

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.)**

SKRIPSI



**Oleh:
Dewi Puspa Sari
NIM 18040023**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



**Oleh:
Dewi Puspa Sari
NIM 18040023**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Jember, 05 Desember 2022

Pembimbing Utama



Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si
NIDN 0028077804

Pembimbing Anggota



Aliyah Purwanti, M.Si
NIDN 0709129002

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Pengaruh *Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)*
Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica Less.*)"
telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu
Tanggal : 11 Januari 2023
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,



Susilawati, M.Kes
NIDN 4003127401

Penguji II,



Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si
NIDN 0028077804

Penguji III,



Aliyah Purwanti, M.Si
NIDN 0709129002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



Ns. Hella Meldy Tursina, S.Kep., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dewi Puspa Sari

NIM : 18040023

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya berjudul "Pengaruh *Natural Deep Eutetic Solvents* (NADES) Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.)" ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 26 Desember 2022

Yang menyatakan,



Dewi Puspa Sari
NIM 18040023

SKRIPSI

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTETIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.)**

Oleh:

Dewi Puspa Sari

NIM 18040023

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr.apr. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin...

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan skripsi. Skripsi ini kupersembahkan kepada:

1. Kedua orang tuaku yang tercinta Bapak Kasmuri dan Ibu Misriatin. Dengan rasa bakti, tulus dan ikhlas. Terimakasih atas doa yang selalu mengiringi hari-hariku menuju kesuksesan. Terimakasih juga atas restu, dukungan dan kasih sayang yang telah diberikan kepadaku hingga saat ini.
2. Seluruh keluargaku dan saudaraku Yuli Ratna Sari beserta mas ipar yang selalu memberi dukungan semangat dan do'a yang tulus.
3. Ibu Dr.apr. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi dengan baik
4. Ibu Aliyah Purwanti, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta memberi dukungan, semangat, motivasi, nasehat dan bimbingan yang tulus kepada penyusun dalam menyelesaikan skripsi dengan baik
5. Ibu Susilawati, M.Kes sebagai penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan dalam menyelesaikan skripsi ini dengan baik
6. Seluruh dosen Farmasi Universitas dr Soebandi yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasan sebagai pedoman dan bagi penyusun guna menyelesaikan skripsi.
7. Kepada teman-teman farmasi yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan kontribusi dan motivasi selama penyusunan skripsi.
8. Teman-teman Amina, Ican, Bella, Beta, Amil, yang selalu memberikan semangat dan dukungan.

MOTTO

“Hidup yang tidak pernah dipertaruhkan,
tidak akan pernah dimenangkan”

(Sutan Syahrir)

“Allah tidak membebani seseorang,
melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Al Baqarah: 286)

“Karena sesungguhnya, bersama kesulitan itu akan ada kemudahan”

(QS. Al Insyirah: 5)

ABSTRAK

Puspa Sari, Dewi* Ulfa, Evi Umayah**, Purwanti, Aliyah***, 2022. **Pengaruh *Natural Deep Eutetic Solvents* (NADES) Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* Less.)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Latar Belakang: Daun beluntas merupakan tanaman pagar yang pemanfaatannya masih terbatas sebagai pelengkap makanan. Daun beluntas mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol berperan sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. NADES adalah salah satu *green solvent* yang dipilih sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi dan memiliki keuntungan yaitu ramah lingkungan, murah, dan termasuk golongan *foodgrade* sehingga aman apabila dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak NADES daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Metode ekstraksi yang digunakan adalah UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*). Pelarut menggunakan NADES (kolin klorida-glisierol 1:1). Uji skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol. Uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan replikasi sebanyak 5 kali. Konsentrasi ekstrak NADES daun beluntas yaitu 50%, 75%, dan 100%. Analisa data menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan uji lanjutan *Duncan*.

Hasil penelitian: Hasil skrining fitokimia ekstrak NADES daun beluntas menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol. Hasil uji antibakteri ekstrak NADES daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dihasilkan rata-rata zona hambat pada konsentrasi 50% yaitu sebesar 11.42 mm \pm 2.18, konsentrasi 75% yaitu sebesar 13.67 mm \pm 1.88, sedangkan konsentrasi 100% sebesar 15.32 mm \pm 2.64. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun beluntas, semakin besar aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

Kesimpulan: Ekstrak NADES daun beluntas mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Kata kunci: Daun beluntas, UAE, *Staphylococcus aureus*

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Puspa Sari, Dewi* Umayah Ulfa, Evi**, Purwanti, Aliyah***, 2022. **Effect of Natural Deep Eutetic Solvents (NADES) on Antibacterial Activity of Beluntas Leaf Extract (*Pluchea indica* Less.)**. Essay, Pharmacy Undergraduate Study Program, Universitas of dr. Soebandi.

Introduction: Beluntas leaves are a hedge plant whose utilization is still limited as a food ingredient. Beluntas leaves contain alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and phenols that act as antibacterial against the growth of *Staphylococcus aureus*. NADES is one of the green solvents chosen as an alternative solvent in extraction and has the advantages of being environmentally friendly, cheap, and food grade so it is safe for consumption. This study aims to determine the content of chemical compounds and antibacterial activity of NADES extract of beluntas leaves (*Pluchea indica* L.) against *Staphylococcus aureus* bacteria.

Methods: The research design used was laboratory experimental. The extraction method used was UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*). The solvent used NADES (choline chloride-glycerol 1:1). Phytochemical screening tests included alkaloid, flavonoid, saponin, tannin and phenol tests. Antibacterial test using the well diffusion method with replication 5 times. The concentration of beluntas leaf NADES extract is 50%, 75%, and 100%. Data analysis used *Kruskal-Wallis* statistical test and *Duncan's* further test.

Result: Phytochemical screening result of NADES beluntas leaf extract showed the presence of alkaloid, flavonoid, saponin, tannin and phenol compounds. The results of the antibacterial test of NADES extract of beluntas leaves against *Staphylococcus aureus* bacteria produced an average inhibition zone at a concentration of 50% which was $11.42 \text{ mm} \pm 2.18$, a concentration of 75% which was $13.67 \text{ mm} \pm 1.88$, while a concentration of 100% was $15.32 \text{ mm} \pm 2.64$. The greater the concentration of beluntas leaf extract, the greater the antibacterial activity produced.

Conclusion: NADES extract of beluntas leaves contains alkaloid, flavonoid, saponin, tannin and phenol compounds and can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: Beluntas leaves, UAE, *Staphylococcus aureus*

*Researcher

**Advisor 1

***Advisor

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang berjudul “Pengaruh *Natural Deep Eutetic Solvents* (NADES) Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* Less.)”

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik berkat bimbingan dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penyusun ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., M.M selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kes selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
4. Ibu Dr.apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Ibu Aliyah Purwanti, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. Ibu Susilawati, M.Kes selaku Ketua penguji

Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak sekali kekurangan serta jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu, saya mengharapkan kritik dan saran untuk kemudian hari dapat saya revisi. Akhir kata, semoga penulisan ini bermanfaat pembaca dan dapat memberikan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang ilmu farmasi.

Jember, 11 Januari 2023

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	v
SKRIPSI	vi
PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Bagi Peneliti	6
1.4.2 Bagi Masyarakat	6
1.4.3 Bagi Institusi Pendidikan	6
1.5 Keaslian Penelitian	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>)	8

2.1.1	Klasifikasi Daun Beluntas	8
2.1.2	Morfologi Daun Beluntas	9
2.1.3	Kandungan Senyawa Kimia	9
2.1.4	Manfaat Daun Beluntas	11
2.2	Ekstraksi	12
2.3	Pelarut	14
2.3.1	<i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> (NADES)	15
2.3.2	<i>Choline Chloride</i>	16
2.3.3	Gliserol	17
2.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.4.1	Morfologi	18
2.4.2	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.4.3	Infeksi terkait dengan <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.5	Antibakteri	20
2.5.1	Definisi	20
2.5.2	Sifat Antibakteri	20
2.5.3	Mekanisme Kerja Antibakteri	21
2.5.4	Metode Uji Antibakteri	22
BAB 3. KERANGKA KONSEP		26
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	26
3.2	Hipotesis Penelitian	27
BAB 4. METODE PENELITIAN		28
4.1	Desain Penelitian	28
4.2	Populasi dan Sampel	28
4.2.1	Populasi	28
4.2.2	Sampel	28
4.3	Waktu Penelitian	29
4.4	Tempat Penelitian	29
4.5	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	29
4.5.1	Variabel Bebas	29
4.5.2	Variabel Terikat	29

4.6	Pengumpulan data.....	31
4.6.1	Determinasi Tanaman.....	31
4.6.2	Pembuatan Sebuk Simplisia.....	31
4.6.3	Pembuatan Pelarut NADES.....	32
4.6.4	Ekstraksi NADES Daun Beluntas dengan Metode UAE.....	32
4.6.5	Skrining Fitokimia.....	32
4.6.6	Persiapan Media.....	34
4.6.8	Pembuatan Suspensi Bakteri.....	35
4.6.9	Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.....	35
4.6.10	Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran.....	36
4.7	Teknik Analisis Data	36
4.7.1	Pengolahan Data.....	36
4.7.2	Analisis Data.....	37
BAB 5.	HASIL PENELITIAN.....	38
5.1	Identifikasi Tanaman	38
5.2	Ekstraksi Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.).....	38
5.3	Uji Skrining Fitokimia Daun Beluntas	38
5.4	Uji Antibakteri.....	40
5.5	Analisis Data.....	41
BAB 6.	PEMBAHASAN.....	44
6.1	Uji Skirining Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas.....	44
6.2	Uji Antibakteri.....	46
BAB 7.	PENUTUP	54
7.1	Kesimpulan.....	54
7.2	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA.....		55
DAFTAR LAMPIRAN.....		64

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 2. 1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri	21
Tabel 4. 1 Definisi Operasional	30
Tabel 4. 2 Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia	30
Tabel 5. 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun beluntas.....	39
Tabel 5. 2 Hasil pengujian Ekstrak Daun Beluntas Terhadap	41
Tabel 5. 3 Hasil Uji Normalitas	41
Tabel 5. 4 Hasil Uji Homogenitas	42
Tabel 5. 5 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i>	42
Tabel 5. 6 Hasil Uji Duncan	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	8
Gambar 2. 2 Daun Beluntas (<i>Pluchea indica</i> L.)	9
Gambar 2. 3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> perbesaran 1000x	10
Gambar 2. 4 Metode Cakram	23
Gambar 2. 5 Metode Sumuran	24
Gambar 3. 1 Kerangka Konsep	26
Gambar 5. 1 Hasil Uji Antibakteri	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi	64
Lampiran 2 Hasil <i>Mc Farland</i>	65
Lampiran 3 Hasil Uji Stastik	66
Lampiran 4 Dokumentasi	72
Lampiran 5 Perhitungan	76

DAFTAR SINGKATAN

UAE	: <i>Ultrasonic Assistend Extraction</i>
NADES	: <i>Natural Deep Uutetic Solvent</i>
FeCl ₃	: Besi (III) Klorida
BaCl ₂	: Barium klorida
H ₂ SO ₄	: Asam Sulfat
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki beragam jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena memiliki manfaat yang besar bagi manusia (Putri *et al*, 2020). Penggalan potensi bahan aktif senyawa metabolit sekunder sebagai alternatif dari tumbuhan sebagai bahan antibakteri merupakan hal yang menarik dan penting untuk dijadikan untuk diteliti. Selain kemudahan untuk mendapatkan tanaman obat, obat herbal yang berasal dari tumbuh-tumbuhan memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat-obat kimia (Pargaputri *et al*, 2019).

Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki potensi untuk pengobatan yaitu beluntas (*Pluchea indica* L.). Menurut Donowarti *et al* (2020), beluntas merupakan tanaman yang mudah tumbuh di Indonesia dan beluntas selama ini masih dikenal hanya untuk sebatas tanaman pagar dan dimanfaatkan sebagai pelengkap makanan pada sebagian kecil masyarakat dengan pengolahan yang sederhana. Beluntas mempunyai beberapa khasiat yang sangat bermanfaat bagi tubuh, antara lain yaitu untuk menghilangkan bau badan, sebagai penurun demam (antipiretik), sebagai peningkat nafsu makan (stomakik), nyeri, obat batuk serta obat diare dan beluntas juga memiliki khasiat sebagai antibakteri (Iliyana *et al*, 2021).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri. Daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) berpotensi sebagai antibakteri karena mengandung senyawa kimia yang dapat menghambat

perkembangan bakteri di dalam tubuh (Hudha *et al*, 2015). Menurut penelitian yang dilakukan Agustin *et al* (2018) ekstrak etanolik daun beluntas (*Pluchea indica Less.*) dan meniran (*Phyllanthus niruri L.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Iliyana *et al* (2021) ekstrak daun beluntas memiliki efektivitas sebagai antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak bunga beluntas. Pada konsentrasi yang sama yaitu 9%, ekstrak daun beluntas memiliki daya hambat sebesar 8,6 mm sedangkan ekstrak bunga beluntas memiliki daya hambat sebesar 7,8 mm. Senyawa bioaktif yang terdapat pada daun beluntas antara lain alkaloid, flavonoid, tannin, magnesium, fosfor, asam kolinergik, dan minyak atsiri (Wiendarlina *et al*, 2019).

Staphylococcus aureus adalah bakteri flora normal pada manusia yang berbentuk kokus. Habitat *Staphylococcus aureus* biasanya ada pada rongga hidung dan kulit. Selain di lokasi tersebut, *Staphylococcus aureus* juga dapat ditemukan di tenggorokan, usus, vagina, lipatan kulit (ketiak) dan perineum. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat berkembang menjadi infeksi sistemik yang parah. *Staphylococcus aureus* dapat berpindah tempat mulai dari rongga hidung dan menyebar ke kulit maupun bagian tubuh lainnya. Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit pada individu sehat jarang menyebabkan penyakit. Infeksi serius dari *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika sistem imun melemah yang disebabkan oleh perubahan hormon, penyakit, luka, penggunaan pada steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas (Afifurrahman *et al*, 2014).

Terapi obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu antibiotik. Antibiotik merupakan obat golongan antimikroba yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri (Ivoryanto, 2017). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan beberapa akibat yaitu terjadinya resistensi kuman atau bakteri (Pratomo and Dewi, 2018) sehingga khasiat antibiotik akan berkurang atau tidak berkhasiat sama sekali terhadap bakteri tersebut. Namun yang menjadi pokok permasalahan bagi para peminat obat-obatan tradisional yaitu kurangnya pengetahuan dan informasi yang cukup mengenai berbagai jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai ramuan obat tradisional, untuk pengobatan penyakit apa saja, dan cara penggunaan obat-obatan tradisional. Hasil uji keamanan dari tanaman obat herbal terbukti dapat digunakan jangka panjang dan efek sampingnya lebih sedikit (Romas *et al*, 2015).

Tanaman obat yang memiliki aktivitas farmakologi berasal dari berbagai kandungan kimia yang ada didalamnya, kandungan kimia tersebut harus diambil dengan menggunakan sistem ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai. Komponen bioaktif yang ada pada suatu bahan dapat diperoleh dengan metode ekstraksi (Sekarsari *et al*, 2019). Penggunaan pelarut organik dalam proses ekstraksi mempunyai kelemahan, seperti toksisitas tinggi, biodegradabilitas yang buruk, mudah terbakar dan biaya tinggi (Nurhasanah and Saktia, 2017). Ada beberapa yang mempengaruhi proses ekstraksi selain pelarut yaitu metode ekstraksi. Metode ekstraksi konvensional yang sering digunakan yaitu maserasi dan refluks. Menurut Utami *et al* (2020) metode ekstraksi modern

diantaranya yaitu ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE).

Pada saat ini, banyak penelitian yang mencoba mengembangkan penggunaan pelarut yang ramah lingkungan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi. NADES adalah salah satu *green solvent* (pelarut hijau) yang dipilih sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi senyawa bioaktif. NADES memiliki keuntungan yaitu ramah lingkungan, murah, dan termasuk golongan *foodgrade* sehingga aman apabila dikonsumsi (Astati *et al*, 2019). Dari segi lingkungan dan ekonomi, NADES juga memberikan keuntungan besar mengenai degradabilitas, biaya rendah dan persiapan yang sederhana. Dari semua sifat tersebut menunjukkan bahwa NADES sebagai pelarut ekstraksi untuk produk alami dan potensial dibidang kesehatan seperti kosmetik, makanan, dan kefarmasian (Dai *et al*, 2016).

Pelarut NADES terbuat dari senyawa-senyawa metabolit primer yang alami dan aman seperti asam amino, monosakarida, polisakarida, disakarida, asam laktat, asam amino, kolin klorida, gliserol yang dapat digunakan sebagai *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) dengan perbandingan mol rasio tertentu. NADES memiliki beberapa gugus fungsi yaitu gugus amino, gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan hidrogen antarmolekul sehingga dapat meningkatkan kelarutan senyawa terutama senyawa fenolik dalam pelarut NADES. Menurut Grozdanova (2020) tanaman *ironwort* (*Sideritis scardica*) dan daun sendok (*Plantago major*) yang diekstraksi menggunakan NADES klorida-gliserol menunjukkan aktivitas

antibakteri dengan nilai Minimum Inhibition Concentration/MIC (9,8 dan 1,99 µg/ml).

Berdasarkan latar belakang dan beberapa penelitian ekstrak daun beluntas, sejauh ini banyak penelitian ekstrak daun beluntas menggunakan pelarut etanol dengan metode panas atau dingin sedangkan penggunaan NADES sebagai alternatif dengan metode ekstraksi non konvensional yaitu UAE untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari daun beluntas (*Pluchea indica Less*) masih belum pernah dilakukan, oleh karena itu peneliti tertarik melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas menggunakan NADES dengan metode UAE terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica Less*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Apa saja kandungan senyawa kimia ekstrak NADES Kolin Klorida : Gliserol (1:1) daun beluntas (*Pluchea indica Less*) ?
- 2) Apakah ekstrak NADES Kolin Klorida : Gliserol (1:1) daun beluntas (*Pluchea indica Less*) mampu menghambat pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian yaitu diharapkan dapat mengetahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic*

Solvents) daun beluntas (*Pluchea indica Less*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini yaitu:

- 1) Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak NADES Kolin Klorida : Gliserol (1:1) daun beluntas (*Pluchea indica Less*)
- 2) Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak NADES Kolin Klorida : Gliserol (1:1) daun beluntas (*Pluchea indica Less*) terhadap *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Dapat menambah ilmu pengetahuan, wawasan, dan pengalaman tentang ekstrak NADES daun beluntas dengan metode UAE untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi baru kepada pembaca tentang manfaat ekstrak daun beluntas serta kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak NADES daun beluntas.

1.4.3 Bagi Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk mahasiswa tingkat akhir yang akan melaksanakan penelitian lebih lanjut

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

Nama Penulis	Tahun terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Hida Ilyana, Dwi Bagus pambudi, Urmatul Waznah, St. Rahmatullah	2021	Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga dan Daun Beluntas (<i>Pluchea indica less.</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas dengan metode maserasi lebih baik dibandingkan menggunakan ekstrak etanol bunga beluntas. Diameter hambat ekstrak daun beluntas 9% sebesar 8,6 mm sedangkan ekstrak bunga beluntas sebesar 7,8 mm.
Bella Agil Agustin, Nony Puspawaty, Rizal Maarif Rukmana	2018	Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (<i>Pluchaea indica Less.</i>) dan Meniran (<i>Phyllanthus niruri L.</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak etanolik daun beluntas dan meniran mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , kombinasi ekstrak beluntas dan meniran tidak memiliki efek sinergis terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .
Prayoga Fery Y, Mujtahid Bin Abd Kadir	2016	Uji Aktivitas Antibakteri Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>) menggunakan Bakteri <i>Bacillus sp</i> dengan Metode sumuran	Ekstrak daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan <i>Bacillus sp</i> dengan menggunakan metode sumuran. Daya hambat pada konsentrasi 100% termasuk kategori yang sangat kuat, pada konsentrasi 80% dan 60% termasuk kategori kuat, sedangkan pada konsentrasi 40% tidak memiliki daya hambat karena tidak adanya zona bening disekitar.
Ahmad Azmi Khoirul umam, Puguh Surjowardoyo, dan Tri Eko Susilorini	2015	Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>) dengan Pelarut Akuades Terhadap Bakteri <i>Strepcoccus agactiae</i> dan <i>Salmonella</i> penyebab Mastitis pada Sapi Perah	Ekstrak air daun beluntas mampu menghambat pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Salmonella</i> . Ekstrak daun beluntas konsentrasi 80% lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan daya hambat iodips 10%.
Ratna Radjani Sakti Manu	2013	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Pseudomonas aureginosa</i>	Ekstrak etanol daun beluntas kadar 12-60% mampu menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Pseudomonas aureginosa</i> dengan diameter hambat secara berturut-turut antara 1,203-1,593 cm; 1,051-1,430 cm dan 1,143-1,525 cm

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Tanaman beluntas atau tanaman perdu merupakan tumbuhan semak yang bercabang banyak, berusuk halus, dan berbulu lembut, tingginya bisa mencapai 3 meter apabila tidak dipangkas, sehingga sering kali disebut sebagai tanaman pagar atau pekarangan (Pelu, 2017).



Gambar 2. 1 Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L.)
(Koleksi Pribadi, 2022)

2.1.1 Klasifikasi Daun Beluntas

Menurut (Dalimartha, 1999) klasifikasi daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae

Famili : Astraceae
Genus : Pluchea
Spesies : *Pluchea indica* Less.

2.1.2 Morfologi Daun Beluntas

Daun beluntas bertangkai pendek, tulang daunnya menyirip, berdaun tunggal, letaknya berselang-seling, berbentuk bulat telur sungsang, ujung bundar melancip. Tepi daun beluntas bergerigi, panjang 2,5 - 9 cm, lebar 1 – 1,5 cm, berwarna hijau terang, bunga keluar di ujung cabang dan ketiak daun, berbentuk bunga bonggol dan berwarna ungu. Buahnya longkang agak berbentuk gasing, berwarna coklat dengan bersudut putih (Pelu, 2017).



Gambar 2. 2 Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)
(Koleksi Pribadi, 2022)

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Daun beluntas mengandung flavonoid, fenol, tannin, alkaloid, saponin dan minyak atsiri, bagian akar dari beluntas mengandung flavonoid dan tannin (Dalimartha, 1999). Hasil uji skrining fitokimia pada penelitian Nafisah (2017) mengatakan bahwa daun beluntas mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain fenolik, saponin, alkaloid, dan flavonoid.

1) Fenolik

Senyawa fenolik ialah senyawa yang mempunyai satu atau lebih gugus hidroksil pada cincin aromatiknya. Senyawa fenol merupakan metabolit sekunder yang paling banyak didistribusikan dalam tumbuhan dan secara universal terdapat dalam kingdom tumbuhan. Senyawa fenol sangat cenderung mudah larut dalam air karena sering berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Nollet *and* Gutierrez, 2018).

2) Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul yang tinggi dihasilkan oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Istilah saponin diturunkan dari bahasa Latin “sapo” yang berarti sabun, diambil dari kata *Saponariavaccaria*, suatu tanaman yang mengandung saponin dapat digunakan sebagai sabun untuk mencuci. Saponin juga berfungsi sebagai zat antioksidan, anti-inflamasi, anti-bakteri, dan anti-jamur sehingga bisa digunakan untuk proses penyembuhan luka (Novitasari *and* Putri, 2016).

3) Alkaloid

Alkaloid ialah salah satu metabolit sekunder yang banyak ditemukan di alam dan memiliki aktivitas fisiologis yaitu mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan kematian pada sel tersebut (Regina *et al*, 2020).

4) Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Nisa FK *et al*, 2015)

Flavonoid yang ditemukan pada tanaman yaitu berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, orange, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun (Hui Cao *et al*, 2015).

5) Tanin

Tanin adalah senyawa fenol yang memiliki berat molekul yang besar dan terdiri dari gugus hidroksi, beberapa gugus yang bersangkutan yaitu karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan makromolekul. Fungsi tanin pada tanaman yaitu untuk melindungi tanaman dari gangguan hewan lain. Tanin menyebabkan beberapa tumbuhan dan buah-buahan memiliki rasa yang sepat pahit (Hidjrawan, 2018)

2.1.4 Manfaat Daun Beluntas

Adapun beberapa manfaat pada daun beluntas yaitu untuk menghilangkan bau badan dan mulut, meningkatkan nafsu makan, melancarkan pencernaan, mengatasi nyeri pada rematik, nyeri tulang dan sakit pinggang, mengatasi keputihan dan menstruasi yang tidak teratur, menurunkan demam, mengeluarkan keringat (Sibarani *et al*, 2013).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan senyawa atau komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip dari metode ekstraksi berdasarkan perbedaan koefisien zat terlarut dalam dua larutan yang berbeda dan tidak saling bercampur. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi komponen bioaktif yaitu metode dan jenis pelarut yang digunakan (Sukeksi *et al*, 2017). Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat pada jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk proses ekstraksi tersebut (Sudjadi, 1988). Menurut Ditjen POM (2000) terdapat beberapa jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan yaitu sebagai berikut:

1) Cara Dingin

(1) Maserasi

Menurut Leba (2017) menyatakan bahwa maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi yang paling sederhana, karena proses ekstraksi dilakukan dengan cara perendaman sampel pada temperatur kamar. Kelebihan pada ekstraksi maserasi adalah alat dan cara yang digunakan sangat sederhana, adapun juga kelemahannya yaitu menggunakan banyak pelarut.

(2) Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), sampai

memperoleh hasil ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Ditjen POM, 2000).

2) Cara Panas

(1) Sokletasi

Ekstraksi sokletasi adalah suatu metode pemisahan zat dari campurannya dengan pemanasan dan pelarut yang digunakan mengalami sirkulasi, ekstraksi sokletasi memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi daripada ekstraksi maserasi (Sri Irianty *and* Yenti, 2014). Metode ekstraksi sokletasi memiliki banyak kelebihan salah satunya yaitu penggunaan waktu yang digunakan lebih cepat dan sampel yang dihasilkan sempurna dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya (Rizky *et al*, 2015).

(2) Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut yang mempunyai temperatur pada titik didihnya, selama waktu tertentu jumlah pelarut terbatas yang relative konstan karena dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan dengan cara pengulangan proses residu pertama samai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Ditjen POM, 2000).

(3) Infus

Infus adalah metode ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dengan penangas air yang mendidih, dengan suhu 96-98°C dengan waktu kurang lebih 15-20 menit) (Ditjen POM, 2000).

(4) Ekstraksi Non-Konvensional

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) juga disebut ekstraksi ultrasonik atau sonikasi yang menggunakan energi gelombang ultrasonik dalam ekstraksi. Ultrasonografi dalam pelarut yang menghasilkan kavitasasi mempercepat pelarutan dan difusi zat terlarut serta perpindahan panas, yang meningkatkan efisiensi ekstraksi. Keuntungan lain dari UAE termasuk konsumsi pelarut dan energi yang rendah, serta pengurangan suhu dan waktu ekstraksi. UAE berlaku untuk ekstraksi senyawa termolabil dan tidak stabil. UAE biasanya digunakan dalam ekstraksi berbagai jenis produk alami (Zhang *et al*, 2018).

2.3 Pelarut

Pelarut pada umumnya adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat yang lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi haruslah merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel atau simplisia, sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang ada dalam simplisia tersebut (Marjoni, 2016). Pelarut ada yang bersifat non polar, polar, dan ada juga yang semi polar dimana kepolarannya di bawah pelarut polar dan di atas non polar. Senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar (air, metanol, etanol, butanol, asam asetat), senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang bersifat non polar (n-heksan, kloroform, eter, benzen, *toluene*). Pelarut semi polar (aseton, etil asetat, kloroform) (Kasminah, 2016).

2.3.1 *Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)*

Deep Eutectic Solvents (DES) merupakan pelarut baru seperti *Ionic liquids* (ILs), dengan karakteristik campuran dua senyawa yang membuat campuran eutektik sehingga dapat digunakan ketika dua komponen pembentuknya dicampur bersama dalam rasio yang tepat, maka titik eutektik akan terjadi. Pelarut DES termasuk ILs dengan mencampurkan garam amonium kuartener dengan kolin klorida dan gliserol tersubstitusi dan donor ikatan hidrogen, keduanya memiliki titik leleh yang tinggi, untuk membentuk campuran eutektik dengan titik peleburan yang jauh lebih rendah (Leron *et al*, 2012). DES yang paling umum didasarkan pada kolin klorida (ChCl), asam karboksilat, dan donor ikatan hidrogen lainnya, seperti urea, asam sitrat, asam suksinat, dan gliserol (Craveiro *et al*, 2016).

Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) merupakan pelarut alternatif yang ramah lingkungan. Potensi penggunaan pelarut NADES dapat diaplikasikan dalam proses ekstraksi (misalnya perasa makanan, pewangi, pewarna, obat-obatan, kosmetik, dan bahan kimia pertanian), kimia organik sintesis, dan reaksi enzimatis. NADES menyajikan sifat yang baik untuk digunakan sebagai pelarut ekstraksi alternatif, seperti cair pada suhu kamar (dan terkadang bahkan di bawah 0°C), memiliki viskositas yang dapat diatur dengan mudah, dan berkelanjutan serta aman (Choi *et al*, 2011; Paiva *et al*, 2014).

NADES dapat dikelompokkan berdasarkan senyawa-senyawa penyusunnya sebagai berikut (Dai *et al*, 2013):

- 1) Cairan ionik, terdiri dari asam-asam organik (asam sitrat, asam maleat, asam laktat) dan senyawa-senyawa basa (*choline chloride*, *betaine chloride*, dan *betaine*).
- 2) NADES netral, tidak terdapat konstituen ionik, seperti campuran *polyalcohols* (gliserol, glisin, 1-2-propandiol).
- 3) NADES yang bersifat asam, terdiri dari senyawa-senyawa netral (glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa, trehalose) dan senyawa-senyawa asam.
- 4) NADES yang bersifat basa, yang terdiri dari senyawa-senyawa netral dan senyawa-senyawa basa.
- 5) NADES yang bersifat amfoter, kombinasi dari asam amino (*α -Proline*, *β -Alanine*) dan gula, *polyalcohol*, atau senyawa-senyawa asam.

2.3.2 *Choline Chloride*

Salah satu komponen yang paling banyak digunakan untuk pembentukan DES ini adalah *choline chloride* (ChCl). ChCl sangat murah, biodegradable dan tidak beracun. Suatu garam amonium kuaterner yang dapat diekstrak dari biomassa atau disintesis dari cadangan fosil. Saat ini aman dikombinasikan dengan komponen sebagai donor ikatan hidrogen seperti urea, asam karboksilat terbarukan (misalnya oksalat, sitrat, suksinat atau amino asam) atau poliol terbarukan (misalnya gliserol, karbohidrat), ChCl mampu dengan cepat membentuk DES. Meskipun sebagian besar dari DES adalah terbuat dari ChCl sebagai spesies ionik, DES tidak dapat dianggap sebagai ILS karena DES tidak

seluruhnya terdiri dari spesies ion dan juga dapat diperoleh dari spesies non-ionik. Dibandingkan dengan ILS tradisional, DES yang berasal dari CHCl_3 memiliki banyak keuntungan antara lain yaitu :

- 1) Harga rendah
- 2) *Inert* secara kimia dengan air (memudahkan saat *storage*).
- 3) Mudah saat preparasi karena DES diperoleh hanya dengan mencampur dua komponen, sehingga tidak memerlukan masalah pemurnian dan pembuangan limbah yang umumnya ditemui dengan ILS.
- 4) Kebanyakan dari DES adalah biodegradabel, biokompatibel dan tidak beracun. (Zhang *et al*, 2012).

2.3.3 Gliserol

Gliserol mempunyai nama lain yaitu sebagai propana-1,2,3-triol dalam industri farmasi biasa digunakan sebagai bahan baku pada pembuatan obat-obatan, krim untuk kulit, bahan pada pembuatan sabun dan sampo serta pelarut. Gliserol yang digunakan yaitu gliserol murni dan biasanya diperoleh dari industri farmasi di luar negeri. Kondisi ini tidak akan berakibat baik jika hanya mengandalkan produk impor karena diperkirakan setiap tahun kebutuhan gliserol ini akan terus meningkat. Maka berbagai penelitian telah dilakukan untuk memanfaatkan gliserol ini dengan cara mengubahnya menjadi senyawa lain yang mempunyai nilai ekonomis lebih tinggi (Ritmaleni, 2014).

2.4 *Staphylococcus aureus*

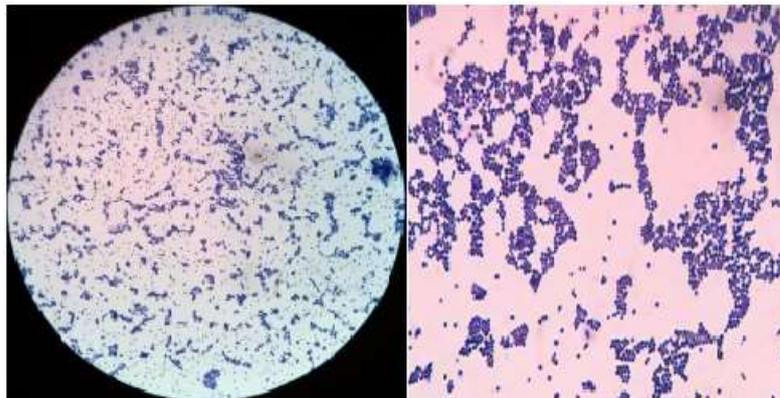
2.4.1 Morfologi

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat mengakibatkan infeksi pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pada imun tubuh. Saat bakteri masuk ke peredaran darah bakteri dapat menyebar ke organ lain dan menyebabkan infeksi. Hampir setiap orang akan mengalami berapa tipe infeksi dari *Staphylococcus aureus*, infeksi tersebut bervariasi dimulai dari keracunan, infeksi kulit ringan seperti jerawat dan bisul, sampai infeksi berat seperti meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis (Bota *et al.*, 2015)

2.4.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Menurut Madona (2013) di dalam penelitian (Lasro,2018) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Sub divisi	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2. 3 Bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 1000x
(Sumber : Malekak *et al.*, 2015)

Staphylococcus aureus adalah sel gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,8-1,0 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz *et al.*, 1995; Warsa, 1994).

2.4.3 Infeksi terkait dengan *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit, namun menyebabkan penyakit infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. *Staphylococcus aureus* adalah patogen oportunistik manusia yang menyebabkan berbagai macam infeksi klinis. Ini adalah penyebab utama bakteremia dan infeksi endokarditis serta *osteoarticular*, infeksi kulit dan jaringan lunak, *pleuropulmonary*, dan infeksi lainnya (Tong *et al.*, 2015).

Pertumbuhan bakteri dapat dicegah dengan memberikan antibiotik. Antibiotik bekerja dengan cara merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun

dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif, misalnya penisilin. Apabila *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin dapat diberikan vankomisin atau synercid yang bekerja pada ribosom bakteri dengan merusak pada sintesis protein, namun antibiotik ini mahal dan efek sampingnya cukup besar (Pratiwi, 2008).

2.5 Antibakteri

2.5.1 Definisi

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan mikroorganisme ini bertujuan untuk mencegah penyakit infeksi (Naibaho, 2018). Suatu antibakteri dapat digunakan apabila dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri secara patogen tanpa merusak tubuh (Allo, 2016). Uji aktivitas mikroba dapat dilakukan dengan menggunakan 3 metode, yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Selain itu, metode dilusi dapat digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Jawet *et al*, 2007).

2.5.2 Sifat Antibakteri

1) Bakteriostatik

Zat atau bahan yang mampu menghambat dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam Keadaan ini tidak dapat berkembangbiak dan memproduksi.

2) Bakteriosida

Zat atau bahan yang mampu membunuh mikroorganisma (bakteri). Dalam hal ini dapat terjadi penurunan bahkan penipisan jumlah mikroorganisme (bakteri) akan tidak dapat berkembangbiak lagi.

Adapun klasifikasi pengukuran rata-rata zona hambat diinterpretasi menurut Davis dan Stout dalam Andayani *et al*, (2016) sebagai berikut:

Tabel 2. 1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri

Daya Hambat Antibakteri	Kategori Daya Hambat Antibakteri
≥ 20	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
≤ 5	Lemah

2.5.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

1) Mengganggu metabolisme sel mikroba

Bakteri pada umumnya membutuhkan asam amino benzoicacid (PABA) agar dapat mensintesis purin dan pirimidin (prekursor DNA dan RNA), tanpa asam folat sel tidak dapat tumbuh atau membelah. Antibakteri bekerja menekan pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri (Firma, 2021)

2) Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri merupakan factor penting dalam mempertahankan struktur sel. Oleh karena itu, antibakteri dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel dengan cara melisikan dinding sel (Rufah, 2020).

3) Menghambat sintesis protein sel bakteri

Kelangsungan hidup sel bakteri tergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Kondisi ini dapat menyebabkan denaturasi protein dan asam nukleat, tetapi juga dapat merusak sel tanpa memperbaikinya. Karena konsentrasi tinggi dan suhu tinggi dari beberapa bahan kimia, komponen seluler yang penting dapat terdenaturasi secara *irreversible* (Firma, 2021)

4) Menghambat biosintesis asam nukleat

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri (Rajdi, 2011)

5) Menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel

Permeabilitas dinding sel dan membrane sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis (Rachmawati *et al*, 2011).

2.5.4 Metode Uji Antibakteri

1) Metode Difusi

Metode ini adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram keras filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram

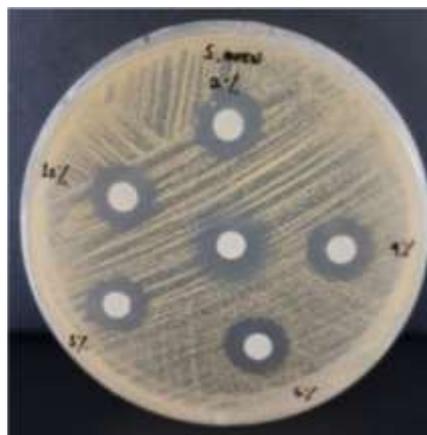
diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu. Metode difusi dipengaruhi banyak faktor fisik dan kimia selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misalnya, sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekuler, dan stabilitas obat). Metode difusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu (Nuraina, 2015) :

(1) Metode Silinder Gelas

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat diatas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri diatas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling silinder.

(2) Metode kertas cakram (*disc diffusion*)

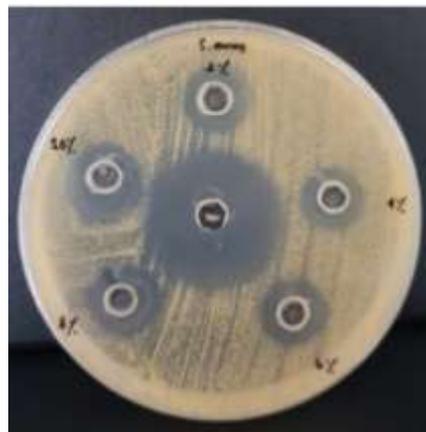
Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Pratiwi, 2008).



Gambar 2.4 Metode Cakram
(Nurhayati *et al*, 2020)

(3) Metode cetak lubang (metode sumuran)

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang.



Gambar 2.5 Metode Sumuran
(Nurhayati *et al.*, 2020)

2) Metode Dilusi

Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba (dengan berbagai konsentrasi) pada media yang telah ditambahkan dengan mikroba uji. Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Larutan uji agen antimikroba pada konsentrasi terkecil yaitu yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan pada bakteri uji mikroba ditetapkan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhir metode dilusi

adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji.

Larutan KHM ditetapkan sebagai kultur yang dapat diulang pada media padat tanpa penambahan uji mikroba ataupun agen antimikroba dan metode ini diinkubasi kurang lebih selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat bening pada konsentrasi terkecilnya yaitu setelah diinkubasi akan ditetapkan sebagai KBM (Laoli, 2018). Menurut Pratiwi (2008) metode ini terdiri dari dua cara yaitu:

(1) Pengenceran serial dalam tabung

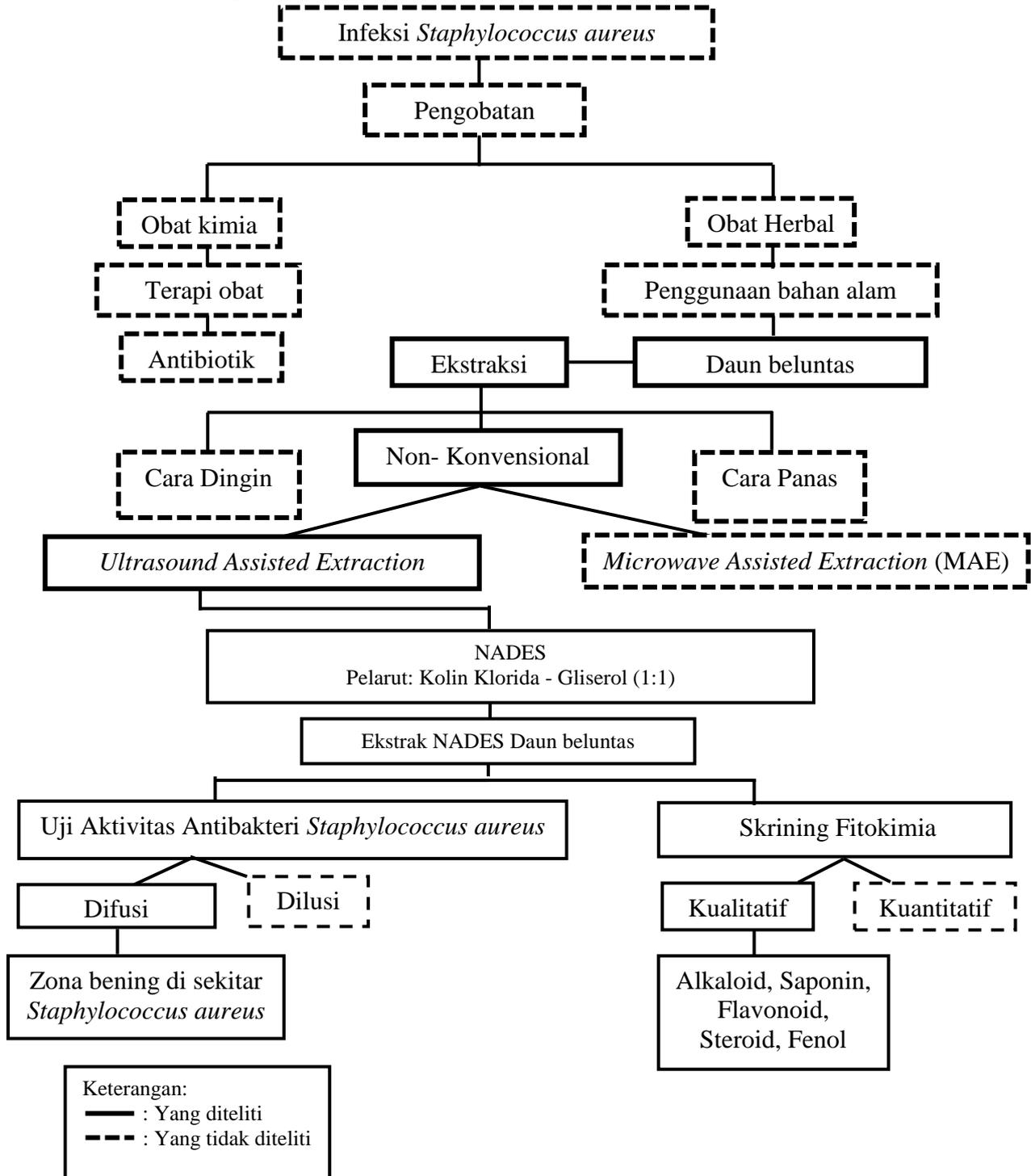
Pengujian dilakukan dengan cara menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan bakteri uji dan zat antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Pengamatan pada metode ini dilakukan dengan aktivitas zat yang akan ditentukan sebagai kadar hambat minimum (KHM).

(2) Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri yang diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah membeku diinokulasi dengan bakteri uji dan pada suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji.

BAB 3. KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3. 1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis merupakan jawaban yang sifatnya sementara terhadap rumusan masalah penelitian, yang mana rumusan masalah tersebut sudah dinyatakan dalam bentuk pertanyaan (Sugiyono, 2021)

H_0 : Tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) daun beluntas yang diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

H_a : Ada aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) daun beluntas yang diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Simplisia daun beluntas diekstraksi menggunakan pelarut NADES dengan metode UAE. Ekstrak NADES daun beluntas diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran terhadap *Staphylococcus aureus*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah suatu kelompok subjek yang akan di jadikan objek penelitian. Pengertian populasi menurut Sugiyono (2018) adalah wilayah generalisasi yang terdiri dari objek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh penelitian untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulan. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diambil di Desa Tambaksari, Kecamatan Pajajaran, Kabupaten Probolinggo.

4.2.2 Sampel

Menurut Sugiyono (2018) sampel adalah “Sebagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi”. Meskipun sampel hanya merupakan bagian dari populasi, kenyataan-kenyataan yang akan diperoleh dari sampel itu harus menggambarkan dalam populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak NADES daun beluntas (*Pluchea indica* L.).

4.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus-September 2022 mulai dari penyiapan sampel sampai uji aktivitas antibakteri.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember (Biologi Farmasi).

4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

Variabel penelitian adalah suatu sifat yang mempunyai variasi tertentu yang akan ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga mendapatkan suatu informasi dan kemudian dapat ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2019). Berikut penjelasan dari variabel bebas dan variabel terikat:

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yaitu merupakan variabel yang akan mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono, 2019). Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak NADES daun beluntas.

4.5.2 Variabel Terikat

Menurut Sugiyono (2019) Variabel terikat yaitu merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat, karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia ekstrak NADES daun beluntas dan diameter daya hambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat pada tabel 4.1 dan tabel 4.2

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
Kandungan senyawa kimia	Hasil skrining fitokimia alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan fenol	Tabung reaksi dan pipet tetes	Dengan menambahkan pereaksi reagen sesuai senyawa yang akan diuji	Terbentuknya warna atau endapan pada uji kandungan senyawa kimia ekstrak daun beluntas	Kualitatif, positif atau negatif
Diameter hambat antibakteri	Daerah sekitar sumuran yang tidak terdapat adanya pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat pada area bening di sekitar sumuran	Terbentuknya diameter zona hambat di sekitar sumuran	Rasio

Tabel 4. 2 Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
Alkaloid	Adalah senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen.	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan pereaksi Dragendorff	Positif mengandung senyawa alkaloid akan ditunjukkan dengan adanya endapan warna coklat.	Kualitatif, positif atau negatif
Flavonoid	Merupakan metabolit sekunder senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat.	Tabung reaksi, pipet tetes, dan lembar observasi	Penambahan pereaksi serbuk HCL pekat	Positif bila diberi HCL pekat akan menunjukkan perubahan warna jingga atau kuning	Kualitatif, positif atau negatif
Saponin	Merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul yang tinggi dihasilkan tanaman,	Tabung reaksi, pipet tetes dan kertas	Uji buih	Positif bila terbentuk busa dengan ketinggian 1-2 cm.	Kualitatif, positif atau negatif

	hewan laut dan beberapa bakteri	observasi					
Tanin	Merupakan senyawa fenol yang memiliki berat molekul yang besar dan terdiri dari gugus hidroksi	Tabung reaksi, pipet tetes dan kertas observasi	Penambahan FeCl_3 1%	Positif bila FeCl_3 1% menunjukkan biru atau kehitaman	diberi akan warna hijau	Kualitatif, positif atau negatif	
Fenol	Metabolit sekunder yang terbesar di dalam tumbuhan	Tabung reaksi, pipet tetes dan kertas observasi	Penambahan FeCl_3	Positif bila FeCl_3 menunjukkan hitam kebiruan pekat	diberi akan warna	Kualitatif, positif atau negatif	

4.6 Pengumpulan data

Pada penelitian ini pengumpulan data yang digunakan yaitu data primer hasil dari observasi atau pengamatan.

4.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi daun beluntas dilakukan untuk mengetahui jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi dilakukan di Politeknik Negeri Jember

4.6.2 Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun beluntas segar yang diperoleh dari desa Tambaksari, diambil bagian daun yang muda pada pucuk pertama sampai baris daun kelima lalu disortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun beluntas. Daun yang sudah disortasi basah dicuci dengan air yang mengalir kemudian daun beluntas dikeringkan dan diangin-anginkan 2-3 hari pada suhu ruang. Selanjutnya, dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian ditimbang dan diekstraksi dengan pelarut NADES.

4.6.3 Pembuatan Pelarut NADES

Pelarut NADES dibuat dengan cara pemanasan dan pengadukan (Dai *et al*, 2013). Sebanyak 1 mol kolin klorida ditimbang (139,62 g) dan sebanyak 1 mol gliserol ditimbang (92 g) dengan masing-masing konsentrasi rasio 1:1, kemudian kedua bahan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer lalu dipanaskan di atas *hot plate* kurang lebih selama 1 jam pada temperatur suhu 60-70°C dengan kecepatan *stirrer* skala 4 (350 rpm). Kemudian dilakukan pemanasan sampai memperoleh larutan yang stabil (ditandai dengan campuran tetap bening tidak mengendap, mengkristal ataupun berubah warna).

4.6.4 Ekstraksi NADES Daun Beluntas dengan Metode UAE

Ekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yang dilakukan mengacu pada penelitian Andriani *et al* (2019). Sebanyak 15 gram serbuk simplisia ditimbang dan ditambah dengan 150 mL NADES kolin klorida: gliserol dalam Erlenmeyer. Campuran selanjutnya diaduk menggunakan UAE selama 15 menit dan frekuensi sebesar 20 kHz untuk memberi waktu pelarut berpenetrasi ke dalam bahan. Setelah proses ekstraksi selesai, sampel didinginkan pada suhu ruang. Kemudian didiamkan selama 15 menit agar serbuk simplisia mengendap. Serbuk simplisia dipisahkan dari larutan dengan penyaringan dan dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat (Mulyadi *et al*, 2015).

4.6.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun beluntas. Masing-masing pengujian metabolit sekunder daun beluntas dilakukan 5 pengulangan antara lain yaitu:

1) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun beluntas dilarutkan dalam asam klorida 2 mL, dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang didapat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diberi pereaksi *dragendroff* sebanyak 2-3 tetes. Jika hasil sampel positif mengandung senyawa alkaloid akan ditunjukkan dengan adanya perubahan endapan yang berwarna coklat (Noval *et al*, 2019).

2) Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etanol dan ditambahkan dengan serbuk HCl pekat sebanyak 3-5 tetes. Jika hasil sampel positif mengandung flavonoid akan menunjukkan perubahan warna yaitu warna jingga atau kuning (Noval *et al*, 2019)

3) Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun beluntas dan ditambahkan dengan *aquadest* dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan selama 2-3 menit, setelah agak dingin dikocok dengan kuat. Jika hasil sampel terbentuk busa dengan ketinggian 1-2 cm yang tahan selama 30 detik maka sampel menunjukkan positif saponin (Noval *et al*, 2019).

4) Uji Tanin

Masukkan ekstrak daun beluntas sebanyak 0,1 gram ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%. Apabila larutan sampel menunjukkan warna biru atau hijau kehitaman, maka ekstrak tersebut mengandung tannin (Jannah *et al*, 2017).

5) Uji Fenol

Uji fenol dilakukan timbang sebanyak 0,5 gram ekstrak daun beluntas kemudian ditambahkan 3-4 tetes FeCl_3 seampai terjadi adanya perubahan warna hitam kebiruan pekat maka sampel menunjukkan adanya kandungan fenol (Azizah, 2018)

4.6.6 Persiapan Media

Seluruh alat yang digunakan untuk uji aktivitas dibungkus dengan kertas dan di sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Iliyana *et al*, 2021)

1) Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *nutrient agar* digunakan sebagai media kultur isolat bakteri. Sebanyak 0,4 g *Nutrient agar* dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 20 mL, setelah itu dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk sampai larut. Media *nutrient agar*, selanjutnya di sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media NA steril dituang ke dalam cawan petri dan didiamkan pada suhu kamar hingga mengeras (Rahmadani, 2015).

2) Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang sebanyak 10,2 gram MHA kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Lalu ditambahkan akuades sampai 300 mL, kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* di atas penangas air sampai mendidih. Media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media MHA dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 25 mL (Gunawan *et al*, 2019).

4.6.7 Preparasi dan Prosedur Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan yaitu meliputi peremajaan bakteri yang akan dilakukan dengan cara menanam bakteri ke dalam *Nutrient Agar* (NA) steril, bakteri uji ditumbuhkan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara menggoreskan bakteri dari biakan murni yang menggunakan jarum ose pada permukaan media agar miring. Bakteri yang sudah digoreskan pada media kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri *Staphylococcus aureus* (Mehingko, 2013).

4.6.8 Pembuatan Suspensi Bakteri

Standar *Mc Farland* 0,5 dibuat dari campuran H₂SO₄ 1 % sebanyak 9,95 mL dan larutan BaCl 1 % sebanyak 0,05 mL. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Rahayu, 2019)

Bakteri uji yang telah diinokulasi NA diambil dengan ose steril. Kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% hingga memperoleh keruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. (Handayani *et al*, 2016)

4.6.9 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif pada penelitian ini yang digunakan sebagai pembanding antibiotik adalah klorampenikol kapsul sebanyak 10 µg dengan cara memasukkan 0,5 mg kemudian dilarutkan dalam akuades 100 mL, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut NADES kolin klorida dan gliserol.

4.6.10 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Metode uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan sumuran. Metode ini dipilih karena sangat sederhana dan cepat sehingga mudah untuk pengujian aktivitas antibakteri (Hidayati *et al*, 2017). Sebelum bakteri ditanam pada media MHA, bagian depan cawan petri dibagi menjadi lima bagian yang terdiri dari ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 50%, 75%, 100%, kontrol positif dan kontrol negatif. Selanjutnya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* uji dari media larutan NaCl 0,9% dipipet sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media MHA dan diratakan dengan batang L secara perlahan untuk menyebarkan biakan bakteri secara merata. Kemudian cawan petri yang sudah terisi biakan bakteri dilubangi dengan metode sumuran dan diisi dengan ekstrak NADES daun beluntas 50%, 75%, 100%, kontrol negatif yaitu pelarut NADES dan kontrol positif yaitu kloramfenikol masing-masing sebanyak 10 μ L dan replikasi dilakukan sebanyak 5 kali untuk setiap metode ekstraksi yang digunakan. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diukur diameter daerah yang terbentuk warna bening menggunakan jangka sorong (Rahayu, 2019).

4.7 Teknik Analisis Data

4.7.1 Pengolahan Data

Pengukuran aktivitas antibakteri yang dilakukan yaitu dengan mengukur diameter zona hambat dari bakteri *Staphylococcus aureus* diukur dengan jangka sorong dalam satuan (mm). Zona hambat yang merupakan zona bening di daerah

sekeliling sumuran dimana tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Stahpylococcus aureus*.

4.7.2 Analisis Data

Data yang akan diperoleh diolah menggunakan uji statistik SPSS yaitu data yang pertama dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Spahiro wilk*. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas. Data dikatakan terdistribusi dengan normal jika nilai $P > 0,05$ tujuan ini digunakan sebagai syarat agar dapat menggunakan uji parametik *One Way ANOVA*, setelah melakukan uji normalitas dan homogenitas selanjutnya dianalisis menggunakan uji parametik *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat signifikan setiap kelompok. Apabila didapat nilai $P < 0,05$ dilakukan uji lanjutan lanjutan yaitu uji *post hoc*. Jika *one way ANOVA* tidak memenuhi maka dianalisis dengan menggunakan metode uji non parametrik dengan perbedaan yang signifikan antara kelompok ditunjukkan dengan nilai $P < 0,05$.

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman daun beluntas dilakukan di Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Hasil identifikasi tanaman daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2 Ekstraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Pelarut NADES dibuat dari campuran *choline chloride*: gliserol: akuades dengan rasio mol 1:1:18. Pelarut NADES yang diperoleh berupa larutan jernih yang stabil, ditandai dengan campuran bening tidak mengendap, mengkristal, dan tidak berubah warna. Hasil ekstraksi serbuk simplisia daun beluntas sebanyak 15 gram dalam 150 mL pelarut NADES dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) selama 15 menit diperoleh ± 130 mL

5.3 Uji Skrining Fitokimia Daun Beluntas

Uji skrining fitokimia dilakukan guna mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun beluntas. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5. 1 Skrining fitokimia ekstrak NADES daun beluntas

Uji Senyawa	Pereaksi	Teoritis	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Asam klorida + <i>dragendroff</i>	Jika terbentuk endapan merah sampai coklat (Noval <i>et al.</i> , 2019)	Terbentuk endapan merah kecoklatan	+
Flavonoid	Etanol 2 mL + HCl pekat 2 tetes	Jika menunjukkan akan perubahan warna jingga atau kuning (Noval <i>et al.</i> , 2019)	Terbentuk warna jingga	+
Saponin	Akuades	Jika hasil positif dengan terbentuknya busa dengan ketinggian 1-2 cm (Noval <i>et al.</i> ,2019)	Terbentuk busa 2 cm	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Jika hasil positif menunjukkan warna biru atau kehitaman (Jannah <i>et al.</i> ,2017)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Fenol	FeCl ₃	Jika hasil positif terjadi perubahan warna hitam kebiruan atau hitam kehijauan (Azizah,2018)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+

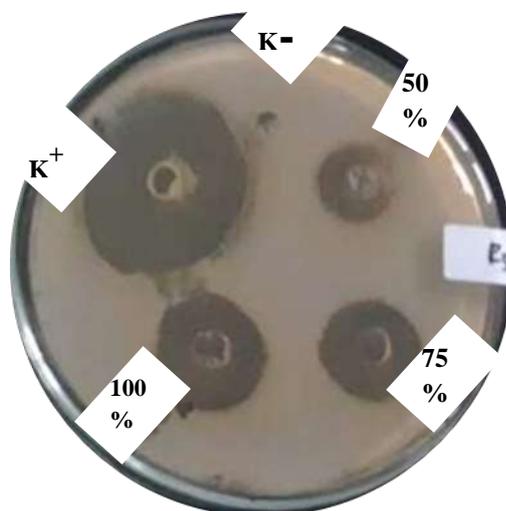
Keterangan: (+) Positif mengandung senyawa kimia

Dari hasil tabel diatas menunjukkan bahwa hasil pengujian ekstrak daun beluntas dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terdapat kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol.

5.4 Uji Antibakteri

Uji kekeruhan *Mc Farland* 0,5 diperoleh nilai absorbansi 0,112 dan untuk kekeruhan kultur bakteri *Staphylococcus aureus* mendapatkan hasil absorbansi 0,115 dengan ketentuan absorbansi 0,08 – 0,1. Hal ini dapat dilihat pada lampiran 2.

Pada hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas dapat menghambat bakteri *S. aureus*. Dengan perlakuan dibagi menjadi 5, yaitu kontrol positif klorampenikol, kontrol negatif pelarut NADES, ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 50%, ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 75%, dan ekstrak nades daun beluntas konsentrasi 100% dengan replikasi sebanyak 5 kali. Hasil uji antibakteri ekstrak daun beluntas dapat dilihat pada gambar 5.1



Gambar 5. 1 Hasil Uji Antibakteri

Hasil pengukuran data diameter zona bening ekstrak daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5. 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)				
	Konsentrasi Ekstrak NADES			Kontrol	
	50%	75%	100%	+	-
1	12,64	13,29	13,69	25,42	0,00
2	13,29	16,70	18,06	23,16	0,00
3	9,08	11,82	12,36	25,84	0,00
4	13,08	13,95	18,16	18,99	0,00
5	9,02	12,57	14,34	23,29	0,00
Rata-rata	11,42	13,67	15,32	23,34	0,00
± SD	± 2,18	± 1,88	± 2,64	± 2,72	± 0,00

Keterangan = Pengukuran dalam satuan (mm)

Kontrol + = Kontrol positif (Tablet Kloramfenikol)

Kontrol - = Kontrol negatif (Pelarut NADES)

5.5 Analisis Data

Hasil pengukuran zona hambat pada setiap pengujian dilanjutkan uji statistik dengan uji *Kruskal-Wallis Test*. Uji statistik dengan program SPSS versi 22 dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan zona hambat masing-masing pada ekstrak daun beluntas.

Tabel 5. 3 Hasil Uji Normalitas

Kelompok	<i>Shapiro-Wilk</i>	Hasil
Kontrol positif (Kloramfenikol)	0,310 > 0,05	Tidak normal
Ekstrak NADES daun beluntas 50%	0,039 < 0,05	Normal
Ekstrak NADES daun beluntas 75%	0,467 > 0,05	Tidak normal
Ekstrak NADES daun beluntas 100%	0,237 > 0,05	Tidak normal

Berdasarkan Tabel 5.3 hasil uji normalitas pada kelompok kontrol positif, ekstrak NADES daun beluntas 75% dan ekstrak NADES daun beluntas 100% tidak terdistribusi normal dengan nilai $P > 0,05$. Pada kelompok ekstrak NADES daun beluntas 50% didapatkan nilai signifikan $p < 0,05$ sehingga data terdistribusi normal.

Tabel 5. 4 Hasil Uji Homogenitas

Kelompok	<i>Shapiro-Wilk</i>	Hasil
<i>Levene statistic</i>	0,684 > 0,05	Tidak homogen

Berdasarkan Tabel 5.4 hasil uji homogenitas didapatkan nilai signifikan *Levene statistic* $p < 0,05$. Jadi dapat disimpulkan bahwa varian data tersebut tidak homogen.

Setelah dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas memperlihatkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan untuk uji homogenitas datanya tidak homogen yang ditunjukkan hasil nilai $p < 0,05$. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas kemudian dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*.

Tabel 5. 5 Hasil Uji *Kruskal Wallis*

Kelompok	<i>Shapiro wilk</i>	Hasil
<i>Asymp sig</i>	0,004 < 0,05	Berbeda signifikan

Berdasarkan Tabel 5.5 hasil uji *kruskal wallis* diperoleh nilai signifikan *Kruskal wallis* $p = 0,004$ berarti kurang dari 0,05 artinya terdapat perbedaan aktivitas antibakteri setiap kelompok sehingga H_0 ditolak H_a diterima.

Selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* yaitu uji *Duncan* sebagai uji lanjutan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan

Tabel 5. 6 Hasil Uji *Duncan*

Perlakuan	Subset for alpha = 0.05		
	1	2	3
Ekstrak 50%	11.4220 ^a		
Ekstrak 75 %	13.6660 ^{ab}	13.6660 ^{ab}	
Ekstrak 100%		15.3220 ^{bc}	
Kontrol Positif			23.3400 ^d
Sig.	.155	.287	1.000

Keterangan: Nilai yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda secara nyata/bermakna.

Tabel 5.6 hasil uji *Duncan* dapat dilihat bahwa ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 50% tidak berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 75% dan berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 100% dan kontrol positif. Ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 75% tidak berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 100% dan berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 50% dan kontrol positif. Ekstrak NADES daun beluntas konsentrasi 100% tidak berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 75% dan berbanding signifikan dengan ekstrak konsentrasi 50% dan kontrol positif.

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Beluntas

Ekstrak daun beluntas diuji skrining fitokimia untuk mengetahui dan memastikan kembali bahwa senyawa kimia yang terdapat pada daun beluntas. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun beluntas mengandung senyawa alkaloid yang ditandai dengan adanya endapan merah kecoklatan, flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna jingga, saponin yang ditandai dengan adanya busa, tanin yang ditandai dengan adanya hijau kehitaman, dan fenolik ditandai dengan adanya hijau kehitaman. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini sama dengan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun beluntas dengan metode maserasi oleh Gayatri *et al* (2021) yaitu mengandung senyawa saponin, fenol, steroid, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Pada penelitian Donowarti *et al* (2020) ekstrak metanol daun beluntas dengan metode maserasi mengandung senyawa alkaloid, polifenol, flavonoid, tanin.

Penelitian ini ditemukan senyawa alkaloid pada ekstrak daun beluntas dengan metode UAE terdapat perubahan adanya endapan berwarna merah kecoklatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarini *et al* (2019) pengujian senyawa alkaloid yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya endapan warna merah kecoklatan. Penambahan reagen asam klorida dan *dragendrof* akan membentuk endapan berwarna merah kecoklatan karena senyawa alkaloid yang berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III).

Senyawa flavonoid ditemukan pada ekstrak daun beluntas dengan metode UAE. terdapat perubahan warna jingga pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Noval *et al* (2019) pengujian senyawa flavonoid yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya warna jingga. Perubahan warna jingga yang menandakan adanya flavonoid tereduksi dengan HCl pekat dan etanol.

Senyawa saponin ditemukan pada ekstrak daun beluntas dengan metode UAE. Pengujian senyawa saponin yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya busa dengan menambahkan air panas terhadap ekstrak kemudian dikocok. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani *et al* (2020) Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah terhidrolisis dalam air sehingga menimbulkan busa ketika dikocok. Hasil ini disebabkan oleh sifat kepolaran dari senyawa saponin yang cenderung bersifat polar sehingga dapat larut pada pelarut polar maupun semi polar (Firdayani *and* Agustini, 2015).

Selanjutnya ditemukan juga senyawa tanin pada ekstrak daun beluntas dengan metode UAE terdapat perubahan warna hijau kehitaman. Pengujian golongan senyawa tanin diawali dengan penambahan larutan FeCl_3 yang bertujuan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol, adanya gugus fenol ini ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan reagen FeCl_3 . Hal ini disebabkan tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Ergina *et al*, 2014).

Selain ditemukan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin, ditemukan juga fenolik pada ekstrak daun beluntas dengan metode UAE terdapat perubahan warna hijau kehitaman pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Azizah (2018) pengujian senyawa fenol yang diperoleh dari analisis senyawa kimia yaitu terjadi perubahan warna hijau kehitaman. Fenol yang direaksikan dengan FeCl_3 menunjukkan adanya gugus fenol, sehingga menghasilkan warna hijau kehitaman.

6.2 Uji Antibakteri

Penelitian ini bertujuan untuk aktivitas antibakteri yang dapat pada ekstrak NADES daun beluntas dengan cara mengukur zona hambat pada area sekitar sumuran. Pada penelitian ini digunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, karena Menurut Diyantika *et al* (2017) bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang sering terjadi menginfeksi manusia dan merupakan bakteri yang resisten terhadap banyak antibiotik. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen pada manusia yang dapat menyebabkan penyakit kulit (Hidayah *et al*, 2017). Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dilakukan peremajaan terlebih dahulu untuk meregenerasi bakteri supaya bakteri yang diperoleh itu tidak mudah terkontaminasi (Pinarsi *et al*, 2021).

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak NADES daun beluntas yaitu menggunakan difusi sumuran. Metode sumuran yaitu metode yang dilakukan dengan cara membuat lubang sumuran sejumlah sampel yang akan diuji pada media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri, kemudian dimasukkan kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak yang telah

dibuat dengan masing-masing konsentrasi. Pemilihan metode difusi sumuran dengan memasukkan ekstrak ke dalam setiap lubang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lebih kuat. Setiap lubang diisi dengan konsentrasi yang berbeda maka osmolaritas yang terjadi lebih menyeluruh serta lebih homogen dan ekstrak lebih kuat dan lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Misna *et al*, 2016)

Media yang digunakan dalam pengujian efektivitas antibakteri ada dua macam yaitu media *Nutrient Agar* (NA) yang digunakan untuk peremajaan bakteri dan media *Muller Hinton Agar* (MHA) digunakan untuk menguji efektivitas antibakteri. Peremajaan bakteri menggunakan media NA dikarenakan media NA mengandung komposisi *Beef Extract*, *Peptone*, agar dan *Aquadest* yang merupakan bahan-bahan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang (Sari *et al*, 2017)

Pemilihan media MHA untuk uji aktivitas antibakteri karena media MHA mengandung *strach* yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan oleh bakteri sehingga tidak mengganggu antibiotik, media MHA merupakan rekomendasi *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI) sebagai media yang digunakan pada uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik karena MHA menunjukkan hasil reproduksi yang baik, rendah sulfonamid, trimetoprim dan inhibitor tetrasiklin, mendukung pertumbuhan bakteri yang sulit tumbuh sekalipun serta sudah banyak data penelitian yang telah di uji kepekaan menggunakan media MHA (Sari *et al*, 2017)

Uji antibakteri dengan metode sumuran dilakukan untuk mengetahui besarnya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran yang sudah diberi ekstrak NADES daun beluntas, dengan perlakuan konsentrasi ekstrak NADES daun beluntas 50%, konsentrasi ekstrak NADES daun beluntas 75%, dan konsentrasi ekstrak daun beluntas 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Berdasarkan hasil penelitian menggunakan metode sumuran ini didapatkan zona hambat yang merupakan daerah atau wilayah jernih yang terdapat di sekeliling sumuran bahwa jika semakin besar zona beningnya berarti semakin besar daya antibakterinya (Rahmawati *et al*, 2016)

Setelah diinkubasi 1x24 jam zona bening yang terbentuk dari pengujian diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian millimeter (mm). Hasil pengukuran zona bening ekstrak NADES daun beluntas terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 50%, konsentrasi 75%, konsentrasi 100% dan kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hal ini dapat dilihat pada tabel 5.2 menunjukkan bahwa diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai perbedaan yang berbeda terhadap kontrol positif dan konsentrasi ekstrak NADES daun beluntas 50%, konsentrasi 75% dan konsentrasi 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah klorampenikol. Fungsi kontrol positif yaitu sebagai pembanding daya hambat yang dihasilkan ekstrak. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut NADES, fungsi kontrol negatif yaitu untuk mengetahui bahwa pelarut NADES tidak memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan tidak adanya diameter zona hambat, sehingga dapat dikatakan bahwa kontrol negatif tidak mempunyai daya

hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menandakan bahwa pelarut NADES tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi secara langsung oleh pelarut NADES (Amalia *et al*, 2016)

Dari hasil pengukuran diameter zona hambat diketahui ekstrak NADES daun beluntas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode UAE diperoleh hasil rata-rata yaitu 11,42 mm pada konsentrasi 50%, 13,67 mm pada konsentrasi 75%, 15,32 mm pada konsentrasi 100%, dan 23,34 mm pada kontrol positif. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak NADES daun beluntas dengan konsentrasi 100% yang lebih baik daripada ekstrak NADES daun beluntas dengan konsentrasi 50%, 75%. Menurut Amrie *et al* (2014) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak pada pengujian aktivitas antibakteri menghasilkan daya hambat yang besar pula. Zona bening yang dihasilkan pada uji antibakteri menunjukkan bahwa terdapat kandungan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian Ilyana *et al* (2021) diameter zona hambat ekstrak etanol daun beluntas dengan metode ekstraksi maserasi 9% sebesar 8,6 mm sedangkan ekstrak bunga beluntas 9% sebesar 7,8 mm. Pada penelitian Manu *et al* (2013) ekstrak etanol daun beluntas kadar 12-60% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat antara 1,203-1,593 cm. Ekstrak etanol daun beluntas memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan ekstrak NADES daun beluntas. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat mengekstrak senyawa non polar

hingga polar. Selain itu, etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga kemungkinan dapat menarik senyawa aktif lebih baik dari pada pelarut NADES, sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut etanol lebih baik dalam mengekstrak senyawa pada daun beluntas.

Daun beluntas mengandung senyawa kimia alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Alkaloid dapat menghambat bakteri dengan cara mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan sel mengakibatkan perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga terjadi lisis bahkan kematian sel (Anita, 2014). Senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri diantaranya *Plucheol-A*, *Plucheol-B*, *Plucheoside-E*, *Plucheoside-D₁*. (Fitriansyah *et al*, 2018)

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat fungsi membrane sel sehingga membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Khinanty, 2015). Senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu apigenin, luteolin, krisoeriol, kuersetin (Fitriansyah *et al*, 2018)

Senyawa kimia saponin yang terkandung dalam daun beluntas yang berperan dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghidrolisis dinding sel. Kerusakan pada dinding sel dapat menyebabkan hilangnya sifat semipermeabilitas akibat dari kerusakan membran sel, sehingga tidak dapat

menyelesaikan keluar – masuknya zat seperti air dan enzim. Hal tersebut mengakibatkan metabolisme sel terganggu, sehingga menghambat proses pembentukan ATP untuk pertumbuhan sel. Jika proses ini berlanjut maka akan menimbulkan kematian sel (Husna *et al*, 2016). Senyawa saponin yang memiliki aktivitas antibakteri adalah saponin triterpenoid. Saponin merupakan suatu aglikon hidrofobik yang berikatan dengan gugus gula seperti glukosa, galaktosa, xylosa, dan metilpentosa (Majid *et al*, 2020)

Senyawa kimia tanin pada daun beluntas yang berperan dalam penghambatan bakteri. Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuan untuk menghambat kerja enzim protease. Enzim protease merupakan enzim yang berperan dalam proses katalisis protein menjadi asam amino. Apabila enzim protease tidak dapat bekerja, maka asam amino tidak dapat terbentuk. Ketersediaan asam amino dalam sel sangat penting, sehingga apabila asam amino tidak tersedia, maka proses metabolisme bakteri akan terhenti dan dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Pappa *et al*, 2019)

Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri yaitu berhubungan dengan membrane lipid. Fenol dapat berinteraksi dengan membrane fosfolipid sel yang bersifat permeable terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membrane menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Khinanty, 2015). Senyawa fenol yang memiliki aktivitas antibakteri diantaranya asam kafeat, vesbascoside, rutin, luteolin 7- O-glukosida (Fitriansyah *et al*, 2018)

Analisis data antibakteri ekstrak NADES daun beluntas menggunakan metode UAE yang dianalisa Uji *Kruskal wallis*. Uji statistik dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat masing-masing konsentrasi ekstrak NADES daun beluntas.

Berdasarkan Tabel 5.3 hasil uji normalitas diperoleh data nilai signifikan kontrol positif $P = 0.310$, ekstrak NADES daun beluntas 50% $P = 0.39$, ekstrak NADES daun beluntas 75% $P = 0.476$, ekstrak NADES daun beluntas 100% $P = 0.237$. Nilai signifikan dari masing-masing sampel $P > 0,05$. Jadi dapat disimpulkan bahwa varian data tidak terdistribusi normal tetapi ada 1 kelompok yang terdistribusi normal yaitu kelompok ekstrak NADES daun beluntas 50%. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas didapatkan hasil nilai signifikan 0.684 jadi nilai signifikan $p < 0.05$ dapat disimpulkan bahwa varian data tersebut tidak homogen. Data uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 5.4

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas didapatkan bahwa data tersebut tidak memenuhi syarat untuk uji lanjutan *One Way Anova* dikarenakan uji *anova* data harus terdistribusi homogen dan normal, sehingga data diuji lagi menggunakan uji non parametrik yaitu uji *kruskal wallis*. Berdasarkan Tabel 5.5 hasil uji *kruskal wallis* diperoleh nilai signifikan $P = 0.004$ berarti < 0.05 artinya terdapat perbedaan aktivitas antibakteri setiap kelompok sehingga H_0 ditolak H_a diterima.

Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* yaitu uji Duncan sebagai uji lanjutan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan. Berdasarkan Tabel

5.6 dapat dikatakan bahwa aktivitas antibakteri antara konsentrasi 50% dan 75% memiliki perbedaan yang tidak signifikan, aktivitas antibakteri antara konsentrasi 75% dan 100% memiliki perbedaan yang tidak signifikan, sedangkan aktivitas antibakteri antara konsentrasi 50% dan 100% memiliki perbedaan yang signifikan.

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Hasil uji skrining fitokimia ekstrak NADES daun beluntas menunjukkan positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan fenol.
- 2) Ekstrak NADES daun beluntas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona bening yaitu sebesar 11,42 mm \pm 2,18 untuk ekstrak NADES daun beluntas 50%, sebesar 13,67 mm \pm 1,88 untuk ekstrak NADES daun beluntas 75% dan sebesar 15,32 mm \pm 2,64 untuk ekstrak NADES daun beluntas 100%

7.2 Saran

Adapun beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

- 1) Perlu dilakukan pengujian antibakteri pada bagian lain dari tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) dengan pelarut NADES
- 2) Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan pengujian antibakteri pada daun beluntas dengan bakteri yang berbeda menggunakan pelarut NADES
- 3) Diharapkan untuk dilakukan pengujian antibakteri pada tanaman beluntas dengan jenis pelarut NADES lainnya
- 4) Diharapkan pada penelitian selanjutnya menggunakan bagian daun beluntas yang lebih tua.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman K. Husni Samadin, Syahril Aziz. 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik *Vancomycin* Di Rsup Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Universitas Sriwijaya
- Agustin Bella Agil, Nony Puspawaty, Rizal Maarif Rukman. 2018. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica Less.*) dan Meniran (*Phyllanthus*). Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta
- Allo M, B, Rante. 2016. Uji Aktifitas Antibakteri dari Ekstrak Air Kulit Buah Pisang Ambon Lumut (*Musa acuminata Colla*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Program Studi Pendidikan Biologi. Universitas SANATA Dharma Yogyakarta
- Andasari S D, Choiril Hana Mustofa, Eka Oktavia Arabela. 2021. Standarisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etil Asetat Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*). Program Studi D3 Farmasi, Stikes Muhammadiyah Klaten.
- Andayani, R., Mubarak, Z., dan Rinanda, R. D. 2016. Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara *In Vitro*. Jurnal Syiah Kuala Dent Sor. 1(2): 201-210
- Andriani, M., Gde Mayun Permana, I. D and Rai Widarta, I. W. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) terhadap Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Method*'. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 8(3), pp. 330-340.
- Anita, A., Khomariah S., Yanti A. H. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophthoe pentandra (L.) Miq*) Terhadap Pertumbuhan *S. typhi*. Jurnal *Protobiont*. Vol 3. No 02. 268-272.
- AS Hidayati dan Harjono. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides. L*) dalam Pelarut Etanol. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang, Indonesia. Jurnal MIPA 40 (1)
- Astati, Ardana, M., Ahmad, I. 2019. Ekstraksi polifenol total dari umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa [Mill.] Urb.*) menggunakan metode *citric acid*

- *glucose based microwave assisted extraction*. Mulawarman *Pharmaceutical Conference*. e- issn: 2614- 4778; 140.
- Azizah Zikra, Zulharmita, Siska Widya Wati. 2018. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia* L.). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 10(2)
- Bota Welmince, Martanto Martosupono, Ferdy S Rondonuwu. 2015. Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (*Citronella oil*) dari Tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri. Universitas Kristen Satya Wacana
- Choi, Y.H., Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollman, F., Arends, G. 2011. *Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology*. *Plant Physiology*. 156 (4): 1701-1705.
- Craveiro, R., Aroso, I., Flammia, V., Carvalho, T., Viciosa, M.T., Dionísio, M. 2016. *Properties and Thermal Behavior of Natural Deep Eutectic Solvents*. *Journal of Molecular Liquid*. 215: 534-540.
- Dai, Y. 2013. Disertasi: *Natural Deep Eutectic Solvents and Their Application in Natural Product Research and Development*. China: *Universiteit Leiden*. Halaman 1-170.
- Dai, Y., E. Rozema, R. Verpoorte, and Y. H. Choi. 2016. *Application of Natural Deep Eutectic Solvents to The Extraction of Anthocyanins from Catharanthus roseus with High Extractability and Stability Replacing Conventional Organic Solvents*. *Journal of Chromatography A*. 1434: 50-56. doi:0021-9673
- Dewi, Y. P., Zahrina, I. and Yelmida. 2021. Karakteristik Nades (*Natural Deep Eutectic Solvents*). *Jon FTEKNIK*, 8, pp. 1-5
- Ditjen POM RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman: 3,5,10-11.
- Donowarti I, & Dayang Diah, F. 2020. Pengamatan hasil olahan daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap sifat fisika dan kimianya. Prodi Agribisnis, Universitas Wisnuwardhana Malang, Malang, Jawa Timur

- Ergina, Nuryanti, S., & Purtsari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol *Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (Agave)*. J. Akad. Kim, 3(3), 165–172.
- Firdayani, F., & Winarni Agustini, T. 2015. Ekstraksi Senyawa BIOaktif sebagai Antioksidan Alami Spirulina Platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(1), 28–37. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.1.28>
- Fitriansyah Mohamad Irfan dan Raden Bayu Indradi. 2018. Review: Profil Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi Baluntas (*Pluchea Indica L.*). Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
- Firma, Ira Y. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh
- Gayatri Dewa A. Ernawati Desak K. Whidiartini Ida A. 2021. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Secara *In Vitro*. Fakultas Kedokteran. *Jurnal Medika Udayana* Vol. 10 No. 1
- Grozdanova, T, Trusheva Boryana, Alipieva Kalina, Milena Popova. 2020. *Extracts of medicinal plants with natural deep eutectic solvents: enhanced antimicrobial activity and low genotoxicity*, *BMC Chemistry*. Springer International Publishing, 14(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/s13065-020-00726-x.
- Gunawan, HC. Yusliana Y. Pieter J Daeli. Sarwendah Sarwendah. Linda Chiuman. 2019. Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus (L) Merr*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 15(2), p. 170. doi: 10.24853/jkk.15.2.170-177
- Handayani. Husnul Warnida. Siti Juhairiah N. 2016. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.*). *Akademi Farmasi Samarinda*. Volume 9 (1).
- Handayani, S., Kurniawati, I., & Abdul Rasyid, F. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karet Kebo (*Ficus elastica*) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal*

- Farmasi Galenika (*Galenika Journal of Pharmacy*) (*e-Journal*), 6(1), 141–150. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15022>
- Hidjrawan. 2018. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Jurusan Teknik Industri, Fakultas Teknik, Universitas Teuku Umar
- Hudha, M., & Widyaningsih, T. D. 2015. Serbuk *Effervescent* Berbasis Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4), 1412–1422.
- Hui Cao, Xiaoqing Chen, Amir, R. J., Jianbo, Xiao. 2015. *Microbial biotransformation of bioactive flavonoids*. 33, (1), 214-223.
- Husna Fa, Sulasmi Es, Witjoro A, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ental Muda *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*, Malang; *Jurnal Universitas Negeri Malang*.
- Iliyana H. Dwi Bagus P. Urmatul W. St Rahmatullah. 2021. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga dan Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) less.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
- Ivoryanto, E. Bambang Sidharta, Ratna Kurnia Illahi. 2017. Hubungan Tingkat Pendidikan Formal Masyarakat Terhadap Pengetahuan dalam Penggunaan Antibiotika Oral di Apotek Kecamatan Klojen. Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia
- Jannah, A., Rachmawaty, D. U., & Maunatin, A. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays* Ssaccarata Strurt) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *In Alchemy* 5(4) <https://doi.org/10.18860/Al.V5i4.4182>
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Adelberg., G.F. Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Ornston. 1995. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi ke-20 (Alih bahasa: Nugroho & R.F. Maulany). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hal. 211,213,215.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia durvillaei* dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar, dan Polar. Skripsi, Surabaya: Universitas Airlangga.

- Khinanty, N. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Pelepah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes*.
- Laoli, N. S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandoan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Proteus vulgaris*. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan4, pp. 67-73
- Leba, M. A. U. 2017. Ekstraksi dan Real Kromatografi, Yogyakarta: Deepublish.
- Leron, R.B., Soriano, A.N., Li, M.H. 2012. *Densities and Refractive Indices of The Deep Eutectic Solvents (Choline chloride + Ethylene glycol or Glycerol) and Their Aqueous Mixtures at the Temperature Ranging from 298,15 to 333,15 K. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 43: 551- 557.
- Ma, Y., Liu, M., Tan, T., Yan, A., Guo, L., Jiang, K., dkk. 2018. *Deep Eutectic Solvents Used as Extraction Solvents for the Determination of Flavonoids From Camellia oleifera Flowers by High-Performance Liquid Chromatography. Phytochemical Analysis.* 29: 639-648.
- Malekak M.C.C, Diana A Wuri, Elisabet Tangkoda. 2015. Tingkat Cemaran *Staphylococcus aureus* Pada Ikan Asin Di Pasar Tradisional Kota Kupang. Universitas Nusa Cendana, Kupang. Vol. 3 No. 2: 147-163
- Manu R.R.S. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Calyptra. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol.2 No.1
- Mulyadi, A. F., I. A. Dewi, Wignyanto, Sucipto and R. Prayudi. 2015. Pengaruh Frekuensi dan Waktu Pretreatment *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) Terhadap Rendemen dan Kualitas *Virgin Coconut Oil*. Jurnal Teknologi Pertanian. 16 (3): 167-172.
- Nafisah, M. 2017. Uji Antioksidan Dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Kloroform Daun Tanaman Beluntas (*Pluchea Indica* L.). *UNESA Journal of Chemistry*, 6 (2).
- Naibaho A, R. 2018. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandoan (*Ageratum conyzoides* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Farmasi
- Nisa Fk. Kasmui. Harjito Harjito. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Pada

Modifikasi Senyawa Khrisin Dengan Gugus Alkoksi Menggunakan Metode Recife Model 1 (Rm1). Universitas Negeri Semarang, Indonesia

NolletLML, Gutierrez JA, 2018. *Food Analysis & Properties Series Phenolic Compounds in Food Characterization and Analysis*. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton London.

Noval, N., Yuwindry, I., & Syahrina, D. 2019. *Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Bundung Plants Extract by Dilution Method*. Jurnal Surya Medika, 5(1), 143–154. <https://Doi.Org/10.33084/Jsm.V5i1.954>

Novitasari Anik Eko Dan Dinda Zahrina Putri. 2016. Isolasi Dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik

Nuraina. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Daun *Garcinia benthami Pierre* Dengan Metode Dilusi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Nurhayati L.S, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri *Starter* Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. Jurnal Teknologi Hasil Peternakan. Vol 1, No 2

Pappa, S., Jamaluddin, A. W. & Ris, A. 2019. Kadar Tanin pada Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Kabupaten Poliwali manadar dan Toraja Utara. Cakra Kimia (Indonesia *E-Journal of Applied Chemistry*). Vol. 7 (2): 92- 101.

Pargaputri. Agni Febrina. M Mudjiono. Agus Subiwahjudi. 2019. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) terhadap *Streptococcus viridans* (In-Vitro). Laporan Penelitian. Under Graduate Dentistry, Faculty of Dentistry, Airlangga University, Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya

Pelu. 2017. Pemeriksaan Farmakognostik Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L) Asal Maluku. *Global Health Science*, Volume 2 Issue 4. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Maluku Husada

Pinarsi E. Syukrilla G. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Daun Leunca (*Solanum nigrum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fakultas Farmasi. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal Vol. 6 No. 1

- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Airlangga. Halaman 22-24, 188-189
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga. Halaman 112, 106, 108.
- Pratomo G.S. and Dewi N.A. 2018. Tingkat Pengetahuan Masyarakat Desa Anjir Mambulau Tengah terhadap Penggunaan Antibiotik, Jurnal Surya Medika, 4 (1), 79–89.
- Putri I. Indah Riwayati. Farikha Maharan. 2020. Ekstraksi Flavonoid Pada Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) Menggunakan Pelarut Air Berbantu Gelombang Mikro. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim Semarang
- Radji, Maksum. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, Jakarta: EGC, pp.10-12, 179-199
- Regina F. Tjandra. Fatimawali. Olie S. Datu 2020. Analisis Senyawa Alkaloid Dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper betle* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado
- Ritmaleni. 2014. Pembuatan Gliserol Klorida Sebagai Prekursor Obat Batuk Gliseril Guaiakolat: Upaya Pemanfaatan Gliserol Hasil Samping Produksi Biodiesel. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur, Yogyakarta, Indonesia 55281
- Rizky, T. A., Saleh, C., & Alimuddin. 2015. Analisis Kafein dalam Kopi Robusta (Toraja) dan Kopi Arabika (Jawa) dengan Variasi Siklus pada Sokletasi. Jurnal Kimia Mulawarman, 13 (1): 41-44.
- Romas A. Rosyidah Devi . Aziz M A. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Atcc 11229 dan *Staphylococcus aureus* Atcc 6538 Secara *In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Sekarsari S. Widarta I W. Jambe A Agung. 2019. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA), 8(3), p. 267. doi: 10.24843/itepa.2019.v08.i03.p05.
- Schiller. 2010. *Ethanol as a Solvent*. Dilihat 22 januari 2018

- Sibarani V R. Wowor P M. Awoloei H. 2013. Uji Efek Analgesik Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) Pada Mencit (*Mus Musculus*). Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado
- Sri Irianty, R dan Yenti, S. R. 2014. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air Terhadap Kadar Tanin Pada Sokletasi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Sagu, pp. 1-7.
- Sudjadi. 1988. Metode Pemisahan, hal 167-177, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Sugiyono. 2018. Metode Penelitian Kuantitatif. Bandung: Alfabeta.
- Sugiyono. 2019. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif R&D. Bandung: Alfabeta.
- Sukeksi, L., A. J. Sidabuntar dan C. Sitorus. 2017. Pembuatan Sabun Dengan Menggunakan Kulit Buah Kapuk (*Ceiba petandra*) Sebagai Sumber Alkali. Jurnal Teknik Kimia USU. 6(3):8-13.
- Tong, Steven YC. Davis J S. Eichenberger Emily. Holland T. 2015. *Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management*, *Clinical Microbiology Review*, 28(3), pp. 603–661. doi: 10.1128/CMR.00134-14.
- Umam A.A.K, Surjowardojo P, Susilorini T.E. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Dengan Pelarut Aquades Terhadap Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Salmonella* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. Brawijaya University, Malang
- Utami N.F, Sutanto S, Nurdayanty S.M, Suhendar U. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi. Fmipa Universitas Pakuan, Bogor
- Warsa, U.C. 1994. *Staphylococcus* dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.
- Wiendarlina, Indriati D, Rosa M. 2019. Aktivitas Antibakteri Losion Anti Jerawat Yang Mengandung Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L) Less.). Program Studi Farmasi Fmipa Universitas Pakuan Bogor
- Yuniarto, P., and Abd Kadir, M. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Beluntas (*Pluchea indica* L) Menggunakan Bakteri *Basillus sp* Dengan Metode

Sumuran. *Java Health Journal*, 4(1). doi:10.1210/jhj.v4i1.185

Zhang, H., Yang, Y. Fei, & Zhou, Z. qin. *Phenolic and Flavonoid Contents of Mandarin (Citrus reticulata Blanco) Fruit Tissues and Their Antioxidant Capacity as Evaluated by DPPH and ABTS Methods. Journal of Integrative Agriculture*. 17, 256–263 (2018).

Zhang, Q., Vigier K.D.O., Royer, S., Jerome, F. 2012. *Deep Eutectic Solvents: Syntheses, Properties and Applications. Chem. Soc. Rev.* 41: 7108–7146.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Determinasi

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 131/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1988/FIKES.UDS/U/VII/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Dewi Puspa Sari
NIM : 18040023
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Asterales; Famili: Asteraceae; Genus: Pluchea; Spesies: Pluchea indica, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 03 Agustus 2022
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu


Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2 : Hasil *Mc Farland*

Photometry Test Report

File Name:Photometry 1	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	625.0	0,118	76,1	03/10/2022 11:31:50	mc. farland
2	625.0	0,119	76,1	03/10/2022 11:38:48	s.aureus

Lampiran 3 : Hasil Uji Stastik

```

GET
  FILE='C:\Users\WINA\Downloads\Untitled1.sav'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
EXAMINE VARIABLES=Diameter BY Sampel
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT
/COMPARE GROUPS
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.

```

Explore

[DataSet1] C:\Users\WINA\Downloads\Untitled1.sav

Kandungan Sampel**Case Processing Summary**

	Kandungan Sampel	Cases				Total N
		Valid		Missing		
		N	Percent	N	Percent	
Diameter hambal	kontrol positif	5	100.0%	0	0.0%	5
	Ekstrak 50 %	5	100.0%	0	0.0%	5
	Ekstrak 75 %	5	100.0%	0	0.0%	5
	Ekstrak 100 %	5	100.0%	0	0.0%	5

Case Processing Summary

	Kandungan Sampel	Cases	
		Total	Percent
Diameter hambal	kontrol positif	100.0%	
	Ekstrak 50 %	100.0%	
	Ekstrak 75 %	100.0%	
	Ekstrak 100 %	100.0%	

Descriptives

Kandungan Sampel		Statistic	Std. Error			
Diameter hambatan	kontrol positif	Mean	23.3400	1.21519		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	19.9661		
			Upper Bound	26.7139		
		5% Trimmed Mean	23.4428			
		Median	23.2900			
		Variance	7.383			
		Std. Deviation	2.71725			
		Minimum	18.99			
		Maximum	25.84			
		Range	6.85			
		Interquartile Range	4.56			
		Skewness	-1.198	.913		
		Kurtosis	1.535	2.000		
		Ekstrak 50 %		Mean	11.4220	.97408
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8.7175
Upper Bound	14.1285					
5% Trimmed Mean	11.4517					
Median	12.6400					
Variance	4.744					
Std. Deviation	2.17810					
Minimum	9.02					
Maximum	13.29					
Range	4.27					
Interquartile Range	4.14					
Skewness	-.557			.913		
Kurtosis	-3.262			2.000		
Ekstrak 75 %				Mean	13.6660	.83774
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.3401
		Upper Bound	15.9919			
		5% Trimmed Mean	13.6000			
		Median	13.2900			
		Variance	3.509			
		Std. Deviation	1.87324			
		Minimum	11.82			
		Maximum	16.70			

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

a. Lilliefors Significance Correction

```
ONEWAY Diameter BY Sampel
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS.
```

Oneway

Descriptives

Diameter hambal	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	5	23.3400	2.71725	1.21519	19.9661	26.7139
Ekstrak 50 %	5	11.4220	2.17810	.97408	6.7175	14.1265
Ekstrak 75 %	5	13.6660	1.87324	.83774	11.3401	15.9919
Ekstrak 100 %	5	15.3220	2.64349	1.18220	12.0397	18.6043
Total	20	15.9375	5.09966	1.14032	13.5508	18.3242

Descriptives

Diameter hambal	Minimum	Maximum
	kontrol positif	18.99
Ekstrak 50 %	9.02	13.29
Ekstrak 75 %	11.82	16.70
Ekstrak 100 %	12.36	18.16
Total	9.02	25.84

Test of Homogeneity of Variances

Diameter hambal			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.505	3	16	.684

ANOVA

Diameter hambal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	403.626	3	134.542	23.787	.000
Within Groups	90.498	16	5.656		
Total	494.125	19			

ONEWAY Diameter BY Sampel
 /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
 /MISSING ANALYSIS
 /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).

Oneway

Descriptives

Diameter hambal

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	5	23.3400	2.71725	1.21519	19.9661	26.7139
Ekstrak 50 %	5	11.4220	2.17810	.97408	8.7175	14.1265
Ekstrak 75 %	5	13.6660	1.87324	.83774	11.3401	15.9919
Ekstrak 100 %	5	15.3220	2.64349	1.18220	12.0397	18.6043
Total	20	15.9375	5.09966	1.14032	13.5508	18.3242

Descriptives

Diameter hambal

	Minimum	Maximum
kontrol positif	18.99	25.84
Ekstrak 50 %	9.02	13.29
Ekstrak 75 %	11.82	16.70
Ekstrak 100 %	12.38	18.16
Total	9.02	25.84

Test of Homogeneity of Variances

Diameter hambal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.505	3	16	.684

ANOVA

Diameter hambal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	403.626	3	134.542	23.787	.000
Within Groups	90.498	16	5.656		
Total	494.125	19			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Diameter hambal

Duncan^a

Kandungan Sampel	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Ekstrak 50 %	5	11.4220		
Ekstrak 75 %	5	13.6660	13.6660	
Ekstrak 100 %	5		15.3220	
kontrol positif	5			23.3400
Sig.		.155	.287	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

NPAR TESTS

/K-W=Diameter BY Sampel(1 4)

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kandungan Sampel	N	Mean Rank
Diameter hambatan	kontrol positif	5	18.00
	Ekstrak 50 %	5	4.90
	Ekstrak 75 %	5	8.10
	Ekstrak 100 %	5	11.00
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

	Diameter hambatan
Chi-Square	13.384
df	3
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kandungan Sampel

Lampiran 4 : Dokumentasi

a. Penimbangan bahan NADES

Kolin klorida



Gliserol



Aquadest



b. Penimbangan serbuk

Serbuk daun beluntas



Serbuk + Pelarut NADES



c. Metode UAE



d. Penyaringan ekstrak

Penyaringan ekstrak



Filtrat



e. Skrining Fitokimia

Alkaloid



Flavonoid



Saponin



Tanin



Fenol



3) Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus*



4) Pembuatan *Mc Farland*



5) Uji Antibakteri



Lampiran 5 : Perhitungan

1. Perhitungan bahan

• Penimbangan bahan

$$\begin{aligned} \text{▪ } 1 \text{ mol ChCl} &\rightarrow \frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}} \times \text{Mr} = \text{Massa} \\ & \phantom{\frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}}} \times 139,62 \text{ g/mol} = \text{Massa} \\ & \phantom{\frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}}} 139,62 \text{ gram} = \text{Massa} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{▪ } 1 \text{ mol gliserol} &\rightarrow \frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}} \times \text{Mr} = \text{Massa} \\ & \phantom{\frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}}} \times 92 \text{ g/mol} = \text{Massa} \\ & \phantom{\frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ mol}}} 92 \text{ gram} = \text{Massa} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{▪ } 18 \text{ mol aquadest} \\ 1 \text{ mol air} &= 18,02 \text{ g/mol} \\ 18 \text{ mol} &= 18 \text{ mol} \times 18,02 \text{ g/mol} \\ &= 324,36 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah keseluruhan} &\rightarrow 139,62 \text{ gram} + 92 \text{ gram} + 324,36 \text{ gram} \\ &= 555,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

• Penimbangan Pelarut NADES yang dibutuhkan (150 gram)

$$\text{▪ ChCl} : \frac{139,62 \text{ gram}}{555,98 \text{ gram}} \times 150 \text{ gram} = 37,67 \text{ gram}$$

$$\text{▪ Gliserol} : \frac{92 \text{ gram}}{555,98 \text{ gram}} \times 150 \text{ gram} = 24,82 \text{ gram}$$

$$\text{▪ Aquadest} : \frac{324, \text{gram}}{555,98 \text{ gram}} \times 150 \text{ gram} = 24,82 \text{ gram}$$

2. Perhitungan *Mc Farland*

- BaCl 1% : 0,05 mL \rightarrow 50 μ L
- H₂SO₄ : 9,95 mL \rightarrow 900 μ L, 50 μ L dan 9 mL

3. Perhitungan konsentrasi ekstrak

$$\text{a. Konsentrasi } 50\% = \frac{50}{100} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 5 \text{ gram ad } 10 \text{ mL NADES}$$

$$\text{b. Konsentrasi } 75\% = \frac{75}{100} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 7,5 \text{ gram ad } 10 \text{ mL NADES}$$

c. Konsentrasi 100% = $\frac{100}{100} \times 10 \text{ mL}$

$$= 10 \text{ gram ad } 10 \text{ mL NADES}$$

d. Perhitungan Media

(a) Media *Nutrient agar* = 20 gram ~ 1000 mL *aquadest*

$$= \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} \times 20 \text{ mL}$$

$$= 0,4 \text{ gram}$$

(b) Media *Muller Hilton Agar* = 34 gram ~ 1000 mL *aquadest*

$$= \frac{34 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} \times 300 \text{ mL}$$

$$= 10,2 \text{ gram}$$

(c) Pengulangan sampel uji dihitung menggunakan rumus Federer

:

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

Keterangan :

n : Jumlah pengulangan

t : Jumlah perlakuan

Pada penelitian ini menggunakan 3 konsentrasi ekstrak, serta 2 perlakuan sebagai kontrol positif dan kontrol negatif maka didapatkan pengulangan :

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

$$(n-1) \times (5-1) \geq 15$$

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

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

$$(4n) \geq 19$$

$$n \geq 5$$

dari hasil pengulangan di atas, maka pengulangan yang dilakukan sebanyak 5 kali.