

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA
(*Vernonia amygdalina* Del.) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Escherichia coli***



**RAISA TANJUNG
NIM: P07539016049**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN FARMASI
2019**

LEMBARAN PERSETUJUAN

JUDUL : UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
AFRIKA (*Vernonia amygdalia* Del.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

NAMA : RAISA TANJUNG

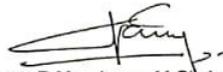
NIM : P07539016049

Telah Diterima dan Disetujui Untuk Diseminarkan Dihadapan penguji

Medan , Juni 2019

Menyetujui

Pembimbing.



Dra. D. Elysa P Mambang, M.Si., Apt.
NIP.195410101994032001

Ketua Jurusan Farmasi
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan



Dra. Masnah, M.Kes., Apt
NIP.196204281995032001

LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL : Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia Amygdalia Del.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*
NAMA : RAISA TANJUNG
NIM : P07539016049

Karya Tulis Ilmiah ini Telah Diuji Pada Sidang Ujian Akhir Program
Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan 2019

Penguji I

Dra. Tri Bintarti, M.Si., Apt.
NIP. 195707311991012001

Penguji II

Drs. Jafri Rezi, M.Si., Apt.
NIP. 195604081996031001

Ketua Penguji

Dra. D. Elysa P Mambang, M.Si., Apt.
NIP. 195410101994032001

Ketua Jurusan Farmasi
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan



Dra. Elysa P Mambang, M.Kes, Apt.
NIP. 196204281995032001

SURAT PERNYATAAN

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk disuatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Medan, Juli 2019

**Raisa Tanjung
NIM. P07539016049**

MEDAN HEALTH POLYTECHNICS OF MINISTRY OF HEALTH
PHARMACY DEPARTMENT
SCIENTIFIC PAPER, JULY 2019

Raisa Tanjung

ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF AFRICAN LEAVES
(*Vernonia amygdalina* Del.) ON THE GROWTH OF *ESCHERICHIA COLI*
BACTERIA

xi + 39 pages, 1 table, 1 graph, 11 images, 8 attachments

ABSTRACT

African leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) is one of the plants that has an antibacterial effect. African leaves contain components of flavonoids, alkaloids and tannins as antibacterial. One of the gram negative bacteria that often causes infection in the gastrointestinal tract is the *Escherichia coli* bacteria.

The study aimed to determine the inhibitory power of African leaf extract on the growth of *Escherichia coli*. This type of research is experimental with posttest only design and purposive sampling methods. Antibacterial activity testing is carried out by diffusion using paper discs.

The results showed that the average inhibition zone of *Escherichia coli* bacteria at a concentration of 30% ethanol extract of African leaves was 14.93 mm, at a concentration of 40% it was 14.93 mm, at a concentration of 50% it was 15.88 mm while the average inhibition zone for *Escherichia coli* bacteria on chloramphenicol antibiotics is 19.43 mm.

The conclusion of the study was the ethanol extract of African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria.

Keywords : Antibacterial, Ethanol Extract of African Leaves, *Escherichia coli*
References : 19 (1976-2016)

POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN FARMASI
KTI, JULI 2019

Raisa Tanjung

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

xi + 39 halaman, 1 tabel, 1 grafik, 11 gambar, 8 lampiran

ABSTRAK

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki efek sebagai antibakteri. Daun Afrika mengandung komponen flavonoid, alkaloid dan tannin sebagai antibakteri. Salah satu bakteri gram negatif yang sering menyebabkan infeksi pada saluran cerna adalah bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun Afrika terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental, desain *Posttest Only Design* serta pengambilan sampel secara *Purposive Sampling*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara difusi agar dengan menggunakan kertas cakram.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 30% ekstrak etanol daun Afrika adalah 14,93 mm. Rata-rata zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 40% ekstrak etanol daun Afrika adalah 14,93 mm. Rata-rata zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 50% ekstrak etanol daun Afrika adalah 15,88 mm. Rata-rata zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* pada antibiotik kloramfenikol adalah 19,43 mm.

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci : Antibakteri, Ekstrak Etanol Daun Afrika, *Escherichia coli*
Daftar Bacaan : 19 (1976-2016)

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “**Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) Pada Bakteri *Escherichia coli***”. Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan Program Diploma III di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan, dalam pelaksanaan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penulis mendapat banyak bantuan, bimbingan, dan arahan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Dra. Ida Nurhayati, M.Kes., selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.
2. Ibu Dra. Masniah, M.Kes., Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.
3. Ibu Dra. D. Elysa Putri M, M.Si., Apt., selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah sekaligus Ketua Penguji yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.
4. Ibu Masrah, S.Pd., M.Kes., selaku Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.
5. Ibu Tri Bintarti, M.Si., Apt. selaku penguji I dan Bapak Jafril Rezi, M.Si., Apt. selaku penguji II saya yang telah memberikan kritik dan saran.
6. Seluruh Dosen dan staff di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan.
7. Teristimewa kepada kedua orang tua yang sangat penulis sayangi dan cintai, Ayahanda Zulkifli Tanjung dan Ibunda Isnazar, saudara-saudara penulis Rahmat Dika Tanjung, Raihan Tanjung, Alhafiz Tanjung dan teman-teman yang telah memberikan semangat, nasehat, doa serta dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Kepada seluruh pihak yang telah banyak memberikan dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga arahan, motivasi, dan bantuan yang telah diberikan menjadi amal ibadah bagi keluarga, bapak, dan rekan-rekan, sehingga memperoleh balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah atau tulisan penulis berikutnya. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih dan semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi pembaca.

Medan, Juli 2019

Penulis

Raisa Tanjung

NIM. P07539016049

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRACT	i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GRAFIK.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Uraian Tumbuhan	4
2.1.1 Nama Lain dan Nama Daerah	4
2.1.2 Sistematika Tumbuhan.....	4
2.1.3 Morfologi Tumbuhan	5
2.1.4 Zat-zat yang Dikandung	5
2.1.5 Khasiat Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.).....	6
2.2 Bakteri.....	6

2.2.1 Bentuk Bakteri	7
2.2.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba	7
2.3 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	8
2.4 Antibakteri	9
2.4.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	9
2.5 Simplisia.....	10
2.6 Ekstrak	11
2.6.1 Jenis-jenis Ekstrak.....	11
2.7 Antibiotik	13
2.8 Kloramfenikol	14
2.9 Kerangka Konsep.....	15
2.10 Definisi Operasional	15
2.11 Hipotesis	15
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Jenis dan Desain Penelitian	16
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.3 Pengambilan Sampel.....	16
3.4 Alat dan Bahan	16
3.4.1 Alat.....	16
3.4.2 Bahan.....	17
3.5 Pengolahan Sampel.....	18
3.6 Perhitungan Cairan Penyari	18

3.7 Pembuatan Ekstrak Daun Afrika	18
3.8 Pembuatan Sampel Ekstrak Daun Afrika	19
3.9 Prosedur Kerja	20
3.9.1 Pembuatan Media	20
3.9.2 Pembiakan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
3.9.3 Pengecatan Gram Pada Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
3.9.4 Pengenceran Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
3.9.5 Pengujian Efek Antibakteri Ekstrak Daun Afrika terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan Konsentrasi Berbeda Menggunakan Metode Cakram	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil.....	25
4.2 Pembahasan.....	27
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	28
5.1 Simpulan.....	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1. Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Daun Afrika Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan Satuan mm.....	25
---	----

DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik Ekstral Etanol Daun Afrika.....	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Serbuk daun Afrika.....	30
Gambar 2. Ekstrak Cair Daun Afrika	30
Gambar 3. Alat Rotary Evaporator	31
Gambar 4. Ekstrak Kental Daun Afrika	31
Gambar 5. Konsentrasi Ekstrak Daun Afrika.....	32
Gambar 6. Media EMBA yang Sudah Ditanami <i>Escherichia coli</i>	32
Gambar 7. Media NA yang sudah Ditanami <i>Escherichia coli</i>	33
Gambar 8. Suspensi Mc. Farland	33
Gambar 9. Pengenceran Bakteri <i>Escherichia coli</i>	34
Gambar 10. Media MHA	34
Gambar 11. Hasil Percobaan.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA).....	36
2. Media Mueller Hilton Agar.....	36
3. Media Nutrient Agar	36
4. Suspensi Standar Mc. Farland.....	36
5. Larutan NaCl 0,9%	36
6. Surat Izin Penelitian Mahasiswa	37
7. Surat <i>Ethical Clearance</i>	38
8. Kartu Lampiran Pertemuan Bimbingan KTI.....	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia No. 36 tahun 2009 tentang kesehatan, obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.

Indonesia merupakan salah satu negara yang terdapat di Asean yang termasuk juga sebagai negara berkembang khususnya dibagian kesehatan. Salah satu penyakit yang sering dijumpai di Indonesia adalah terjadinya kontaminasi makanan yaitu Diare. Berdasarkan pola penyebab kematian semua umur, diare merupakan penyebab kematian peringkat ke-13 dengan proporsi 3,5%. Sedangkan berdasarkan penyakit menular, diare merupakan peringkat ketiga penyebab kematian ke-3 setelah TB dan Pneumonia. Beberapa jenis Diare tersebut disebabkan organisme renik seperti bakteri dan virus (WHO, 2013). Bakteri patogen seperti *Escherichia coli* merupakan penyebab utama penyakit diare.

Escherichia coli adalah bakteri yang banyak ditemukan didalam usus besar manusia sebagai flora normal biasanya dapat menyebabkan hilangnya sejumlah besar air dan garam dalam tubuh (Puspito, 2012).

Pengobatan tradisional sudah dikenal masyarakat Indonesia secara luas sejak zaman dahulu kala. Pengobatan tersebut menggunakan ramuan-ramuan dengan bahan dasar sebahagian besar berasal dari tumbuhan-tumbuhan dan juga dapat berasal dari hewan dan mineral. Pengobatan tradisional ini banyak diminati oleh masyarakat karena biasanya bahan-bahannya dapat ditemukan dengan mudah di lingkungan sekitar tempat tinggal mereka. Selain itu, dimasa lalu pengobatan tradisional ini memang satu-satunya pengobatan yang diwariskan secara turun-temurun kepada generasi selanjutnya menurut kebiasaan yang berlaku dimasyarakat (Suparni dan Ari Wulandari, 2012).

Menurut WHO, tanaman herbal akan menjadi sumber terbaik untuk menghasilkan berbagai jenis obat dan telah merekomendasikan penggunaan obat herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit (Sari, 2006).

Salah satu jenis tumbuhan obat yang berkhasiat bagi kesehatan adalah daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daun Afrika mempunyai khasiat dalam menyembuhkan berbagai penyakit dan sangat mudah tumbuh sehingga mudah ditemukan. Daun Afrika mengandung flavonoid, tannin, saponin, dan terpenoid yang mampu membunuh parasit penyebab malaria, antiamoeba, anti tumor, dan antimikroba. Selain itu, daun Afrika mempunyai manfaat untuk diabetes, diare, malaria, menstabilkan tekanan darah, membantu menyembuhkan insomnia, membantu mencegah penyakit stroke, mencegah kanker, dan mencegah penyakit jantung (Ijeh dan Ijeke, 2011 dalam Rani dan Elsy).

Penelitian Alo et al. (2012) menunjukkan ekstrak etanol daun Afrika menunjukkan penghambatan terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 23 mm dan 13 mm (Alo et al. 2012 dalam Cut Nurhaliza).

Berdasarkan data empiris daun Afrika yang biasa disebut *bitter leaf* di Inggris ini sering digunakan secara tradisional mengatasi demam, analgesik dan diare (Yeap et al 2010; Audu et al. 2012)

Berdasarkan uraian diatas, serta banyaknya manfaat dari daun Afrika membuat penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang **“Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*”**.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap perumbuhan bakteri *Escherichia coli* ?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ?
3. Pada konsentrasi berapakah ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai efek antibakteri yang mendekati dengan kloramfenikol ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
3. Untuk mengetahui pada konsentrasi berapa ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai efek antibakteri yang mendekati dengan kloramfenikol.
4. Sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan di Jurusan Farmasi Poltekkes Medan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai sumber informasi kepada masyarakat tentang khasiat daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) khususnya sebagai antibakteri.
2. Untuk menambah ilmu pengetahuan serta memberikan pengalaman kepada penulis dalam hal melakukan penelitian.
3. Untuk menambah referensi bagi peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan



Uraian tumbuhan meliputi: nama lain dan nama daerah, sistematika tumbuhan, morfologi tumbuhan, zat-zat yang dikandung dan kegunaannya.

2.1.1 Nama Lain dan Nama Daerah

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) memiliki nama daerah daun pahit (Jawa), daun Insulin (Padang), *Nan Fei Shu* (China), dan daun kupu-kupu (Malaysia).

2.1.2 Sistematika Tumbuhan

Sistematika daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledone
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Vernonia</i>
Species	: <i>Vernonia amygdalina</i> Del.

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Daun Afrika mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: Batang tegak, tinggi 1-3 m, bulat, berkayu, berwarna coklat kotor; daun majemuk, anak daun berhadapan, panjang 15-25 cm, lebar 5-8 cm, tebal 7-10 mm, berbentuk lanset, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal membulat, pertulangan menyirip, berwarna hijau tua, akar tunggang . (Ibrahim, dkk 2004).

2.1.4 Zat-zat yang Dikandung

Daun Afrika banyak mengandung nutrisi dan senyawa kimia, antara lain protein 19,2%, serat 19,2%, karbohidrat, 68,4%, lemak 4,7%, asam askorbat 166,5% mg/100gr, karotenoid 30 mg/100gr, kalsium 0,97gr/100gr, fosfor, kalium, sulfur, natrium, mangan, tembaga, zink, magnesium dan selenium. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun Afrika antara lain: saponin (vernoniosida dan steroid saponin), seskuiterpen (vernolida, vernodalol, vernolepin, vernodalin dan vernomygdin), flavonoid, kumarin, asam fenolat, lignin, xanton, terpen, peptide dan luteolin. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. (Ijeh, 2010).

2.1.5 Khasiat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Salah satu tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat tradisional yang berkhasiat untuk menangkal radikal bebas yaitu daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daun Afrika juga mengandung flavonoid yang dapat mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Efektivitas antioksidan dari flavonoid dilaporkan beberapa kali lebih kuat dibandingkan vitamin C dan E. Dalam fungsinya menetralkan radikal bebas, flavonoid bekerja secara sinergis (saling memperkuat) dengan vitamin C (Linder, 2006).

Selain itu daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) juga dikenal dengan nama daun seribu penyakit diyakini berhasiat untuk pengobatan diabetes, hipertensi, mengurangi kolestrol jahat, asam urat, pengerasan hati bahkan kanker hati, pembuangan racun dalam tubuh (*detoksifikasi*), reumatik, susah tidur, kesemutan, demam, pusing kepala, menghilangkan flek hitam silinder, infeksi tenggorokan, menghilangkan dahak, melancarkan buang air seni, menguatkan fungsi lambung, batuk, menguatkan fungsi paru-paru. Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat dan kandungan dari *Vernonia amygdalina* Del. Tanaman tersebut juga dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi, radang gusi, rematisme, anti malaria, anti diare, penyakit kelamin, penyakit usus, antioksidan. Selain sebagai pengobatan pada manusia, tanaman tersebut juga dapat dijadikan sebagai bahan proteksi hama dan penyakit tanaman karena diketahui mengandung zat antimikroba (Dian M.A, dkk 2015).

Manfaat lain daun Afrika dapat digunakan sebagai antibakteri, dimana ekstrak daun Afrika memiliki aktivitas antibakteri yang mampu membunuh bakteri (Sharma, 2010).

2.2 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu dan berkembang biak membelah diri, ukuran sangat kecil dengan diameter 0,5-1,0 mikron dengan panjang 1,5-2,5 mikron sehingga hanya bisa dilihat dibawah mikroskop.

2.2.1 Bentuk Bakteri

Berdasarkan bentuk morfologinya, bakteri dapat dibagi atas tiga yaitu :

1. Bentuk Basil

Berbentuk seperti tongkat pendek atau silinder. Basil dapat bergandengan panjang seperti rantai (*streptobasil*), bergandengan dua-dua (*diplobasil*) atau terlepas satu sama lain (*monobasil*).

2. Bentuk Kokus

Bakteri berbentuk kokus adalah bakteri yang bentuknya seperti bola-bola kecil. Kokus ada yang bergandengan panjang seperti tali leher (*streptokokus*), bergandengan dua-dua (*diplokokus*), mengelompok berempat (*tetrakokus*), mengelompok membentuk satu untaian (*stafilokokus*), mengelompok seperti kubus (*sarsina*).

3. Bentuk Spiral

Bakteri yang berbentuk spiral adalah bakteri yang berbengkok-bengkok seperti spiral. Bakteri yang berbentuk spiral tidak banyak dijumpai (Dwidjoseputro, 2005).

2.2.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain :

1. Nutrisi

Nutrisi harus mengandung seluruh elemen, yang paling penting sintesis biologik organisme baru. Nutrisi ini terdiri dari sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfor, mineral dan faktor pertumbuhan (vitamin dan asam amino).

2. Tingkat Keasaman (pH)

pH mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kebanyakan bakteri yang patogen mempunyai pH optimum 7,2 - 7,6.

3. Temperatur (Suhu)

Setiap bakteri mempunyai temperatur optimum untuk dapat tumbuh dan batas-batas suhu agar dapat tumbuh. Berdasarkan batas-batas temperatur pertumbuhan, bakteri dibagi tiga golongan, yaitu :

a) Bakteri Psikhrofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada temperatur 5°C -30°C dengan temperatur optimum 10°C - 20°C.

b) Bakteri Mesofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada temperatur 10°C - 45°C dengan temperatur optimum 20°C - 40°C.

c) Bakteri Termofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada temperatur 25°C - 80°C dengan temperatur optimum 50°C - 60°C. Bakteri yang patogen bagi manusia biasanya tumbuh dengan baik pada temperatur 37°C.

4. Oksigen

Gas yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah oksigen (O₂) dan karbondioksida (CO₂). Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dibagi empat bagian yaitu :

a) Bakteri Aerob, yaitu bakteri yang dapat tumbuh subur bila ada oksigen dalam jumlah besar.

b) Bakteri Mikroaerofilik, yaitu bakteri yang hanya tumbuh baik dalam tekanan oksigen yang rendah.

c) Bakteri Anaerob Obligat, yaitu bakteri yang hidup tanpa oksigen karena oksigen toksis terhadap bakteri ini.

d) Bakteri Anaerob Fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh baik dalam suasana dengan atau tanpa oksigen.

5. Tekanan Osmotik

Bakteri yang membutuhkan kadar garam yang tinggi disebut halofilik, sedangkan bakteri yang memerlukan tekanan osmotik tinggi disebut osmofilik (Staf Pengajar FK-UI,1994).

2.3 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare. Bakteri ini berbentuk batang pendek (*kokobasil*), negatif gram, dan berukuran 0,4 – 0,7 µm, sebagian besar gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul (Staf Pengajar FK-UI,1994).

Sistematika bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Divisio : Bacteriophyta

Class : Bacteria

Ordo : Eubacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif bagian dari anggota flora normal usus dan memiliki peranan dalam beberapa proses pencernaan makanan namun dapat berubah menjadi patogen jika jumlah dalam saluran pencernaan meningkat atau berpindah tempat dari habitat normalnya di tubuh manusia. Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi system saluran kencing, diare, sepsis dan menginitis (Jawetz, 2001).

2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri. Oleh sebab itu, antibakteri yang bersifat menghambat perumbuhan disebut bakteriostatik dan yang membunuh bakteri disebut bakteriosid.

Antibakteri dikatakan memiliki efek yang memuaskan jika diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri kurang lebh 14 – 16 mm dan memberikan suatu hubungan dosis yang reproduksibel (Depkes RI, 1979).

2.4.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji efektifitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara antar lain : (Jawetz : 2001).

1. Metode Dilusi

Pada metode dilusi ini ada 2 macam yaitu, dilusi cair dan dilusi padat. Pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan di uji menjadi beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi ditambah suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi zat uji dicampur dengan media agar, lalu di tanam kuman. Hasil yang didapat dari metode ini adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi

cair menggunakan tabung reaksi ataupun *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah bakteri yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri.

2. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Kerja dengan mengamati daerah yang bening, yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar.

Metode difusi ini dibagi atas beberapa cara :

1) Cara Cakram

Cakram kertas yang berisi antibiotik diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Metode yang paling sering digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona inhibisi di sekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong/kapiler.

2) Cara *Silinder plat*

Cara ini dengan memakai alat pencandang berupa silinder kawat. Pada permukaan media pembedihan dibiarkan mikroba secara merata lalu diletakkan pencandang silinder harus benar-benar melekat pada media, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Setelah inkubasi, pencandang silinder diangkat dan diukur daerah hambat pertumbuhan mikroba.

3) Cara *Cup Plate*

Cara ini juga sama seperti cara cakram, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi antibiotik yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

2.5 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain merupakan bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelican atau mineral (Depkes RI, 1979).

2.6 Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V, ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

2.6.1 Jenis-jenis Ekstrak

- 1) Ekstrak cair (liquidum)
- 2) Ekstrak kental (spissum)
- 3) Ekstrak kering (siccum)

Proses penyarian zat aktif yang terdapat pada tanaman dapat dilakukan secara :

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III, pembuatan maserasi kecuali dinyatakan lain, dilakukan sebagai berikut : masukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam bejana, tuangi dengan 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering di aduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga di peroleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Enap tuangkan atau saring.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes, secara umum dapat dinyatakan sebagai proses dimana bahan yang

sudah halus , zat yang sudah larutnya diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewati perlahan-lahan.

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III 1979, pembuatan perkolasi kecuali dinyatakan lain, dilakukan sebagai berikut : Basahi 10 bagian simplisia atau campuran dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5-5 bagian cairan penyari, masukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 3 jam. Pindahkan massa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, tuangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan mulai menetes, dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari, kemudian tutup perkolator biarkan selama 24 jam. Kemudian buka keran dan biarkan cairan menetes, kecepatan 1 ml/menit, tambahkan cairan penyari berulang-ulang sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia sehingga diperoleh 80 bagian perkolat/hasil perkolat, kemudian peras massa dan campurkan perasan ke dalam perkolat, tambah cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 200 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, diamkan selama 2 hari di tempat sejuk, terlindung cahaya kemudian enap tuangkan atau saring.

3. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus di refluks. Alat soklet akan mengosongkan isinya kedalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik kedalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut (Depkes RI, 2000).

4. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2.7 Antibiotika

Antibiotik berasal dari bahasa Yunani yaitu *anti* artinya melawan dan *bitikos* artinya cocok untuk kehidupan istilah ini dikenal oleh Selman pada tahun 1942 untuk menggambarkan semua senyawa kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Namun, istilah antibiotik kemudian juga mencakup semua senyawa yang dibuat secara semisintetik ataupun secara sintetik yang bersumber dari mikroorganisme yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain dan memiliki sifat toksisitas selektif.

Berdasarkan spektrum kerjanya antibiotik dibagi menjadi 3 kelompok antara lain :

1. Spektrum sempit

Aktif terhadap beberapa jenis bakteri saja, misalnya hanya bakteri pada gram negatif atau gram positif saja. Contohnya : benzil penisilin dan streptomisin.

2. Spektrum yang diperluas

Antibiotik efektif melawan bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif. Sebagai contoh, ampicilin merupakan antibiotik spektrum yang diperluas karena dapat melawan bakteri gram positif dan sebagian bakteri gram negatif.

3. Spektrum luas

Aktif terhadap lebih banyak bakteri, baik bakteri gram negatif maupun gram positif. Contohnya : kloramfenikol, tetrasiklin, dan sefalosporin.

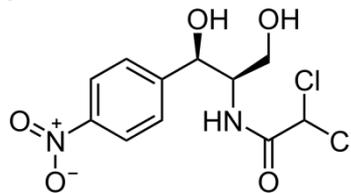
Antibiotik digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi akibat kuman atau juga untuk prevensi infeksi. Diperkirakan antibiotik bekerja setempat di dalam usus dengan menstabilisir flora. Kuman-kuman buruk yang merugikan dikurangi jumlahnya sehingga zat-zat gizi dapat dipergunakan lebih baik.

Cara kerja antibiotik terhadap bakteri adalah sebagai berikut :

1. Penghambat sintesis atau merusak dinding sel
2. Penghambat sintesis protein
3. Penghambat sintesis asam nukleat
4. Mengganggu keutuhan membran sel mikroorganisme
5. Penghambat sintesis metabolit (Radji M, 2016).

2.8 Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik dan anaerobik gram positif maupun negatif. Sebagian besar bakteri gram positif dihambat pada konsentrasi 1-10 µg/ml, sementara kebanyakan bakteri gram negatif dihambat pada konsentrasi 0,2-5 µl/ml (katzung, 2004).



Kloramfenikol (Farmakope Indonesia edisi IV halaman 189 ; FI III hal 144).

Rumus molekul = C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅.

Berat Molekul = 323,13.

Pemerian = Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan.

Kelarutan = Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilena glikol.

Titik Lebur = Antara 1490 dan 1530 C.

pH = Antara 4,5 dan 7,5.

Stabilitas = Salah satu antibiotik yang secara kimiawi diketahui paling stabil dalam segala pemakaian. Stabilitas baik pada suhu kamar dan kisaran pH 2-7, suhu 25oC dan pH mempunyai waktu paruh hampir 3 tahun. Sangat tidak stabil dalam suasana basa.

Dosis = Dalam salep 1 % (DI 2010 hal 223-227).

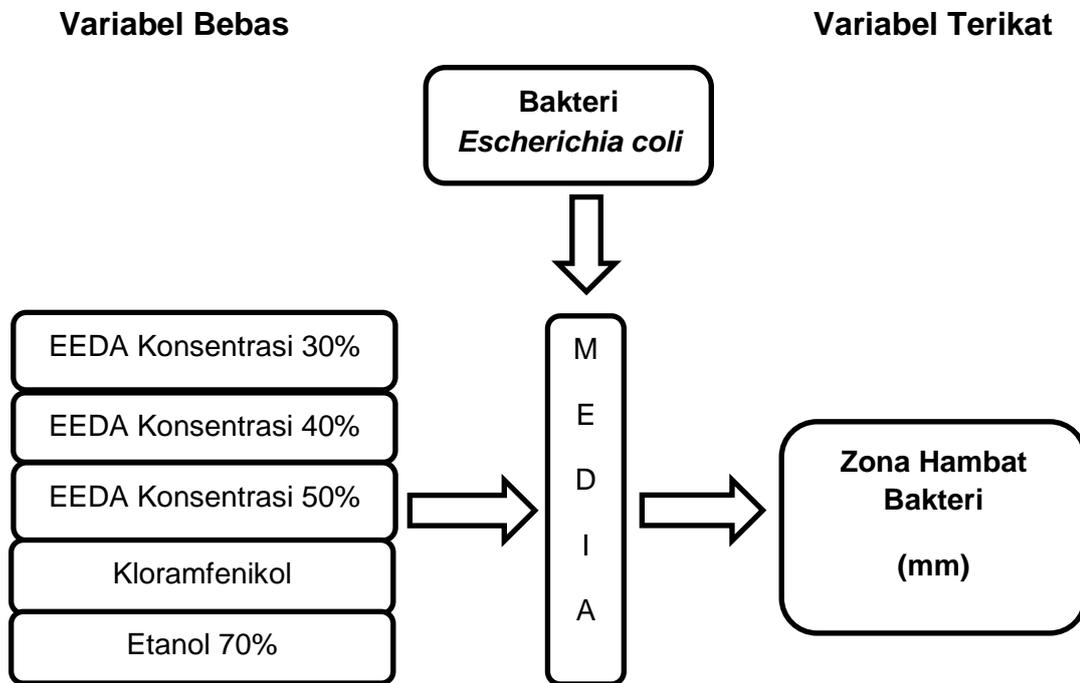
Khasiat = Antibiotik, antibakteri (gram positif, gram negatif, riketsia, klamidin), infeksi meningitis (Martindale edisi 30 hal 141).

Indikasi = Infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri yang sensitif terhadap kloramfenikol.

Efek Samping = Kemerahan kulit angiodem, urtikaria dan anafilaksis.

Penyimpanan = Wadah tertutup rapat.

2.9 Kerangka Konsep



Keterangan : EEDA adalah Ekstrak Etanol Daun Afrika

2.10 Definsi Operasional

1. Ekstrak daun Afrika adalah ekstrak yang akan diuji dengan konsentrasi yang telah ditentukan.
2. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri uji
3. Zona hambat adalah daerah jernih yang terdapat disekitar kertas cakram akibat pengaruh dari antibakteri.
4. Kloramfenikol sebagai kontrol positif.
5. Etanol 70% sebagai control negatif.

2.11 Hipotesis

Ekstrak daun Afrika mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan desain *Posttest Only Design* (Notoatmojo, 2012). Dalam rancangan ini perlakuan atau intervensi telah dilakukan, kemudian dilakukan pengukuran (observasi) atau *post test* terhadap hasilnya. Perlakuan adalah sebagai variable bebas, dan hasil adalah sebagai variable terikat (Sugiono, 2014).

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan selama dua minggu.

3.3 Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel adalah secara *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel tanpa membandingkan tempat dan letak geografisnya dengan kriteria ditentukan sendiri. Daun yang digunakan adalah daun Afrika yang masih segar. Sampel yang diuji diperoleh di Jalan HM. Yamin, Gang Mantri no. 14, Kecamatan Sei. Kera Hilir, Medan.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

1. Jangka sorong
2. Anak timbangan
3. Autoklaf
4. Batang pengaduk
5. *Beaker glass*
6. Cawan petri
7. Erlenmeyer

8. Gelas ukur
9. Inkubator
10. Kain flannel
11. Kapas
12. Kawat ose
13. Kayu penyari
14. Labu ukur
15. Lampu Bunsen
16. Mikroskop
17. Objek glass
18. Oven
19. *Paper disc blank*
20. Pipet tetes
21. Plastik
22. Rak tabung reaksi
23. Spidol
24. Tabung reaksi
25. Timbangan analitik

3.4.2 Bahan

1. Daun Afrika segar
2. Alkohol 70%
3. Aquadest
4. Suspensi Bakteri *Escherichia coli*
5. Eosin Methylen Blue Agar (EMBA)
6. Media Mueller Hinton (MHA)
7. Media Nutrient Agar (NA)
8. Suspensi Mc. Farland
9. Larutan NaCl 0.9%
10. Kloramfenikol
11. Kristal violet
12. Larutan fuchsin
13. Larutan lugol

14. Paper disc

3.5 Pengolahan Sampel

Daun Afrika yang masih segar dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan air mengalir, lalu ditiriskan. Iris daun Afrika dengan lebar 0,3 cm (3 mm). Keringkan pada suhu rendah di tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung kemudian daun yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk.

3.6 Perhitungan Cairan Penyari

Berat serbuk daun Afrika 10 bagian = 200 g

Berat serbuk daun Afrika sebanyak 100 bagian (2000 g)

Volume alcohol 70% yang dibutuhkan

$$V = \frac{B}{Bj \text{ alkohol } 70\%} = \frac{2000 \text{ g}}{0,884 \text{ g/ml}} = 2262,4 \text{ ml}$$

Cairan penyari 75 bagian :

$$\frac{75}{100} \times 2262 \text{ ml} = 1696,5 \text{ ml}$$

Cairan penyari 25 bagian :

$$\frac{25}{100} \times 2262 \text{ ml} = 565,5 \text{ ml}$$

3.7 Pembuatan Ekstrak Daun Afrika

Pembuatan :

1. Timbang sebanyak 200 gram serbuk daun Afrika, masukkan ke dalam wadah dan tuangi dengan cairan penyari 75 bagian yaitu 1696,5 ml
2. Tutup wadah dan biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil dilakukan beberapa kali pengadukan.
3. Setelah 5 hari serkai, dan ampasnya dibilas dengan sisa cairan penyari 25 bagian hingga diperoleh 2262,4 ml

4. Kemudian maseratnya dibiarkan selama 2 hari, lalu enaptuangkan.
5. Pindahkan ke dalam wadah.
6. Maserat kemudian diuapkan dengan alat *Rotary evaporator* (60°C-65°C) hingga diperoleh ekstrak kental daun Afrika.
7. Ekstrak kental yang diperoleh dibuat untuk masing-masing konsentrasi 30%, 40%, dan 50%.

3.8 Pembuatan Sampel Ekstrak Daun Afrika

Ekstrak kental daun Afrika yang diperoleh sebanyak 27,12 gram, maka dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 30%, 40%, dan 50%

1. Untuk membuat ekstrak daun Afrika dengan konsentrasi 30%

$$30\% = 30 \text{ g} / 100 \text{ ml}$$

$$= 0,3 \text{ g} / 1 \text{ ml}$$

Maka, untuk membuat 5 ml :

$$= \frac{5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 0,3 \text{ g}$$

$$= 1,5 \text{ gram}$$

Timbang sebanyak 1,5 gram ekstrak kental daun Afrika, tambahkan dengan alkohol 70% sebanyak 5 ml, kemudian kocok sampai homogen.

2. Untuk membuat ekstrak daun Afrika dengan konsentrasi 40%

$$40\% = 40 \text{ g} / 100 \text{ ml}$$

$$= 0,4 \text{ g} / 1 \text{ ml}$$

Maka, untuk membuat 5 ml :

$$= \frac{5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 0,4 \text{ g}$$

$$= 2 \text{ gram}$$

Timbang sebanyak 2 gram ekstrak kental daun Afrika, tambahkan dengan alkohol 70% sebanyak 5 ml, kemudian kocok homogen.

3. Untuk membuat ekstrak daun Afrika dengan konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} 50 \% &= 50 \text{ g} / 100 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ g} / 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Maka, untuk membuat 5 ml :

$$\begin{aligned} &= \frac{5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 0,5 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

Timbang sebanyak 2,5 gram ekstrak kental daun Afrika, tambahkan dengan alkohol 70% sebanyak 5 ml, kemudian kocok sampai homogen.

3.9 Prosedur Kerja

3.9.1 Pembuatan Media

1 Eosin Methylene Blue (EMBA)

Jumlah media yang harus dilarutkan dalam 1 liter aquadest pada etiket 36 g/L, maka banyaknya EMBA yang diperlukan untuk 50 ml adalah

$$\frac{50 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 36 \text{ g} = 1,8 \text{ g}$$

Pembuatan :

1. Timbang EMBA sebanyak 1,8 gram.
2. Masukkan ke dalam erlenmeyer, larutkan dengan aquadest sebanyak 50 ml.
3. Panaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk.
4. Angkat dan tutup erlenmeyer dengan kapas kemudian lapiasi dengan aluminium foil lalu ikat dengan benang bola.
5. Sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah steril, angkat dari autoklaf perlahan-lahan dan hati-hati.
7. Dinginkan sejenak, buka lembaran aluminium foil yang terikat pada erlenmeyer kemudian tuang ke dalam cawan petri secara aseptis.
8. Biarkan media dingin dan memadat.

2 Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Agar (MHA) 34 gram dalam 1 liter aquadest.

Banyak MHA yang diperlukan untuk 100 ml adalah

$$\frac{100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 34 \text{ g / L} = 3,4 \text{ g}$$

Pembuatan :

1. Timbang MHA sebanyak 3,4 gram.
2. Masukkan ke dalam erlenmeyer, larutkan dengan aquadest sampai 100 ml.
3. Panaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk.
4. Angkat dan tutup erlenmeyer dengan kapas kemudian lapiasi dengan aluminium foil lalu ikat dengan benang bola.
5. Sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah steril angkat dari autoklaf dengan perlahan-lahan dan hati-hati.

3 Nutrient Agar (NA)

Nutrient Agar (NA) 20 gram dalam 1 liter aquadest

Untuk 1 tabung reaksi 10 ml

Volume yang dibutuhkan 20 ml

$$\text{NA yang ditimbang} = \frac{20 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 20 \text{ g} = 0,4 \text{ gram}$$

Pembuatan

1. Timbang NA 0,4 gram
2. Masukkan ke dalam erlenmeyer, larutkan dalam aquadest sampai 20 ml.
3. Panaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk.
4. Angkat, lalu bagi dalam beberapa tabung reaksi (sesuai kebutuhan), tutup dengan kapas, lapiasi dengan aluminium foil, kemudian ikat dengan benang bola.
5. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah steril, angkat dan buka pembungkus aluminium foil pada tabung kemudian miringkan tabung yang berisi Nutrient Agar untuk memperoleh agar

miring. Biarkan sampai membeku, setelah itu lakukan penanaman bakteri dengan menggoreskan bakteri secara zig-zag pada media.

4 Pembuatan Suspensi Mc. Farland

Komposisi : Larutan asam sulfat (H_2SO_4) 1% v/v 99,5 ml

Larutan barium klorida ($BaCl_2$) 1,175% v/v 0,5 ml

Pembuatan

Kedua larutan dicampur dalam tabung reaksi steril. Lalu dikocok sampai homogen, apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar Mc. Farland berarti suspensi bakteri adalah 10^8 koloni/ml.

5 Larutan NaCl 0.9%

Pembuatan larutan NaCl 0,9%

Komposisi : NaCl 0,9 g

Aquadest ad 100 ml

Pembuatan :

NaCl ditimbang sebanyak 0,9 gram, kemudian larutkan dengan aquadest sehingga 100 ml dalam labu takar, kemudian sterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit.

6 Antibiotik Kloramfenikol

Antibiotik pembanding yang digunakan adalah *paper disc* yang telah berisi kloramfenikol dengan kadar 30 μg .

3.9.2 Pembiakan Bakteri *Escherichia coli*

1. Ambil satu ose koloni dari suspensi bakteri *Escherichia coli*, kemudian tanamkan ke media EMBA secara zig-zag, lalu tutup media.
2. Inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam, amati pertumbuhan koloni pada media.
3. Pilih warna koloni yang spesifik yaitu berwarna hijau, dengan kilat logam dan bintik biru kehijauan di tengahnya lalu lakukan pengecatan gram.

3.9.3 Pengecatan Gram pada Bakteri *Escherichia coli*

1. Ambil biakan yang spesifik berumur 18-24 jam yang berasal dari media EMBA, letakkan pada objek glass yang telah diberi cairan (aqua steril) terlebih dahulu dan lakukan fiksasi.
2. Tambahkan kristal violet, diamkan 5 menit kemudian bilas dengan aquadest.
3. Tambahkan larutan lugol, biarkan 45-60 detik kemudian cuci dengan allkohol 96%, diamkan 30 detik bilas dengan aquadest.
4. Tambahkan larutan fuchsin (pewarna penanda bakteri dan desinfektan), diamkan kira-kira 1-2 menit, bilas dengan aquadest, tiriskan kaca objek, serap air dengan kertas penyerap.
5. Amati hasil dengan mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 dan pembesaran 10 x 100 (menggunakan minyak inersi).
6. Jika bakteri tersebut adalah *Escherichia coli* hasil yang diperoleh di bawah mikroskop adalah bakteri berwarna merah berbentuk batang maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif.

3.9.4 Pengenceran Bakteri *Escherichia coli*

1. Masukkan kurang lebih 1 ml larutan NaCl 0,9% kedalam tabung kosong, kemudian ambil satu ose biakkan bakteri *Escherichia coli* yang berumur 18-24 jam yaitu biakan yang berasal dari nutrient agar.
2. Tambahkan sedikit demi sedikit larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh suspensi dengan kekeruhan yang sama dengan suspensi standart Mc. Farland, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 koloni/ml.
3. Pipet sebanyak 0,1 suspensi bakteri ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 9,9 ml, maka konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^6 koloni/ml.

3.9.5 Pengujian Efek Antibakteri Ekstrak Daun Afrika terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dengan Konsentrasi Berbeda Menggunakan Metode Cakram

1. Sterilkan semua alat dan bahan yang akan digunakan.
2. Pipet 0,1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^6 koloni/ml ke dalam 100 ml media MHA dengan suhu 45°C - 50°C lalu kocok sampai homogen, kemudian tuang 15 ml ke dalam cawan petri, lalu biarkan memadat.
3. Buat 5 tanda dengan spidol dibawah cawan petri dengan masing-masing konsentrasi (30%, 40%, 50%) daun Afrika, alkohol 70% dan kloramfenikol.
4. Rendam *paper disc blank* ke dalam ekstrak daun Afrika dengan masing-masing konsentrasi (30%, 40%, 50%), alkohol 70% dan kloramfenikol selama 2 menit.
5. Ambil *paper disc blank* yang telah direndam dengan menggunakan pinset lalu keringkan.
6. Letakkan *paper disc bank* ke dalam cawan petri sesuai dengan penandaan konsentrasi.
7. Inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C .
8. Amati hasilnya dengan mengukur zona hambatan berupa daerah yang tidak ditumbuhi bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan jangka sorong.
9. Catat hasil dalam satuan millimeter.
10. Percobaan dilakukan triplo yaitu dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

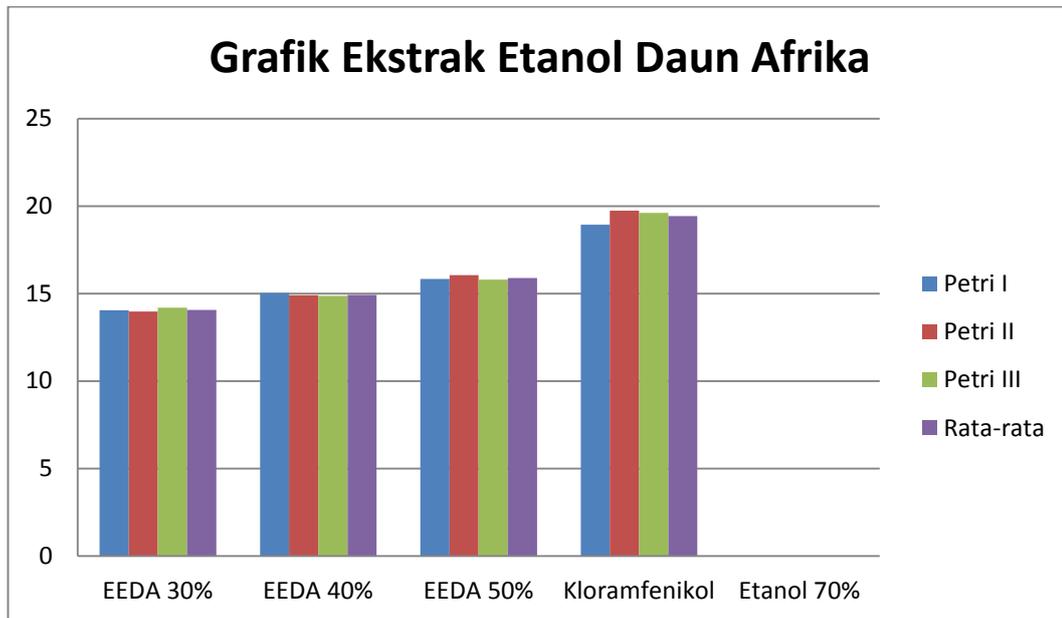
4.1 Hasil

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan. Diperoleh hasil uji perbandingan efek antibakteri ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Pengukuran hasil penelitian dengan mengukur zona hambat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Daerah yang diukur yaitu daerah yang tampak jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *Escherichia coli*, maka diperoleh hasil yang akan dimasukkan kedalam tabel berikut :

Tabel 4.1 Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Daun Afrika Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dengan Satuan mm

No.	Konsentrasi EEDA	Pengamatan Zona Hambat (mm)			Rata-rata Zona Hambat (mm)	Zona Hambat Antibakteri yang Memuaskan Menurut FI Ed.V (mm)
		Petri I	Petri II	Petri III		
1	30%	14,04	13,97	14,19	14,06	
2	40%	15,03	14,91	14,86	14,93	
3	50%	15,84	16,06	15,79	15,88	14-16
4	Kloramfenikol	18,94	19,73	19,62	19,43	

5	Etanol 70%	0	0	0	0
---	------------	---	---	---	---



4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya efek antibakteri dari ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan difusi agar dengan menggunakan kertas cakram.

Penyarian ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dilakukan dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari alkohol 70%. Dari penyarian 200 gram simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) diperoleh ekstrak kental 30,15 gram.

Dari hasil penelitian diperoleh daerah jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *Escherichia coli* bahwa dapat dilihat pada tabel 4.1 pada konsentrasi 30% adalah 14,06 mm dan pada konsentrasi 40% zona hambat yang dihasilkan adalah 14,93 mm dan pada konsentrasi 50% ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) zona hambat yang dihasilkan adalah 15,88 mm dan hasil ini termasuk di dalam zona hambat memuaskan yaitu 14-16 mm menurut Farmakope Indonesia Edisi V, Berdasarkan hasil penelitian maka ekstrak daun Afrika pada konsentrasi 30%, 40% dan 50% telah dikatakan memiliki efek antibakteri yang memuaskan.

Pada penelitian ini peneliti menggunakan *paper disc* yang berisi kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif. Kontrol positif digunakan untuk melihat perbandingan diameter daerah hambatan antibiotik dengan ekstrak etanol daun Afrika terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Adapun daerah hambatan yang didapatkan dari antibiotik Kloramfenikol sebesar 19,43 mm, dimana daerah hambatan ini lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun Afrika. Sebagai kontrol negatif menggunakan alkohol 70% yang tidak menghasilkan daerah hambatan.

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa perbedaan konsentrasi menyebabkan daerah hambatnya berbeda.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan melakukan pengamatan dan pengukuran terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Zona hambat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada konsentrasi 30% telah berkhasiat sebagai antibakteri yaitu dengan zona hambat 14,06 mm, sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi V dengan rata-rata zona hambat suatu antibakteri yang efektif adalah 14-16 mm.
3. Zona hambat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada konsentrasi 40% telah efektif sebagai antibakteri dengan zona hambat 14,93 mm, sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi V dengan rata-rata zona hambat suatu antibakteri yang efektif adalah 14-16 mm.
4. Zona hambat ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada konsentrasi 50% adalah 15,88 mm, sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi V dengan rata-rata zona hambat suatu antibakteri yang efektif adalah 14-16 mm.

5.2 Saran

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti efek antibakteri ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap pertumbuhan bakteri gram positif.
2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk membandingkan efek antibakteri ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap antibiotik lain.
3. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti khasiat lain dari daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

DAFTAR PUSTAKA

- Alo MN, Anyim C, Igwe JC, Elom M, Uchenna DS. *Antibacterial Activity of Water, Ethanol dan Methanol Extracts of Ocimum Gratissium, Vernonia amygdalina Del.*. Adv Appl Sci Res 2012 ; 3 (2): 844-8.
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta.
- Dian M.A (2015). *Artikel Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia* : 9
- Dwidjoseputro, 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan.
- Ibrahim.G dan Katayal.U (2004). *Assesment of the Antibacterial Activity of Vernonia Amygdalina Del. (Asteraceae)*. *Journal of Medicinal Plant Research Coskun, O., Kanter M., Korkmaz A. & Oter S. Nidya Zulfa (Penerjemah)*.
- Ijeh, I. I., Dan Ejike, C.E.C.C 2010. *Current Perspektives on the Medicinal Potensial of Vernonia amygdalina Del. Journal of Medicinal Plant Research Vol 5(7) :1051-1061, 4 April 2011*. Available Online.
- Jawetz,E. Melnick,J.L dan Adelberg,E.A,2001. *Mikrobiologi Kedokteran*.Jakarta : Salemba Medika.
- Katzung , B.G.2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 3 Edisi 8. Penerjemah dan Editor* : Bagian Farmakologi FK UNAIR. Surabaya : Salemba Medika.
- Linder M.C. (2006) *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian Secara Klinis*. Penerjemah : Aminuddin Parakkasi. UI Press. Jakarta.
- Notoatmojo,S. 2012. *Metodologi Penelitian*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Puspito,I.,2012. *Pengobatan Mandiri di Rumah Anda*. Jogjakarta: Bangkit.
- Radji,M.,2015. *Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Kemotrapi*.Jakarta : EGC
- Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*.Jakarta : Binarupa Aksara.
- Sugiono,2014. *Metodologi Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R&B*. Cetakan 20. Bandung : Alfabeta. Halaman 76.
- Suparni dan W Ari. 2012. *Herbal Nusantara 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Yogyakarta : Rapha Publish.
- at http://www.academycjournals.org/article/article_1380529017_ijeh_and_ejike [Accessed 18 May 2016].

DAFTAR GAMBAR



Gambar 1. Serbuk Daun Afrika



Gambar 2. Ekstrak cair daun Afrika



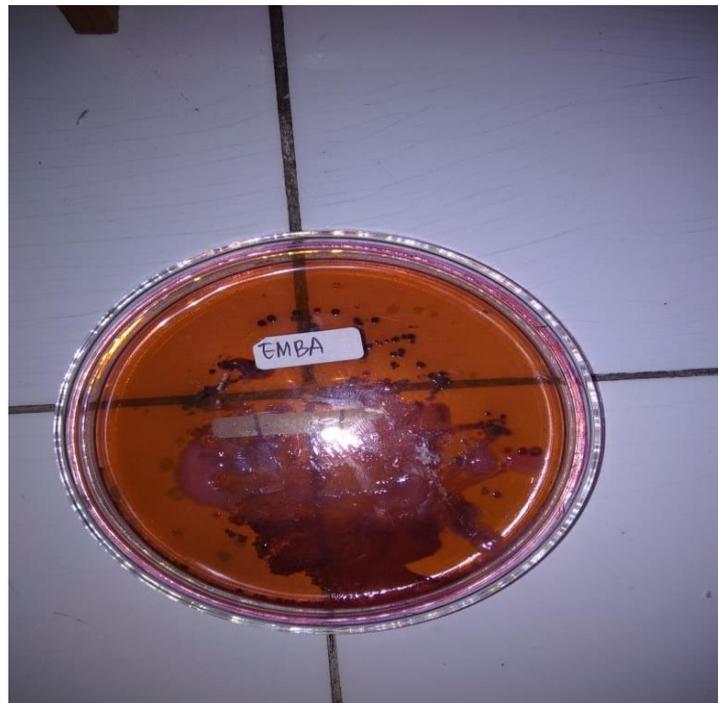
Gambar 3. Alat Rotary Evaporator



Gambar 4. Ekstrak Kental Daun Afrika



Gambar 5. Konsentrasi Ekstrak daun Afrika



Gambar 6. Media EMBA yang sudah ditanami *Escherichia coli*



Gambar 7. Media NA yang sudah ditanami *Escherichia coli*



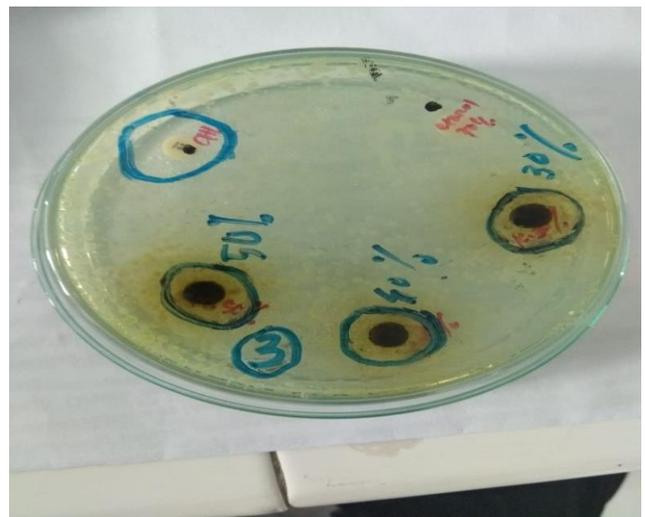
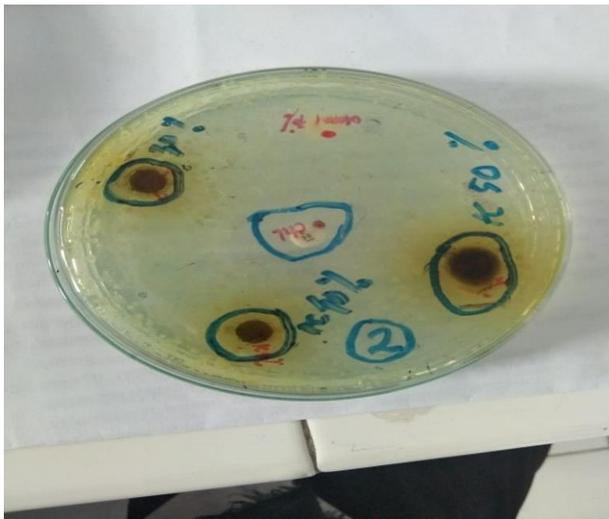
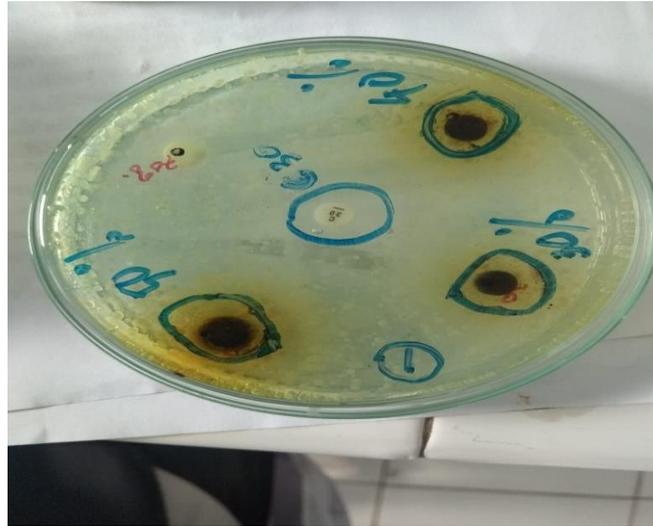
Gambar 8. Suspensi Mc. Farland



Gambar 9. Pengenceran Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 10. Media MHA



Gambar 11. Hasil Percobaan

Keterangan :

30% : Ekstrak etanol daun Afrika konsentrasi 30%

40% : Ekstrak etanol daun Afrika konsentrasi 40%

50% : Ekstrak etanol daun Afrika konsentrasi 50%

C30 : Kertas cakram berisi Kloramfenikol 30 μg sebagai control positif

70 % : Etanol 70% sebagai control negatif

LAMPIRAN

1. Media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA)

Komposisi :

a. Pepton	10,0 g
b. Lactosa	10,0 g
c. Eosin Y	0,4 g
d. K ₂ HPO ₄	2,0 g
e. Biru Metilena	0,06 g
f. Agar	15 g

2. Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Komposisi :

a. Infusion from meat	2,0 g
b. Casein Hidrolysate	17,5 g
c. Starch	1,5 g
d. Agar	13,0 g

3. Media Nutrient Agar (NA)

Komposisi :

a. Pepton From meat	5,0 g
b. Meat extract	3,0 g
c. Agar	12,0 g

4. Suspensi Mc. Farland

Komposisi :

a. Larutan asam sulfat 1%	99,5 ml
b. Larutan Barium Klorida 1,175%	0,5 ml

5. Larutan NaCl 0,9%

Komposisi :

a. Natrium Chlorida	0,9 g
b. Aquadest	ad 100 ml



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBERDAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN

Jl. Jamin Ginting KM. 13,5 Kel. Lau Cih Medan Tuntungan Kode Pos : 20136
Telepon : 061-8368633 – Fax : 061-8368644
Website : www.poltekkes-medan.ac.id , email : poltekkes_medan@yahoo.com



Nomor : DM.01.05/00/01/347/2019
Lampiran :
Perihal : *Mohon Izin Melaksanakan Penelitian*

Medan, 02 Mei 2019

Yang Terhormat,
Ibu Dra. Nasdiwaty Daud, M. Si, Apt.
Kepala Laboratorium Mikrobiologi & Parasitologi
Di
Tempat

Dengan Hormat

Dalam rangka kegiatan akademik di Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Medan, mahasiswa akan melaksanakan penelitian yang merupakan bagian kurikulum D-III Farmasi, maka dengan ini kami mohon kiranya dapat mengizinkan untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi & Parasitologi yang ibu pimpin. Adapun nama mahasiswa tersebut adalah:

NAMA MAHASISWA	PEMBIMBING	JUDUL PENELITIAN
Raisa Tanjung NIM. P07539016049	Dra. D. Elysa Putri Mambang, M. Si, Apt.	Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i> Del.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>
Nurhasanah NIM. P07539016076	Dra. D. Elysa Putri Mambang, M. Si, Apt.	Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>

Demikianlah kami sampaikan atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.



Dra. Masniah, M.Kes, Apt.
NIP. 196204281995032001

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
POLYTECHNIC HEALTH MINISTRY OF HEALTH MEDAN

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"

No.217/KEPK POLTEKKES KEMENKES MEDAN/2019

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti utama : Raisa Tanjung
Principal In Investigator

Nama Institusi : Poltekkes Kemenkes Medan Jurusan
Farmasi
Name of the Institution

Dengan judul:
Title

**"Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*) Terhadap
Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*"**

*"Antibacterial Effects of Ethanol Extracts Test Leaf Africa (*Vernonia amygdalina Del.*) To Growth
Escherichia coli"*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 03 Juni 2019 sampai dengan tanggal 03 Juni 2020.

This declaration of ethics applies during the period June 03, 2019 until June 03, 2020.

June 03, 2019
Dr. Ir. Zuraidah Nasution, M.Kes
Professor and Chairperson,
BAGAN PENGEMBANGAN DAN
PENGORGANISASIAN SUMBER DAYA
MANUSIA KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA



KARTU LAPORAN PERTEMUAN BIMBINGAN KTI

Nama Mahasiswa : RAISA TANJUNG
 NIM : P07939016049
 Pembimbing : Dra. D. Elysa Putri M. M.Si., Apt.

No.	TGL	PERTE MUA	PEMBAHASAN	PARAF MAHASISWA	PARAF PEMBIMBING
1	8/03-19	1	MELAPOR JUDUL	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
2	11/3-19	2	ACC Judul	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
3	25/3-19	3	Revisi BAB I, II, III	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
4	2/4-19	4	diskusi proposal	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
5	5/4-19	5	Acc BAB I, II dan III	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
6	3/6-19	6	Diskusi penelitian	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
7	10/6-19	7	Diskusi BAB IV	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
8	17/6-19	8	Diskusi BAB V	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
9	20/6-19	9	ACC BAB IV dan V	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
10	21/6-19	10	Diskusi sidang/semhas	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
11	2/7-19	11	ACC KTI	<i>Raisa</i>	<i>lis</i>
12					

Ketua,

Dra. Masniah, M.Kes. Apt.
NIP. 196204281995032001