu : Menunjuk Saudara:
- | | |
|--|--|
| <p>1. Syafrina Sari Lubis, M. Si</p> <p>2. Diannita Harahap, M. Si</p> | <p>Sebagai Pembimbing I</p> <p>Sebagai Pembimbing II</p> |
|--|--|
- Untuk membimbing Skripsi:
- Nama : **Debi Masthura Putri**
- NIM : **150703064**
- Prodi : **Biologi**
- Judul Skripsi : **Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tanaman Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik**
- Kedua : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan akhir Semester Genap Tahun Akademik 2020/2021 dengan ketentuan bahwa segala sesuatu akan diubah dan diperbaiki kembali sebagaimana mestinya, apabila kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini.

Ditetapkan di Banda Aceh
Pada Tanggal 19 Januari 2021
Dekan

Azhar Amsal k

Tembusan:

1. Rektor UIN Ar-Raniry di Banda Aceh;
2. Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry;
3. Pembimbing yang bersangkutan untuk dimaklumi dan dilaksanakan;
4. Yang bersangkutan.

LAMPIRAN 2
(Surat Izin Penelitian)



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Syekh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telepon : 0651- 7557321, Email : uin@ar-raniry.ac.id

Nomor : B-555/Un.08/FST-I/PP.00.9/03/2021
Lamp : -
Hal : *Penelitian Ilmiah Mahasiswa*

Kepada Yth,

1. Kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains Dan Teknologi
2. Kepala Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Unsyiah

Assalamu`alaikum Wr.Wb.

Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan ini menerangkan bahwa:

Nama/NIM : **DEBI MASTHURA PUTRI / 150703064**
Semester/Jurusan : XII / Biologi
Alamat sekarang : Jl. Bayeun No. 15, Kopelma Darussalam, Banda Aceh

Saudara yang tersebut namanya diatas benar mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi bermaksud melakukan penelitian ilmiah di lembaga yang Bapak pimpin dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Tanaman Kalayu (Erioglossum rubiginosum (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik*

Demikian surat ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasama yang baik, kami mengucapkan terimakasih.

Banda Aceh, 02 Maret 2021
an. Dekan
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kelembagaan,



Berlaku sampai : 30 Juli 2021

Dr. Mizaj, Lc., LL.M.

LAMPIRAN 3
(Surat Selesai Penelitian)



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
Jl. Syekh Abdul Rauf Kopelma Darussalam, Banda Aceh
Web: www.biologi.fst.ar-raniry.ac.id, Email: biolab.arraniry@gmail.com



SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM

No: B-117/Un.08/Lab.Bio-FST/PP.00.9/07/2021

Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh dengan ini menerangkan bahwa:

Nama	: Debi Masthura Putri
NIM	: 160703064
Program Studi	: S1-Biologi
Fakultas	: Fakultas Sains dan Teknologi
Perguruan Tinggi	: Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Alamat	: Jl. Bayeun no 15, Kopelma Darussalam
No Hp	: 082231938565

Benar yang namanya tersebut diatas telah menggunakan fasilitas Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh dan telah menyelesaikan tanggungan biaya alat dan bahan laboratorium dalam rangka melaksanakan penelitian skripsi dengan topik:

“Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Kalau (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik”

Demikian surat keterangan ini dibuat, agar dapat digunakan semestinya.

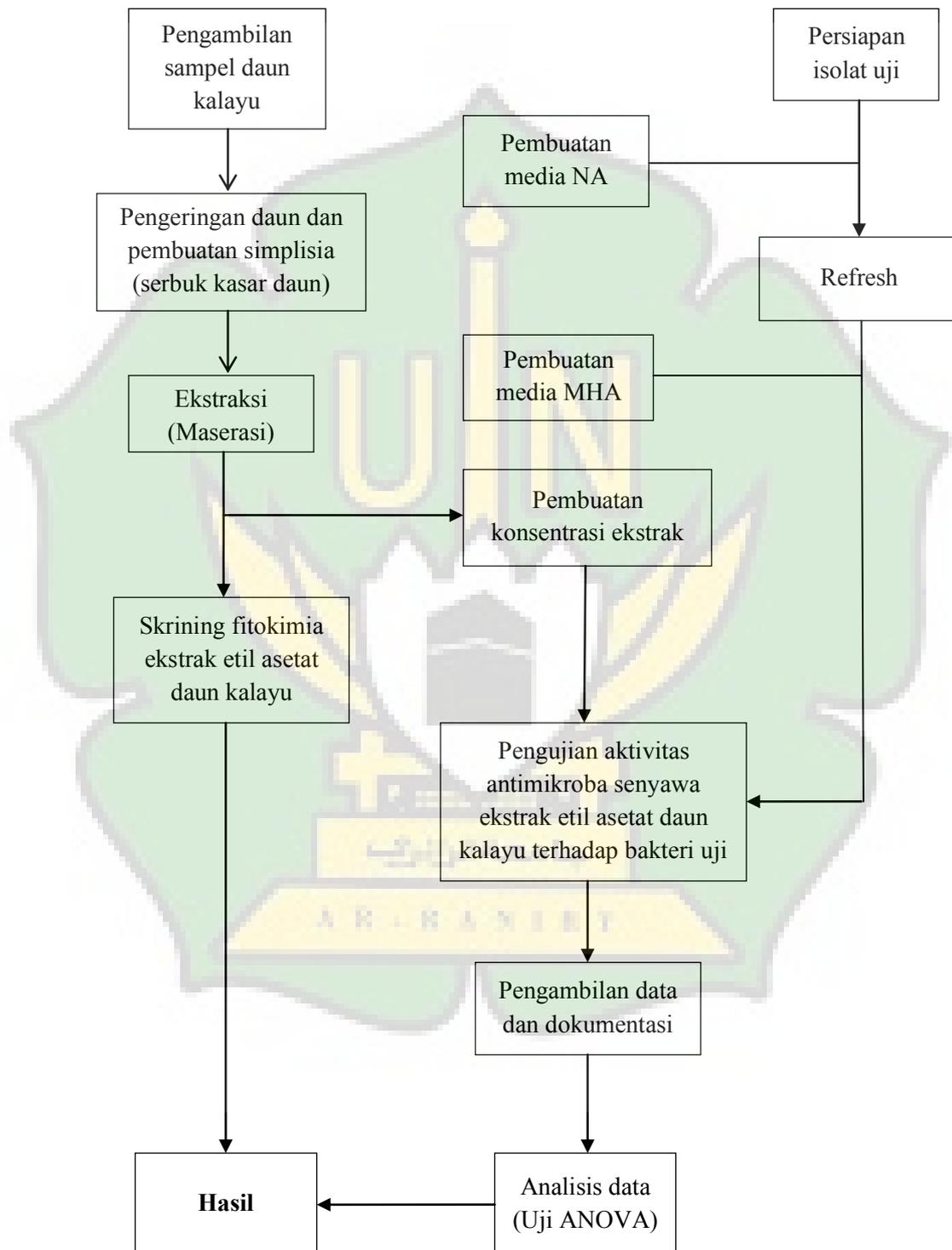
Banda Aceh, 21 Juli 2021

Ketua Laboratorium Biologi


Syafrina Sari Lubis, M.Si

Syafrina Sari Lubis, M.Si

LAMPIRAN 4
(Alur Kegiatan Penelitian)



LAMPIRAN 5
(Hasil Skrining Fitokimia)



LABORATORIUM KIMIA
FAKULTAS SAINS & TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY BANDA ACEH

Jl. Syekh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telepon : 0651-7552921 – 7551857 Fax. 0651-7552922
Web :www.fst.ar-raniry.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : B-009/Un.08/Lab.Kim/PP.00.9/07/2021

Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan ini menerangkan bahwa:

No	Nama	Judul Penelitian
1	Debi Masthura Putri	Identifikasi dan Uji Potensi Antimikroba Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (<i>Erioglossum rubiginosum</i> (Roxb.) Blume) Terhadap Bakteri Infeksi Piogenik

Adalah benar yang namanya tersebut di atas telah melakukan uji fitokimia pada Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan hasil sebagai berikut:

Kandungan Metabolit	Reagen	Hasil Uji	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak Terbentuk endapan putih
	Wagner	-	Tidak Terbentuk endapan coklat kemerahan
	Dragendorff	-	Tidak Terbentuk endapan jingga
Tanin	Etanol dan FeCl ₃	+	Terbentuk warna hijau atau biru hitan dan endapan
Saponin	Pengocokan	+	Adanya busa stabil selama 15-20 menit
Flavonoid	Hcl dan Logam Mg	-	Tidak Terbentuk warna merah

Keterangan: (+) menunjukkan hasil positif dan (-) menunjukkan hasil negatif.

Demikian, atas perhatian dan kerjasama yang baik kami ucapkan terimakasih.

Wassalam
Kepala Lab. Kimia FST,

Febrina Arfi

LAMPIRAN 6
(Rumus dan Perhitungan)

Pembuatan Media

– **Pembuatan Media NA**

Diketahui: $V_1 = 1000 \text{ ml}$, $V_2 = 100 \text{ ml}$, $W_1 = 28 \text{ gram}$

Ditanya: $W_2 \dots ?$

Jawab:

$$W_2 = \frac{1000 \text{ ml}}{28 \text{ gram}} = \frac{100 \text{ ml}}{w_2} = \frac{2800 \text{ ml gram}}{1000 \text{ ml}}$$

$$W_2 = 2,8 \text{ gr} \rightarrow 3 \text{ gr}$$

– **Pembuatan media MHA**

Diketahui: $V_1 = 1000 \text{ ml}$, $V_2 = 600 \text{ ml}$, $W_1 = 38 \text{ gram}$

Ditanya: $W_2 \dots ?$

Jawab:

$$W_2 = \frac{1000 \text{ ml}}{38 \text{ gram}} = \frac{600 \text{ ml}}{w_2}$$

$$W_2 = \frac{22800 \text{ ml gram}}{1000 \text{ ml}}$$

$$W_2 = 22,8 \text{ gram} \rightarrow 23 \text{ gram}$$

Keterangan:

W_1 = standar jumlah media NA atau MHA per 1000 ml (gram)

W_2 = jumlah media NA atau MHA yang dibutuhkan (gram)

V_1 = volume aquades standar (ml)

V_2 = volume aquades yang dibutuhkan (ml)

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

- Pembuatan Larutan Stok (10 mg/ml)

$$\text{Konsentrasi} = w/v$$

$$10 \text{ mg/ml} = \frac{w}{10}$$

$$W = 10 \times 10$$

$$W = 100 \text{ mg} \rightarrow 0,1 \text{ gr}$$

- Konsentrasi 1 mg/ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$10 \cdot v_1 = 1 \cdot 5$$

$$v_1 = 5/10$$

$$v_1 = 0,50 \text{ ml}$$

Maka, 0,5 ml larutan stok + 4,5 ml DMSO 100%

- Konsentrasi 0,75 mg/ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$10 \cdot v_1 = 0,75 \cdot 5$$

$$v_1 = 3,75/10$$

$$v_1 = 0,375 \text{ ml}$$

Maka, 0,375 ml larutan stok + 4,625 ml DMSO 100%

- Konsentrasi 0,50 mg/ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$10 \cdot v_1 = 0,5 \cdot 5$$

$$v_1 = 2,50/10$$

$$v_1 = 0,250 \text{ ml}$$

Maka, 0,250 ml larutan stok + 4,750 ml DMSO 100%

- Konsentrasi 0,25 mg/ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$10 \cdot v_1 = 0,25 \cdot 5$$

$$v_1 = 1,25/10$$

$$v_1 = 0,125 \text{ ml}$$

Maka, 0,125 ml larutan stok + 4,875 ml DMSO 100%

Keterangan:

W = berat ekstrak yang diperlukan (gram)

V = volume pelarut (ml)

m_1 = konsentrasi larutan 1

m_2 = konsentrasi larutan 2

v_1 = volume larutan 1

v_2 = volume larutan 2

LAMPIRAN 7
(Hasil Uji Antimikroba)

Data Zona Bening Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu

Bakteri *Klebsiella pneumonia*

Konsentrasi (mg/ml)	Zona bening (mm)					Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	
0,25 (a)	0,97	0,41	2,52	0,34	0	0,848
0,50 (b)	2,73	3,7	2,81	0,13	0	1,874
0,75 (c)	2,32	1,49	3,3	0,61	0,45	1,634
1 (d)	1,2	0,89	3,35	1,26	1,3	1,6
Kontrol + (Kloramfenikol)	19,8	-	-	-	-	19,8
Kontrol - (DMSO 100%)	0	-	-	-	-	0

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (mg/ml)	Zona bening (mm)					Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	
0,25 (a)	0,6	0,31	0,11	2,07	2,36	1,09
0,50 (b)	0,47	1,28	0,2	2,51	1,6	1,212
0,75 (c)	0,1	0,6	0,17	2,39	2,53	1,158
1 (d)	0,54	0,55	0,36	4,89	2,23	1,714
Kontrol + (Kloramfenikol)	21	-	-	-	-	21
Kontrol - (DMSO 100%)	0	-	-	-	-	0

Keterangan:

- a = konsentrasi 25%
- b = konsentrasi 50%
- c = konsentrasi 75%
- d = konsentrasi 100%

Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (mg/ml)	Zona bening (mm)					Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	
0,25 (a)	0,56	1,05	1,4	0,11	1,26	0,876
0,50 (b)	0,89	0,99	1,35	1,5	2,76	1,498
0,75 (c)	1,35	0,6	1,3	1,37	1,45	1,214
1 (d)	1,47	0,33	1,67	3,53	1,9	1,78
Kontrol + (Amoksilin)	20,05	-	-	-	-	20,05
Kontrol - (DMSO 100%)	0	-	-	-	-	0

Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Konsentrasi (mg/ml)	Zona bening (mm)					Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	
0,25 (a)	0	1,27	4,2	3,26	0,56	1,858
0,50 (b)	0	3,21	6,18	4,24	0,55	2,836
0,75 (c)	3,02	5,8	5,55	5,62	1,8	4,358
1 (d)	3,31	4,82	5,72	7,05	1,6	4,5
Kontrol + (Amoksilin)	44,03	-	-	-	-	44,03
Kontrol - (DMSO 100%)	0	-	-	-	-	0

Keterangan:

a = konsentrasi 25%

b = konsentrasi 50%

c = konsentrasi 75%

d = konsentrasi 100%

LAMPIRAN 8
(Perhitungan Analisis Sidik Ragam (ANOVA))

UJI DESKRIPTIF
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Respon_K_pneumonia * Perlakuan	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%

Report

Respon *K pneumoniae*

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Sum	Maximum	Variance
kadar 25%	,8480	5	,99743	,00	4,24	2,52	,995
kadar 50%	1,8740	5	1,69533	,00	9,37	3,70	2,874
kadar 75%	1,6340	5	1,19555	,45	8,17	3,30	1,429
kadar 100%	1,6000	5	,99149	,89	8,00	3,35	,983
Kloramfenikol	19,8000	1		19,80	19,80	19,80	
20 µL DMSO 100%	,0000	1		,00	,00	,00	
Total	2,2536	22	4,09840	,00	49,58	19,80	16,797

UJI NORMALITAS

DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		22
Normal	Mean	,0000000
Parameters ^{a,b}	Std. Deviation	3,85786215
Most Extreme	Absolute	,238
Differences	Positive	,238
	Negative	-,208
Kolmogorov-Smirnov Z		1,119
Asymp. Sig. (2-tailed)		,164

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

UJI HOMOGENITAS
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*

Test of Homogeneity of Variances

Respon_K_pneumonia

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,864	3	16	,176

UJI ANOVA
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
Perlakuan	1,00	kadar 25%	5
	2,00	kadar 50%	5
	3,00	kadar 75%	5
	4,00	kadar 100%	5
	5,00	Kloramfenikol	1
	6,00	20 µL DMSO 100%	1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Respon_K_pneumonia

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	327,609 ^a	5	65,522	41,725	,000	,929
Intercept	236,918	1	236,918	150,870	,000	,904
Perlakuan	327,609	5	65,522	41,725	,000	,929
Error	25,126	16	1,570			
Total	464,470	22				
Corrected Total	352,735	21				

a. R Squared = ,929 (Adjusted R Squared = ,907)

UJI DESKRIPTIF
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Respon_P_aeruginosa * Perlakuan	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%

Report

Respon P aeruginosa

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Sum	Maximum	Variance
kadar 25%	1,0900	5	1,04669	,11	5,45	2,36	1,096
kadar 50%	1,2120	5	,92394	,20	6,06	2,51	,854
kadar 75%	1,1580	5	1,20489	,10	5,79	2,53	1,452
kadar 100%	1,7140	5	1,93130	,36	8,57	4,89	3,730
Kloramfenikol	21,0000	1	.	21,00	21,00	21,00	.
20 µL DMSO 100%	,0000	1	.	,00	,00	,00	.
Total	2,1305	22	4,38802	,00	46,87	21,00	19,255

UJI NORMALITAS

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		22
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	4,12628019
Most Extreme Differences	Absolute	,260
	Positive	,260
	Negative	-,183
Kolmogorov-Smirnov Z		1,218
Asymp. Sig. (2-tailed)		,103

- a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

UJI HOMOGENITAS
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Test of Homogeneity of Variances

Respon_P_aeruginosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,523	3	16	,247

UJI ANOVA

DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
Perlakuan	1,00	kadar 25%	5
	2,00	kadar 50%	5
	3,00	kadar 75%	5
	4,00	kadar 100%	5
	5,00	Kloramfenikol	1
	6,00	20 µL DMSO 100%	1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Respon_P_aeruginosa

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	375,825 ^a	5	75,165	42,163	,000	,929
Intercept	244,671	1	244,671	137,245	,000	,896
Perlakuan	375,825	5	75,165	42,163	,000	,929
Error	28,524	16	1,783			
Total	504,203	22				
Corrected Total	404,348	21				

a. R Squared = ,929 (Adjusted R Squared = ,907)

UJI DESKRIPTIF
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Respon_S_aureus *	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%
Perlakuan						

Report

Respon S aureus

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Sum	Maximum	Variance
kadar 25%	,8760	5	,53360	,11	4,38	1,40	,285
kadar 50%	1,4980	5	,74871	,89	7,49	2,76	,561
kadar 75%	1,2140	5	,34746	,60	6,07	1,45	,121
kadar 100%	1,7800	5	1,14974	,33	8,90	3,53	1,322
Amoksisilin	20,0500	1		20,05	20,05	20,05	
20 µL DMSO	,0000	1		,00	,00	,00	
100%							
Total	2,1314	22	4,07946	,00	46,89	20,05	16,642

UJI NORMALITAS

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Staphylococcus aureus*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		22
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	3,80773382
Most Extreme Differences	Absolute	,308
	Positive	,308
	Negative	-,215
Kolmogorov-Smirnov Z		1,446
Asymp. Sig. (2-tailed)		,05

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

UJI HOMOGENITAS

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

Respon S aureus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,901	3	16	,463

UJI ANOVA

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Perlakuan	1,00	kadar 25%	5
	2,00	kadar 50%	5
	3,00	kadar 75%	5
	4,00	kadar 100%	5
	5,00	Amoksisilin	1
	6,00	20 µL DMSO 100%	1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Respon_S_aureus

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	340,331 ^a	5	68,066	119,000	,000	,974
Intercept	230,741	1	230,741	403,406	,000	,962
Perlakuan	340,331	5	68,066	119,000	,000	,974
Error	9,152	16	,572			
Total	449,422	22				
Corrected Total	349,482	21				

a. R Squared = ,974 (Adjusted R Squared = ,966)

UJI DESKRIPTIF
DAYA HAMBAT KALAYU TERHADAP *Streptococcus pyogenes*

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Respon_S_pyogenes * Perlakuan	22	100,0%	0	,0%	22	100,0%

Report

Respon S pyogenes

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Sum	Maximum	Variance
kadar 25%	1,8580	5	1,79814	,00	9,29	4,20	3,233
kadar 50%	2,8360	5	2,57692	,00	14,18	6,18	6,641
kadar 75%	4,3580	5	1,83211	1,80	21,79	5,80	3,357
kadar 100%	4,5000	5	2,11657	1,60	22,50	7,05	4,480
Amoksisilin 20 µL	44,0300	1		44,03	44,03	44,03	
DMSO 100%	,0000	1		,00	,00	,00	
Total	5,0814	22	8,98444	,00	111,79	44,03	80,720

UJI NORMALITAS

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Streptococcus pyogenes*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		22
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	8,28275867
Most Extreme Differences	Absolute	,291
	Positive	,291
	Negative	-,190
Kolmogorov-Smirnov Z		1,366
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

UJI HOMOGENITAS
UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Streptococcus pyogenes*

Test of Homogeneity of Variances

Respon S. pyogenes

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,378	3	16	,770

UJI ANOVA

UJI HAMBAT KALAYU TERHADAP *Streptococcus pyogenes*

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
Perlakuan	1,00	kadar 25%	5
	2,00	kadar 50%	5
	3,00	kadar 75%	5
	4,00	kadar 100%	5
	5,00	Amoksisilin	1
	6,00	20 µL DMSO 100%	1

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Respon S. pyogenes

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1624,281 ^a	5	324,856	73,371	,000	,958
Intercept	1184,174	1	1184,174	267,454	,000	,944
Perlakuan	1624,281	5	324,856	73,371	,000	,958
Error	70,841	16	4,428			
Total	2263,168	22				
Corrected Total	1695,123	21				

a. R Squared = ,958 (Adjusted R Squared = ,945)

LAMPIRAN 9
(Dokumentasi Kegiatan Penelitian)



Proses maserasi

Proses penyaringan

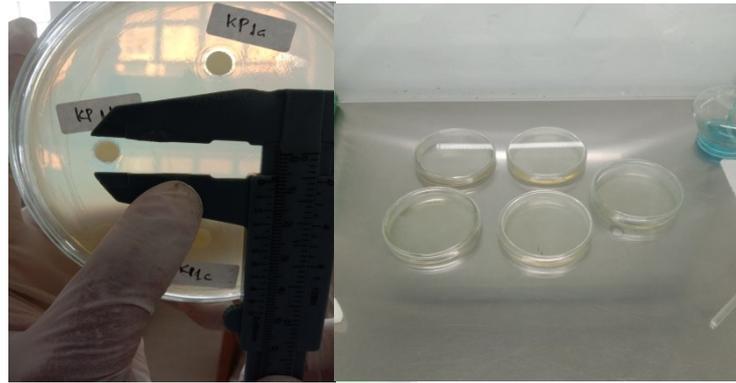


Proses penyaringan

Proses *rotary evaporation*



Proses pengujian antimikroba: Inokulasi bakteri uji pada media MHA



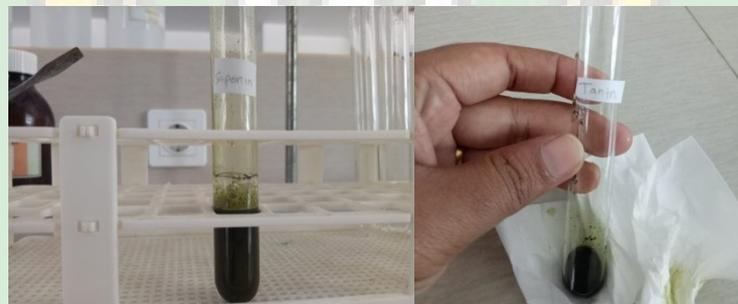
Pengukuran zona hambat

Media MHA untuk uji antimikroba



Uji alkaloid

Uji flavonoid



Uji saponin

Uji tanin



Isolat *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat *Klebsiella pneumoniae*