

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KACANG HIJAU
(*Vigna Radiata L*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI SUMURAN**

SKRIPSI



**Oleh :
Rizky Amalia Eka Agustin
NIM 19040115**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KACANG HIJAU
(*Vigna Radiata L*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli*
MENGUNAKAN METODE DIFUSI SUMURAN**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :
Rizky Amalia Eka Agustin
NIM 19040115

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

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, 3 Agustus 2023

Pembimbing I



Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes.
NIDN.401906901

Pembimbing II



apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Difusi Sumuran” telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Farmasi pada :

Nama : Rizky Amalia Eka Agustin
NIM : 19040115
Hari, Tanggal : 15 Agustus 2023
Program Studi : Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,

Susilawati, M. Kes.
NIDN. 4003127401

Penguji II,

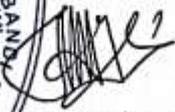
Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes.
NIDN. 401906901

Penguji III,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu kesehatan,
Universitas dr. Soebandi




apt. Lindswati Setyaningrum, M.Farm.
NIDN. 0703068903

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rizky Amalia Eka Agustin

NIM : 19040115

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

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

Jember, 15 Agustus 2023

Yang menyatakan,

A blue meter stamp with the text "METERAN TEMPORAL" and the number "DC4AJX887638259". To the left of the stamp is a vertical barcode-like graphic with the text "STIKER BERKUALITAS". A handwritten signature in black ink is written over the stamp.

(Rizky Amalia Eka Agustin)

SKRIPSI

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata* *L*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Oleh :

Rizky Amalia Eka Agustin
NIM 19040115

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Jenie Palupi, S.Kp.,M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberikan kemudahan dan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini.
2. Kedua orang tua saya yang telah memberikan kasih sayang dan perjuangannya untuk menuntun saya hingga titik ini serta memberikan semangat dan doa yang terbaik untuk saya sehingga dapat menyelesaikan Program Sarjana Farmasi.
3. Ibu Jenie Palupi, S.Kp.,M.Kes selaku pembimbing I dan ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan pikiran serta kesabaran dalam memberikan bimbingan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
4. Ibu Susilawati, M.Kes. selaku penguji yang telah banyak memberikan bantuan, saran, waktu dan juga perhatiannya dalam menulis skripsi ini.
5. Seluruh dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi atas segala ilmu dan juga pengalaman yang telah diberikan.
6. Terimakasih kepada Tarisa Azukhruf dan Putri Meli yang selalu menemani dari proses penelitian yang penuh dengan tantangan akan tetapi dapat berjalan dengan baik hingga tugas akhir skripsi ini bias terselesaikan dengan rasa syukur dan menyenangkan.
7. Terimakasih kepada teman- teman terdekat yang telah banyak membantu dan menemani selama menempuh pendidikan Farmasi di Universitas dr.

Soebandi dengan penuh suka duka dan banyak momen yang telah terlewatkan bersama.

8. Keluarga besar 19C Farmasi terimakasih telah menemani saya selama menempuh pendidikan Farmasi di Universitas dr. Soebandi.
9. Kepada bapak ibu di laboratorium Farmasi yang menerima dengan sepenuh hati sehingga membantu kelancaran dalam proses penyelesaian skripsi ini.
10. Dan sangat berterimakasih untuk diri saya sendiri yang telah berjuang dan berusaha untuk menyelesaikan semua proses lika liku pada perkuliahan hingga selesai.

MOTTO

وَلِلَّهِ مَا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ وَاللّٰهُ يَرْجِعُ الْاُمُوْرَ

“Dan milik Allah apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi, dan hanya kepada Allah segala urusan di kembalikan”

And to Allah what is in the heavens and what is on earth, and to Allah all matters are returned (Qs.Ali Imron: 109).

ABSTRAK

Agustin, Rizky Amalia Eka*Palupi, Jenie**Trianggaluh Fauziah, Dina***2023.
Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Difusi Sumuran. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : Kacang hijau (*Vigna Radiata L*) memiliki komponen bioaktif seperti alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, glikosida dan triterpenoid yang dikenal sebagai antibakteri tetapi untuk manfaatnya masih belum banyak diketahui. Tanaman ini termasuk jenis kacang hijau VIMA 5 yang merupakan variates paling diminati dan dikonsumsi masyarakat. Bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yaitu *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak kacang hijau terhadap bakteri yang umumnya menginfeksi saluran pencernaan yaitu *Escherichia coli*.

Metode : Desain penelitian ini adalah *experimental laboratorium* menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etanol. Sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol kacang hijau (*Vigna Radiata L*) dengan pengenceran konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%. Adapun kontrol positif yang digunakan yaitu *kloramfenikol* dan kontrol negatif menggunakan DMSO. Uji daya hambat menggunakan metode difusi sumuran dengan diameter 6 mm.

Hasil Penelitian : Senyawa kacang hijau mengandung flavonoid, tannin, saponin dan triterpenoid. Hasil pengujian menunjukkan bahwa biji kacang hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona hambat diperoleh rata-rata untuk konsentrasi 10% (11,04 mm), konsentrasi 20% (12,04 mm), konsentrasi 30% (12,83 mm), dan konsentrasi 40% (13,88 mm) dimana keseluruhan tergolong masuk kategori kuat.

Kesimpulan : Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji kacang hijau (*Vigna Radiata L*) memiliki aktivitas antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci : Kacang hijau (*Vigna Radiata L*), *Escherichia coli*

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Agustin, Rizky Amalia Eka*Palupi, Jenie** Trianggah Fauziah, Dina***2023. **Mung Bean Extract Antibacterial Activity Test (*Vigna Radiata L*) Against Bacteria *Escherichia Coli* Using the Well Diffusion Method**. Thesis. University of Pharmacy Undergraduate Study Program, dr. Soebandi.

Background : Green bean (*Vigna Radiata L*) has bioactive components such as alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, glycosides and triterpenoids which are known as antibacterial but their benefits are still not widely known. This plant belongs to the VIMA 5 variety of green beans which are the most popular varieties and are consumed by the public. Bacteria that cause digestive tract infections viz *Escherichia coli*. This study aims to determine the antibacterial activity of mung bean extract against bacteria that commonly infect the digestive tract, namely *Escherichia coli*.

Method : The research design is *experimental laboratorium* using the soxhletation method with ethanol solvent. The sample used is mung bean ethanol extract (*Vigna Radiata L*) with dilution concentrations of 10%, 20%, 30% and 40%. The positive control used is *chloramphenicol* and negative control using DMSO. The inhibition test used the well-diffusion method with a diameter of 6 mm.

Results and Analysis : Mung bean compounds contain flavonoids, tannins, saponins and triterpenoids. The test results showed that mung bean seeds had antibacterial activity against bacteria *Escherichia coli* characterized by the presence of an inhibition zone obtained on average for a concentration of 10% (11.04 mm), a concentration of 20% (12.04 mm), a concentration of 30% (12.83 mm), and a concentration of 40% (13.88 mm) where all belong to the strong category.

Conclusion : So it can be concluded that the ethanol extract of green bean seeds (*Vigna Radiata L*) It has antibacterial activity because it can inhibit the growth of bacteria *Escherichia coli*.

Keywords : Green bean (*Vigna Radiata L*), *Escherichia coli*

*Researcher

**Supervisor 1

*** Supervisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Difusi Sumuran”.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Andi Eka Pranata, S.,ST., S.Kep., Ners., M.Kes. selaku Rektor Universitas dr.Soebandi Jember
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi Jember
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr.Soebandi Jember
4. Ibu Jeni Palupi, S.Kp., M.Kes. selaku dosen pembimbing I dan Penguji II
5. Ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm. selaku dosen pembimbing II dan Penguji III
6. Ibu Susilawati, M.Kes. selaku ketua penguji

Jember, 15 Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORSINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Institusi	4
1.4.3 Bagi Masyarakat	4
1.4.4 Bagi pendidikan	4
1.5 Keaslian Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Kacang Hijau	6
2.1.1 Morfologi Tanaman	6
2.1.2 Klasifikasi Tanaman	7
2.1.3 Kandungan Kimia	7
2.1.4 Macam macam kacang hijau	9
2.1.5 Farmakodinamik dan Farmakokinetik	12
2.1.6 Manfaat	13
2.2 Ekstraksi	13
2.2.1 Ekstraksi Cara Dingin	13
2.2.2 Ekstraksi Cara Panas	15
2.3 Antibakteri	18
2.4 Bakteri	19
2.4.1 Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	16
2.5 Metode Pengujian Antibakteri	21
2.5.1 Metode Difusi	21

2.5.2 Metode Dilusi	22
BAB 3 KERANGKA KONSEP	24
3.1 Kerangka Konsep	24
3.2 Hipotesis Penelitian	25
BAB 4 METODE PENELITIAN	26
4.1 Desain Penelitian	26
4.2 Populasi dan Sampel	26
4.2.1 Populasi Penelitian	26
4.2.2 Sampel Penelitian	26
4.3 Variabel Penelitian	27
4.3.1 Variabel Bebas	27
4.3.2 Variabel Terikat	27
4.4 Tempat Penelitian	28
4.5 Waktu Penelitian	28
4.6 Definisi Operasional	28
4.7 Teknik Pengumpulan Data	29
4.7.1 Determinasi Tanaman	29
4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia	29
4.7.3 Pembuatan Ekstrak	29
4.7.4 Uji Skrining Fitokimia	30
4.7.5 Pembuatan Media	32
4.7.6 Pemiakan Bakteri	33
4.7.7 Pembuatan Larutan Standar	33
4.7.8 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	34
4.7.9 Pembuatan Kontrol Negatif dan Positif	34
4.7.10 Pembuatan Larutan Uji	34
4.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri	35
4.8 Teknik Analisis Data	36
4.8.1 Pengumpulan Data	36
4.8.2 Analisis Data	37
4.9 Kerangka Operasional	38
BAB 5 HASIL PENELITIAN	39
5.1 Hasil Determinasi Kacang Hijau	39
5.2 Hasil Esktraksi Kacang Hijau	39
5.3 Skrining Fitokimia Kacang Hijau	41
5.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kacang Hijau	41
5.5 Analisa Data	43
BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN	45
6.1 Hasil Uji Kandungan Fitokimia Kacang Hijau	45
6.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kacang Hijau	47
6.3 Hasil Uji Zona Hambat Paling Kuat	49
BAB 7 PENUTUP.....	52
7.1 Kesimpulan	52
7.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
DAFTAR LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Kacang Hijau	6
2.2 Ekstraksi Maserasi	14
2.3 Ekstraksi Perkolasi	14
2.4 Ekstraksi Soxhletasi	15
2.5 Ekstraksi Destilasi	16
2.6 Ekstraksi Refluks	17
2.7 Ekstraksi Infusa	17
2.8 Ekstraksi Dekok	18
2.9 Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	20
2.10 Metode Difusi Cakram	21
2.11 Metode Difusi Parit	22
2.12 Metode Difusi Sumur	22
2.13 Metode Dilusi Cair	23
2.14 Metode Dilusi Padat	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
1.1 Keaslian Penelitian	4
2.1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri	18
4.1 Definisi Operasional	28
5.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Kental	39
5.2 Hasil Skrining Fitokimia Kacang Hijau	41
5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kacang Hijau.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi.....	56
Lampiran 2. Surat Bakteri Eschericia coli	57
Lampiran 3. Hasil Mc Farland dan Suspensi Bakteri	59
Lampiran 4. Hasil Uji Statistik	60
Lampiran 5. Proses Pembuatan Serbuk	62
Lampiran 6. Proses Esktraksi Sokhletasi	63
Lampiran 7. Penimbangan dan Perhitungan	65
Lampiran 8. Skrining Fitokimia.....	68
Lampiran 9. Proses Perlakuan Bakteri	69
Lampiran 10. Pengukuran Zona Hambat	71
Lampiran 11. Jadwal Penyusunan Skripsi	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kacang hijau (*Vigna Radiata L*) merupakan salah satu sumber daya alam hayati berupa kacang-kacangan lokal Indonesia yang berpotensi dikembangkan melalui bidang pangan dan juga kesehatan tetapi untuk manfaatnya masih belum banyak diketahui. Tanaman ini termasuk palawija yang memiliki banyak varietas salah satunya yaitu kacang hijau jenis VIMA 5 dimana termasuk variates paling banyak diminati dan dikonsumsi masyarakat dengan produktifitas mencapai 2,34 ton per hectare. Kacang hijau juga memiliki komponen bioaktif seperti alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, glikosida dan triterpenoid. Komponen bioaktif tersebut dikenal sebagai agen antibakteri terhadap mikroorganisme pathogen (Munandar *et al.*, 2023)

Mikroorganisme patogen adalah penyebab terjadinya infeksi. Infeksi adalah suatu keadaan ditemukan adanya agen penginfeksi yang disertai dengan adanya respon dan gejala klinik. Umumnya agen penginfeksi berasal dari mikroorganisme pathogen seperti bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri yang hidup di usus manusia dan hewan yang dapat menyebabkan penyakit seperti diare yang ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi melalui kontak dengan hewan ataupun manusia (Rahayu *et al.*, 2018).

Pemanfaatan antibakteri menjadi solusi untuk mengatasi keberadaan organisme mikroskopis yang disajikan kepada agen antibakteri. Salah satu

metode untuk mengetahui bahan alam itu bisa memiliki kandungan metabolit sekunder terhadap antibakteri perlu dilakukan metode ekstraksi terlebih dahulu. Proses pemisahan suatu zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut tertentu yang sesuai disebut dengan ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dapat mempengaruhi kualitas dan juga kuantitas dari senyawa metabolit sekunder dari bahan alam tersebut sehingga dapat berpotensi sebagai zat antibakteri. Metode sederhana, sampel yang digunakan sedikit dan dapat diekstraksi sempurna adalah soxhletasi. Keunggulan menggunakan soxhletasi juga menghasilkan kandungan flavonoid dan fenolik yang tinggi dibandingkan dengan metode yang lain (Candra *et al.*, 2021).

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dapat dipelajari menggunakan metode difusi sumuran. Metode sumur ini dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami oleh mikroorganisme dan pada daerah sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Munculnya daerah yang bening disekitarparit menunjukkan adanya hambatan dari pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Nurhayati *et al.*, 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kacang hijau (*Vigna radiata L*) sebagai bentuk alternatif yang bisa dilakukan dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terdapat didalam tanaman tersebut yang akan diujikan melalui aktivitas

antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* yang diekstraksi menggunakan metode sokhletasi kemudian diujikan menggunakan metode difusi sumuran.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari adanya penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi zat yang terkandung dalam ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Mengidentifikasi uji aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% ,40% pada bakteri *Escherichia coli*.
3. Menganalisis konsentrasi ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) yang paling efektif sebagai antibakteri pada bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Melalui penelitian ini, peneliti memperoleh ilmu pengetahuan tentang ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata L*) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran.

1.4.2 Bagi Institusi

Melalui penelitian ini, semoga bisa dijadikan sebagai bentuk tambahan pengetahuan bagi mahasiswa yang ingin melakukan penelitian lebih lanjut..

1.4.3 Bagi Masyarakat

Melalui penelitian ini, mampu memberikan informasi baru terkait dengan manfaat yang terkandung dalam ekstrak biji kacang hijau (*Vigna radiata L*).

1.4.4 Bagi Pendidikan

Melalui penelitian ini, bisa memperoleh informasi baru tentang pengembangan bahan alam sebagai obat alternatif dalam pengobatan antibakteri.

1.5 Keaslian Penelitian

Table 1.1 Keaslian Penelitian

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Tang <i>et al.</i> 2014	A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (<i>Vigna radiata</i>)	a) Menggunakan simplisia kacang hijau b) Bisa digunakan untuk aktivitas antibakteri	a) Pada penelitian Tang membahas review jurnal internasional sedangkan pada penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium

Nurrosyidah <i>et al.</i> , 2021	Aktivitas Antibakteri Yogurt Susu Phaseolus vulgaris L. dan Phaseolus radiatus L. dengan Penambahan Madu terhadap E. coli, S. aureus, dan Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) Antibacterial	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan sampel kacang hijau b) Menggunakan bakteri Escherichia coli c) Menggunakan metode sumuran 	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan sampel kacang hijau dan kacang merah dibuat yogurt susu dengan penambahan madu b) Menggunakan bakteri E. coli, S. aureus, dan Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) c) Menggunakan kontrol positif ciprofloksasin, ampicilin, meropenem d) Hasil berupa sedang atau kuatnya bakteri hambat yang terbentuk
Munandar <i>et al.</i> , 2023	Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (Vigna Radiata (L.) Wilczek) Dengan Metode Bslt Phytochemical	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan simplisia kacang hijau 	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan ekstraksi maserasi b) Sebagai antikanker
Nurhamidin, <i>et al.</i> , 2021	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsat (Lansium Domesticum Corr) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Klebsiella Pneumoniae	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan metode difusi sumuran 	<ul style="list-style-type: none"> a) Menggunakan dua metode difusi (cakram & sumuran) b) Menggunakan simplisia buah langsat sedangkan pada penelitian ini menggunakan kacang hijau c) Menggunakan bakteri Staphylococcus Aureus dan klebsiella pneumonia d) Menggunakan metode ekstraksi maserasi

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata L*)

2.1.1 Morfologi Tanaman

Kacang hijau merupakan keluarga dari leguminose. Kacang hijau juga disebut mungbean, green gram. Tanaman ini termasuk palawija yang memiliki banyak varietas dan merupakan kebutuhan yang penting bahan pangan. Kacang hijau jenis VIMA 5 termasuk kedalam variates paling banyak diminati dan dikonsumsi masyarakat dengan produktifitas mencapai 2,34 ton per hectare. Kacang hijau memiliki umur yang pendek (kurang lebih 80-90 hari) berbunga pada umur 30-70 hari. Biji nya berbentuk bulat, lebih kecil dibanding dengan biji kacang kedelai yaitu bobotnya sekitar 0,5-0,8 mg. Helai dari daunnya memiliki bentuk oval dengan ujung yang lancip dan berwarna hijau muda hingga hijau tua (Qodariyah *et al.*, 2015).



Gambar 2.1 Kacang Hijau (Wikipedia, 2019)

2.1.2 **Klasifikasi Tanaman**

Klasifikasi tanaman kacang hijau berdasarkan ilmu taksonomi sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Famili	: Fabaceae
Genus	: Vigna
Spesies	: <i>Vigna Radiata L</i>

2.1.3 **Kandungan Kimia**

Pada aktivitas antimikroba penggunaan fitokimia kacang hijau (*Vigna Radiata L*) sebagai antibakteri alami yang memiliki senyawa enzim, peptide dan polifenol yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba. Kacang hijau mempunyai kandungan senyawa metabolite sekunder seperti alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, glikosida dan triterpenoid (Munandar *et al.*, 2023) Adapun mekanisme kerja metabolit sekunder pada kacang hijau untuk antibakteri sebagai berikut :

1) Alkaloid

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan

menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Raudhatul *et al.*,2017).

2) Glikosida

Mekanisme kerja dari senyawa glikosida sebagai antibakteri yaitu berpenetrasi kedalam dinding sel, sehingga menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri (Jannah *et al.*, 2017).

3) Tannin

Mekanisme kerja tannin sebagai antibakteri dengan memberhentikan enzim dan juga menghalangi transport protein pada lapisan dalam sel (Jannah *et al.*, 2017).

4) Flavonoid

Mekanisme kerja flavonoid untuk antibakteri dengan denaturasi pada protein, proses ini menyebabkan adanya gangguan pada pembentukan sel semakin lipofilik suatu flavonoid maka semakin kuat merusak dinding sel dari suatu bakteri (Raudhatul *et al.*, 2017).

5) Triterpenoid

Mekanisme kerja dari senyawa triterpenoid yaitu bereaksi dengan adanya protein transmembran pada membrane luar dinding sel bakteri. Rusaknya protein ini mengakibatkan kekurangan nutrisi, sehingga bakteri terhambat dan mati (Rahman *et al.*, 2017).

6) Saponin

Cara kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membrane sel. Membrane sel berguna untuk substansi keluar masuknya sel ke dalam sel. Maka dengan itu rusaknya membrane sel mampu menyebabkan kematian sel itu (Raudhatul *et al.*,2017).

2.1.4 Macam macam kacang hijau

1) Kenari

Variates ini dari Taiwan memiliki tinggi 55 cm dan berumur 35 hari, warna nya hijau mengkilap untuk potensi hasil sebesar 1,38 t/ha. Jenis ini tahan dengan adanya penyakit karat daun (Kementrian pertanian, 2019).

2) Murai

Variates ini dari Filipina memiliki tinggi 70 cm dan berumur 35 hari, warna nya hijau kusam untuk potensi hasil sebesar 0,9-2,5 t/ha. Jenis ini tahan dengan adanya penyakit bercak daun (*Cercospora sp.*) (Kementrian pertanian, 2019).

3) Kutilang

Variates ini dari Taiwan memiliki tinggi 60 cm dan berumur 35-38 hari, warna nya hijau mengkilap untuk potensi hasil sebesar 1,96 t/ha. Jenis ini tahan dengan adanya embung tepung (Kementrian pertanian, 2019).

4) Perkutut

Variates ini dari Taiwan memiliki tinggi 65 cm dan berumur 36 hari, warna nya hijau mengkilap untuk potensi hasil sebesar 0,7-2,2 t/ha. Jenis ini tahan dengan adanya bercak daun (*Cercospora sp.*) (Kementrian pertanian, 2019).

5) Sampoeng

Variates ini dari lokal yakni Sumbawa Nusa Tenggara Barat memiliki tinggi 60-80 cm dan berumur 34-36 hari, warna nya hijau mengkilap ungu dan tua hitam untuk potensi hasil sebesar 1,8 t/ha. Jenis ini peka dengan adanya hama thrips dan aphid tetapi agak tahan terhadap bercak daun. Memiliki keunggulan tidak mudah pecah serta cocok dijadikan kecambah (Kementrian pertanian, 2019).

6) Vima 1

Variates ini adalah hasil persilangan tetua jantan 1973 A dengan tetua betina 2750 A memiliki tinggi 53 cm dan berumur 33 hari, warna nya hijau kusam untuk potensi hasil sebesar 1,76 t/ha. Jenis ini tahan dengan adanya penyakit embun tepung (Kementrian pertanian, 2019).

7) Vima 2

Variates ini adalah hasil persilangan dari merpati dengan tetua jantan 6307 A memiliki tinggi 64,3 cm dan berumur 33 hari, warna nya hijau untuk potensi hasil sebesar 2,4 t/ha. Jenis ini

rentan dengan adanya penyakit embun tepung tetapi dapat bertahan dengan hama thrips. Kacang ini memiliki keunggulan berumur genjah (Kementrian pertanian, 2019).

8) Vima 3

Variates ini adalah hasil percampuran Lawet dengan tetua jantan MLG 716 memiliki tinggi 75,3 cm dan berumur 36 hari, warna nya hijau kusam untuk potensi hasil sebesar 2,1 t/ha. Jenis ini rentan dengan adanya penyakit embun tepung serta cocok dijadikan kecambah (Kementrian pertanian, 2019).

9) Vima 4

Variates ini adalah hasil percampuran kutilang dengan murai memiliki tinggi 62,4 cm dan berumur 35 hari, warna nya hijau mengkilap untuk potensi hasil sebesar 2,32 t/ha. Jenis ini agak tahan dengan adanya penyakit embun tepung serta adanya hama thrips (Kementrian pertanian, 2019).

10) Vima 5

Variates ini adalah hasil percampuran walet dengan tetua jantan MLG 716 memiliki tinggi 73,5 cm dan berumur 36 hari, warna nya hijau kusam untuk potensi hasil sebesar 2,34 t/ha. Jenis ini agak tahan dengan adanya penyakit embun tepung. Kacang ini memiliki keunggulan berumur genjah, serempak dan juga tidak mudah pecah (Kementrian pertanian, 2019).

2.1.5 Farmakodinamik dan Farmakokinetik Flavonoid

Flavonoid dapat ditemukan pada semua tumbuhan ditemukan dalam glikosida atau terikat dengan molekul gula atau aglikon yakni tidak terikat dengan molekul gula. Hanya flavonoid dalam bentuk aglikon yang dapat melewati dinding usus. Hidrolisis ikatan glikosida terjadi hanya di usus besar atau kolon oleh bakteri, bersamaan dengan degradasi flavonoid yang terdapat pada makanan. Penyebab hal ini karena tidak ada enzim yang mampu memecah ikatan antara flavonoid dengan gula (Eny, 2017)

Senyawa flavonoid dalam bentuk aglikon pada usus diabsorpsi bersama asam empedu dan melalui epitel kemudian masuk kedalam peredaran darah. Melalui vena porta, sebagian flavonoid menuju hati yang merupakan organ utama tempat terjadinya metabolisme flavonoid selain dinding usus besar dan juga ginjal. Pada saat flavonoid diabsorpsi akan terjadi peningkatan beberapa fungsi biologis, antara lain sintesis protein, diferensiasi dan juga proliferasi sel serta angiogenesis. Walaupun diketahui bahwa toksisitas flavonoid sangat rendah, namun jika senyawa ini dikonsumsi dengan dosis tinggi maka senyawa ini dapat berperan sebagai mutagen dan akan menghambat enzim-enzim tertentu yang penting untuk metabolisme hormon (Eny, 2017).

2.1.6 Manfaat

Kacang hijau memiliki khasiat sebagai antimikroba, antiinflamasi, antidiabetes, antihiperlipidemia, antihipertensi, deuretik dan antioksidan. Kacang ini juga dapat dibuat menjadi olahan pangan seperti kefir susu kacang hijau yang dapat bermanfaat sebagai antibakteri jika dikonsumsi (Nugroho, 2022).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat dalam simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Tujuan dalam mengekstraksi simplisia adalah untuk menarik semua komponen kimia dan juga zat aktif yang terdapat di dalam suatu simplisia (Marjoni, 2016).

Terdapat beberapa jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

2.2.1 Ekstraksi Cara Dingin

Metode ini tidak memerlukan adanya pemanasan selama proses mengekstrak yang bertujuan supaya senyawa yang didapat tidak rusak. Beberapa jenis metode ekstraksi dengan cara dingin, yaitu:

1) Maserasi

Maserasi termasuk ke dalam sediaan cair yang dibuat dengan cara merendam pelarut bahan menggunakan pelarut selama waktu tertentu. Metode ini bertahan dalam suhu 15-20 °C dalam waktu 3 hari. Keuntungan

menggunakan metode ini adalah peralatan yang digunakan sangat sederhana dan mudah (Marjoni, 2016).



Gambar 2.2 Maserasi (FDM, 2016)

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian yang dapat diperoleh dengan cara mengalirkan pelarut melalui serbuk simplisia yang telah dibasuh dengan air dulu selama waktu tertentu yang ditempatkan dalam wadah silinder dan diberi sekat berpori dibagian bawah (Marjoni, 2016).



Gambar 2.3 Perkolasi (Ivan, 2019).

2.2.2 Ekstraksi Cara Panas

Metode ini melibatkan pemanasan pada saat proses mengekstraksi berlangsung. Beberapa jenis dari metode ekstraksi dengan cara panas, yaitu:

1) Soxhletasi

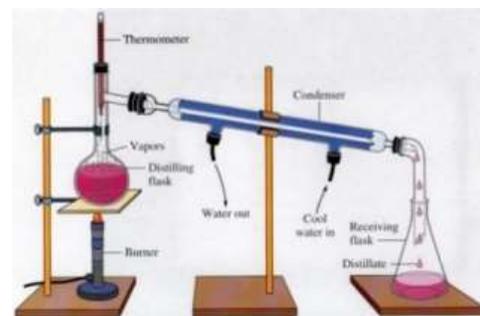
Soxhletasi merupakan proses pemisahan suatu pelarut yang mudah menguap dan bisa melarutkan senyawa kimia yang terdapat pada bahan tetapi tidak melarutkan zat padat yang tidak digunakan seperti pelarut n-heksan; eter; petroleum eter; alkohol. Keuntungan menggunakan metode ini waktu yang digunakan lebih efisien dan pelarut yang digunakan lebih sedikit (Marjoni, 2016).



Gambar 2.4 Soxhletasi (Agustin, 2023)

2) Destilasi

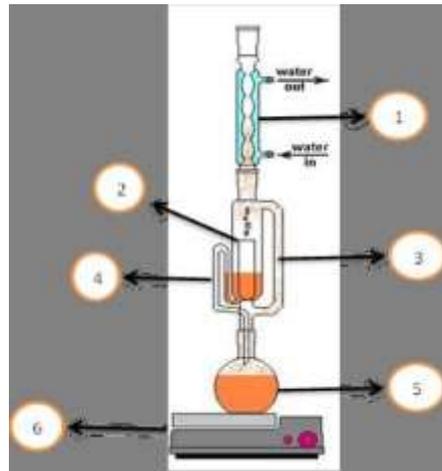
Destilasi merupakan proses ketika akan memurnikan suatu zat cair pada titik didihnya. Keuntungan menggunakan metode ini adalah peralatan yang digunakan lebih sederhana dan untuk penggunaannya yang lebih mudah (Marjoni, 2016).



Gambar 2.5 Destilasi (Anonym, 2020)

3) Refluks

Metode refluks digunakan untuk mengekstrak sampel yang relative tahan panas. Proses dilakukan dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut nya terbatas. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat disebut dengan proses ekstraksi sempurna (Marjoni, 2016).



Gambar 2.6 Refluks (Mantiq, 2015)

4) Infusa

Ekstraksi infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infusa memiliki kelebihan relative lebih murah dan untuk pembuatannya lebih aplikatif (Marjoni, 2016).



Gambar 2.7 Infusa (Siti, 2019)

5) Dekok

Ekstraksi dekok merupakan proses perebusan simplisia halus yang dicampur dengan air bersuhu $>90^{\circ}\text{C}$ dan diaduk secara berulang ketika saat proses

pemanasan dengan air selama 30 menit. Metode ini adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperature sampai titik didih air (Marjoni, 2016).



Gambar 2.8 Dekok (Suherman, 2019)

2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya, perubahan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan kerja enzim (Suryani *et al.*, 2020).

Klasifikasi kategori zona bening dari antibakteri oleh (Andayani, *et al.*, 2016) sebagai berikut:

Table 2.1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri

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

2.4 Bakteri

Bakteri adalah kelompok organisme mikroskop yang bersel tunggal, dan tidak memiliki membrane inti sel. Organisme ini memiliki dinding sel namun tidak berklorofil. Meskipun ukurannya kecil, bakteri berperan penting dalam kehidupan sehari-hari. Bakteri telah digunakan dalam sector industry pangan, bahan-bahan makanan dan bahkan berbahaya bagi makhluk hidup dengan menyebabkan infeksi dan penyakit bagi manusia (Setyoningsih *et al.*,2020)

Ukuran sel setiap jenis bakteri memiliki varian contoh pada bentuk bulat berdiameter 0,2-2,0 mikron dan bakteri terbesar memiliki lebar 1,5 mikron. Factor yang mempengaruhi sel antara lain umur, lingkungan dan lainnya. Adapun struktur sel bakteri menurut sebagai berikut:

1. Dinding sel adalah struktur kompleks dengan tebal 10-23 nano micron berfungsi memberikan bentuk sel dan melindungi isi sel dari pengaruh luar sel yang tersusun dari disakarida dan polipeptida.
2. Membrane plasma adalah struktur tipis berada dibawah dinding sel dan membungkus sitoplasma yang tersusun dari fosfolipid dan protein.

2.4.1 Bakteri *Escherichia coli*

1) Klasifikasi Bakteri

Domain	:Bacteria
Phylum	:Proteobacteria
Class	:Gammaproteobacteria
Order	:Enterobacteriales
Family	:Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

(Murwani, 2017)



Gambar 2.9 *Escherichia coli* (Khakim, 2018)

2) Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Sel bakteri ini memiliki panjang 2,0-6,0 μm , tersusun tunggal berpasangan. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada suhu 10-40°C, dengan suhu optimum 37°C. Bakteri *Escherichia coli* sangat sensitive terhadap kondisi panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi. Suhu pertumbuhan untuk bakteri ini yaitu 37°C, tetapi bakteri ini juga dapat tumbuh pada keadaan suhu 15-45°C. strain *Escherichia coli* tumbuh dengan baik hampir di semua media yang membentuk koloni halus, bulat, dan juga konveks dengan diameter 2-3 mm (Rahayu *et al*, 2018).

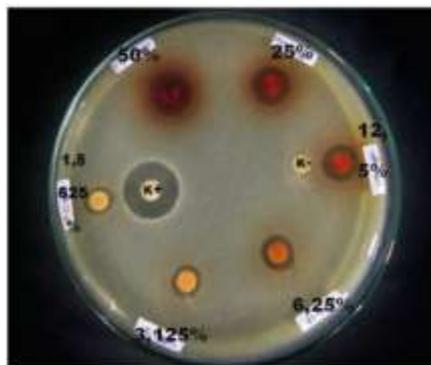
2.5 Metode Pengujian Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan untuk mengukur respon populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Berikut jenis metode yang dapat digunakan sebagai berikut:

2.5.1 Metode Difusi

1) Metode Difusi Cakram (*Disk*)

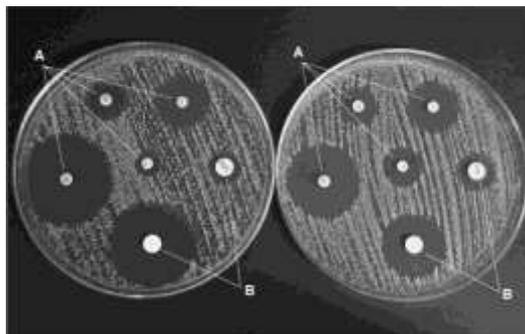
Metode cakram ini bertujuan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Dengan meletakkan piringan kertas cakram yang berisi antibakteri agar berdifusi kedalam agar (Octaviani *et al*, 2019).



Gambar 2.10 Metode Cakram (Octaviani *et al*, 2019).

2) Metode Difusi Parit (*Ditch*)

Metode parit ini dilakukan dengan cara meletakkan sampel uji berupa agen antibakteri kedalam parit yang dibuat dengan memotong media agar yang berada didalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur, kemudian bakteri digoreskan kearah parit yang sudah diisi agen antibakteri (Pratiwi, 2019).



Gambar 2.11 Metode Parit (Permatasari, 2019)

3) Metode Difusi Sumur (*Cup*)

Metode sumur ini dilakukan dengan membuat sumur pada media agar yang telah ditanami oleh mikroorganisme dan pada daerah sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Munculnya daerah yang bening disekitar parit menunjukkan adanya hambatan dari pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Nurhayati *et al*, 2020).



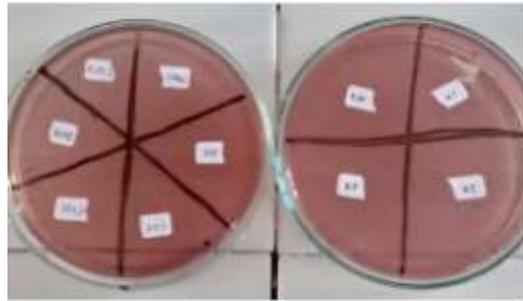
Gambar 2.12 Metode Sumur (Alouw, 2022)

2.5.2 Metode Dilusi

1) Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode dilusi cair memiliki tujuan untuk mengukur kadar hambat minimum ditentukan dari kadar terkecil agen

antibakteri yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan dari mikroba uji (Pratiwi, 2008).



Gambar 2.13 Metode Dilusi Cair (Fitriana, 2019)

2) Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

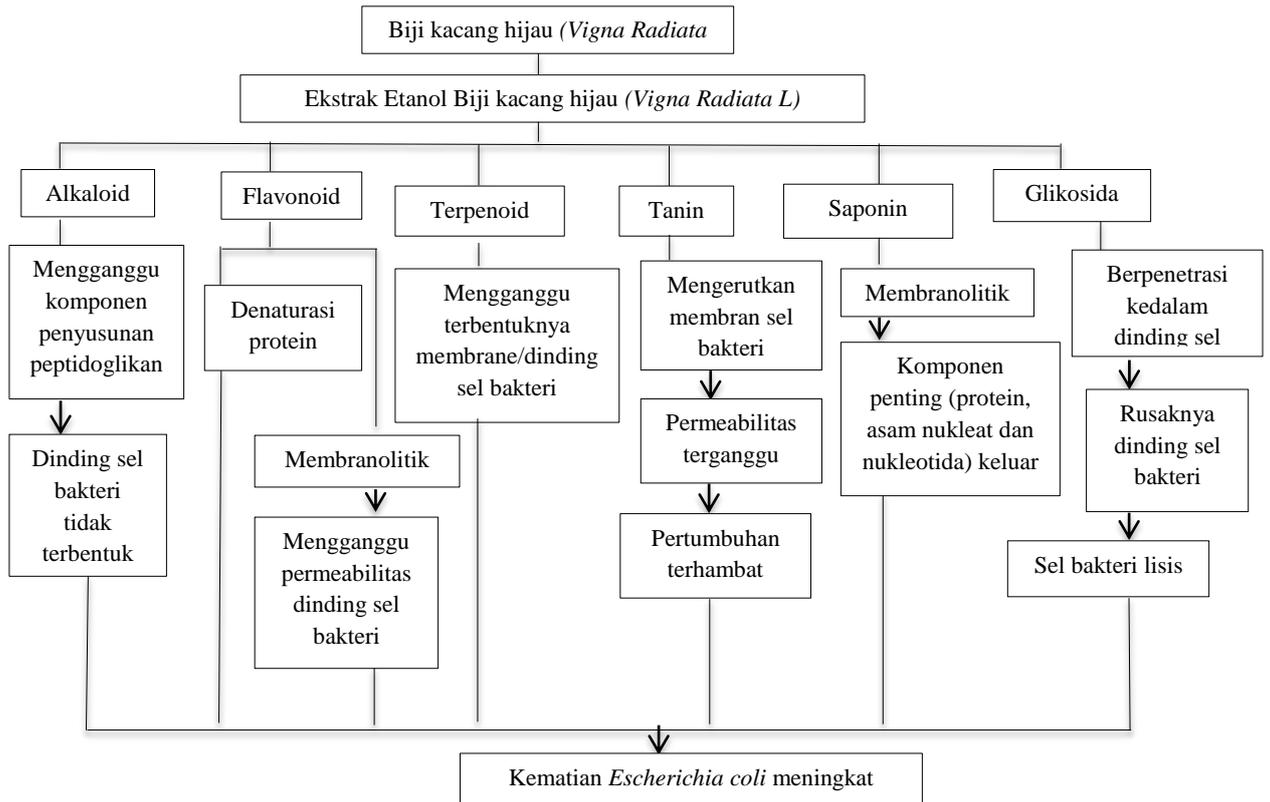
Metode dilusi padat ini menggunakan media padat, metode ini mirip dengan metode dilusi cair. Keuntungan ketika memakai metode ini adalah pada saat menguji beberapa bakteri uji hanya dapat menggunakan satu konsentrasi agen antibakteri (Pratiwi, 2008).



Gambar 2.14 Metode Dilusi Padat (Albab, 2020)

BAB 3. KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan: ————— : Menunjukkan bagian atau kandungan yang diteliti

—————> : Berpengaruh

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis merupakan suatu pernyataan yang bersifat sementara atau dugaan yang bersifat logis terkait dengan suatu populasi. Hipotesis juga merupakan parameter populasi. Dengan demikian hipotesis sangat perlu dibutuhkan dalam penelitian kuantitatif. Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

H_0 = Tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna Radiata L*) yang diekstraksi dengan metode sokhletasi terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan difusi sumuran.

H_a = Ada aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna Radiata L*) yang diekstraksi dengan metode sokhletasi terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan difusi sumuran.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *experimental laboratorium* menggunakan proses ekstraksi dengan pelarut. Desain penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kacang hijau (*Vigna Radiata L*) dengan menggunakan metode difusi sumuran terhadap bakteri *Escherichia coli*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah wilayah yang terdiri atas objek atau subjek yang memiliki kuantitas dan juga karakter tertentu yang sudah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian diambil kesimpulannya. Populasi dalam penelitian ini menggunakan biji kacang hijau (*Vigna Radiata L*) jenis VIMA 5 yang termasuk kedalam varietas paling banyak diminati dan dikonsumsi masyarakat. Diperoleh dari pasar tanjung dengan nama toko sembako al-qodiri diambil melalui distributor kacang hijau yang bertempat di jl. raden rahmat no.3, kelurahan jember kidul, talangsari, kabupaten jember, Jawa Timur 68131.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah suatu bagian kelompok populasi yang dipilih untuk digunakan sebagai objek suatu penelitian

(Amirullah,2015). Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak biji kacang hijau (*Vigna Radiata L*) dengan menggunakan pelarut etanol.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang sudah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiono, 2019:69). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel independen dan variabel dependen, adapun penjelasannya sebagai berikut:

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel independen atau variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi dan menjadi sebab timbulnya variabel dependen atau variabel terikat (Sugiono, 2016). Variabel bebas/independen dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kacang hijau (*Vigna Radiata L*) yang diekstraksi dengan metode sokhletasi.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel dependen atau variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat, karena adanya variabel independen atau variabel bebas (Sugiono, 2016). Variabel dependen atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri *Escherichia coli*.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2023 sampai selesai.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan suatu kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang telah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya (Sugiono, 2016). Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Ekstrak etanol kacang hijau (<i>Vigna Radiata L</i>)	Sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati menggunakan pelarut yang sesuai kemudian diuapkan	Mengukur % rendeman	Neraca analitik	Ekstrak kental etanol kacang hijau (<i>Vigna Radiata L</i>)	Rasio (mg)
2.	Kandungan metabolit sekunder Ekstrak etanol kacang hijau (<i>Vigna Radiata L</i>).	Hasil dari uji identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, glikosida dan terpenoid	Penambahan pereaksi reagen sesuai senyawa yang akan diuji	Tabung reaksi dan pipet tetes	Terbentuknya warna atau endapan pada setiap uji kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak kacang hijau	Nominal
3.	Aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	Zona hambat yang diukur dari daerah sekeliling lubang sumuran yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri.	Mengukur diameter zona hambat pada aera yang bening disekitar piringan lubang atau sumuran	Jangka sorong	Terbentuknya daerah hambat disekitar lubang sumuran pada konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%	Rasio (mm)

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi biji kacang hijau dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember untuk memastikan keaslian identitas dengan jelas bahwa biji kacang hijau yang diuji merupakan spesies *Vigna Radiata L.*

4.7.2 Pembuatan Serbuk kacang hijau (*Vigna Radiata L*)

Sebanyak 3 kg biji kacang hijau dicuci dilakukan untuk memisahkan pengotor yang melekat pada sampel dengan cara dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir, kemudian setelah bersih ditiriskan selama 15-20 menit lalu dikeringkan dengan cara di anginkan anginkan hingga kering. Selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 80 *mesh* sehingga diperoleh tepung kacang hijau (Susanty *et al*, 2019).

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*)

Timbang serbuk kacang hijau sebanyak 300 gram lalu dibungkus dengan kertas saring, ikat menggunakan benang dimasukkan ke dalam tabung sokhlet. Labu didih diisi dengan pelarut etanol sebanyak 3000 ml untuk serbuk kacang hijau kemudian pemanas dinyalakan pada suhu 50°C (melihat suhu terkecil yang memadai) dan proses ekstraksi dilakukan sampai 7 siklus selama 4 jam atau sampai cairan tidak berwarna. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan menggunakan rotary

evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Metode ini menggunakan bahan baku dan pelarut dengan rasio 1:10.

4.7.4 Skrining Fitokimia

1) Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak biji kacang hijau dilarutkan dalam 2 mL etanol, lalu disaring. Kemudian tambahkan serbuk magnesium (Mg) dan dikocok hingga homogeny. Lalu HCL pekat 1 mL . Hasil dikatakan positif apabila terbentuk warna menjadi kuning, merah atau jingga (Raudhatul *et al.*, 2017).

2) Uji Triterpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak biji kacang hijau dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan kloroform 2 mL dibiarkan 10 menit lalu dipisahkan filtratnya dan ditambahkan asam asetat anhidrat 1 mL dan H₂SO₄ pekat 1 mL. Perubahan warna merah – ungu kecoklatan menunjukkan adanya triterpenoid (Rahman *et al.*,2017).

3) Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak biji kacang hijau ditambahkan 10 mL aquades, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Akan terbentuk busa yang stabil selama tidak kurang dari 1 menit lalu ditambahkan HCl 2% buih

tidak hilang dikatakan positif mengandung saponin (Raudhatul *et al.*,2017).

4) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak kacang hijau dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 2 mL HCl 2% kemudian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi mayer. Terbentuk endapan berwarna putih pada tabung kedua menunjukkan adanya alkaloid (Raudhatul *et al.*, 2017).

5) Uji Glikosida

Sebanyak 1 gram ekstrak kacang hijau dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 5 mL asam asetat anhidrat P. asam sulfat P 10 tetes, perubahan warna menjadi biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida (Jannah *et al.*, 2017).

6) Uji Tannin

Sebanyak 0,1 gram ekstrak kacang hijau dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 2 mL aquades. Tambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif dinyatakan dengan adanya perubahan warna hitam kehijauan (Raudhatul *et al.*, 2017).

4.7.5 Pembuatan Media

1) Sterilisasi Alat dan Bahan

Pada saat sebelum melakukan pembuatan media dan pengujian antibakteri alat-alat yang akan digunakan perlu disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat non gelas disterilkan dengan menggunakan autoklaf dalam waktu 15 menit pada suhu 121°C. Sedangkan untuk alat-alat gelas disterilkan dengan oven pada suhu 160-170°C dalam waktu 1 jam. Kemudian media, kawat ose dan pinset menggunakan api Bunsen (Nurhamidin *et al*, 2021).

2) Pembuatan Media Agar Miring

Nutrient Agar (NA) sebanyak 2 gram dilarutkan dalam 100 mL aquadest menggunakan erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan diatas penangas air sampai mendidih dengan stirrer. Kemudian dituangkan pada tabung reaksi steril dan ditutup menggunakan alumunium foil. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama kurang lebih 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media ini digunakan untuk inokulasi bakteri (Nurhamidin *et al*, 2021).

3) Pembuatan Media Dasar

Media dasar dengan cara ditimbang Nutrient Agar (NA) sebanyak 3 gram lalu dilarutkan dalam 100 mL aquadest menggunakan erlenmeyer. Media lalu dihomogenkan dengan stirrer diatas hot plate sampai mendidih. Kemudian media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama waktu 15 menit. Media yang telah di sterilkan, didinginkan hingga suhu dapat digunakan sesuai kebutuhan (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.7.6 Pemiakan Bakteri *Escherichia coli*

Diambil bakteri menggunakan kawat ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Kemudian diinkubasi dalam incubator pada suhu 37 °C selama 24 jam (Nurhamidin *et al.*, 2021).

4.7.7 Pembuatan Larutan Standar 0,5 Mc. Farland

Pembuatan standar kekeruhan 0,5 *Mc. Farland* dibuat dari campuran H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL untuk dan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai untuk standar kekeruhan suspense bakteri uji (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.7.8 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Mengambil bakteri uji yang telah diinokulasi menggunakan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang telah diisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.7.9 Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan DMSO 10% dimana pelarut ini tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga aktivitas antibakteri hanya berasal dari larutan uji bukan pelarut yang digunakan. Untuk pembuatan DMSO dilarutkan dalam aquades dengan cara 10 mL DMSO dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan akuades sampai volumenya 100 mL. Dikocok sampai larutan homogeny (Syahrana *et al*, 2020).

Kontrol positif menggunakan kloramfenikol. Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul kloramfenikol 250 mg merupakan antibiotik spectrum luas yang berkhasiat bakteriostatik dan mekanisme kerjanya menghambat sintesis protein. kapsul Chloramfenicol dibuka, kemudian serbuk Chloramfenicol dilarutkan dengan larutan DMSO dalam labu ukur ukuran 50 mL sampai batas (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.7.10 Pembuatan Larutan Uji

Larutan stok dengan konsentrasi ekstrak 50% b/v dibuat dengan cara ditimbang 5 g ekstrak etanol biji kacang hijau

kemudian dilarutkan dalam larutan DMSO 10% hingga volume 10 mL menggunakan labu ukur. Selanjutnya dibuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi dengan cara sebagai berikut:

- 1) Larutan uji 10% v/v dibuat dengan cara dipipet 2 mL larutan stok kemudian ditambahkan 8 mL larutan DMSO.
 - 2) Larutan uji 20% v/v dibuat dengan cara dipipet 4 mL larutan stok kemudian ditambahkan 6 mL
 - 3) larutan DMSO Larutan uji 30% v/v dibuat dengan cara dipipet 6 mL larutan stok kemudian ditambahkan 4 mL larutan DMSO
 - 4) Larutan uji 40% v/v dibuat dengan cara dipipet 8 mL larutan stok kemudian ditambahkan 2 mL larutan DMSO
- (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.7.11 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

- 1) Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 15 mL NA ke masing-masing 6 cawan petri, kemudian dibiarkan memadat.
- 2) Setelah memadat, permukaan lapisan dasar ditanam 6 pencadang baja yang diatur jaraknya agar daerah pengamatan tidak bertumpu.
- 3) Mencampurkan suspensi bakteri ke dalam media pembedihan NA

- 4) Setelah lapisan memadat, pencadang diangkat secara aseptik menggunakan pinset dari masing-masing cawan petri, sehingga terbentuk sumur-sumur yang akan digunakan dalam uji bakteri.
- 5) Sumuran yang terbentuk diisi dengan larutan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif larutan DMSO dan larutan uji masing-masing sebanyak 50 mikroliter.
- 6) Selanjutnya semua media di inkubasi dalam incubator pada suhu 37 °C menggunakan suhu optimum dikarenakan organisme sel bakteri akan tumbuh dengan baik pada suhu tersebut dengan waktu selama 24 jam (Nurhamidin *et al*, 2021).

4.8 Teknik Analisis Data

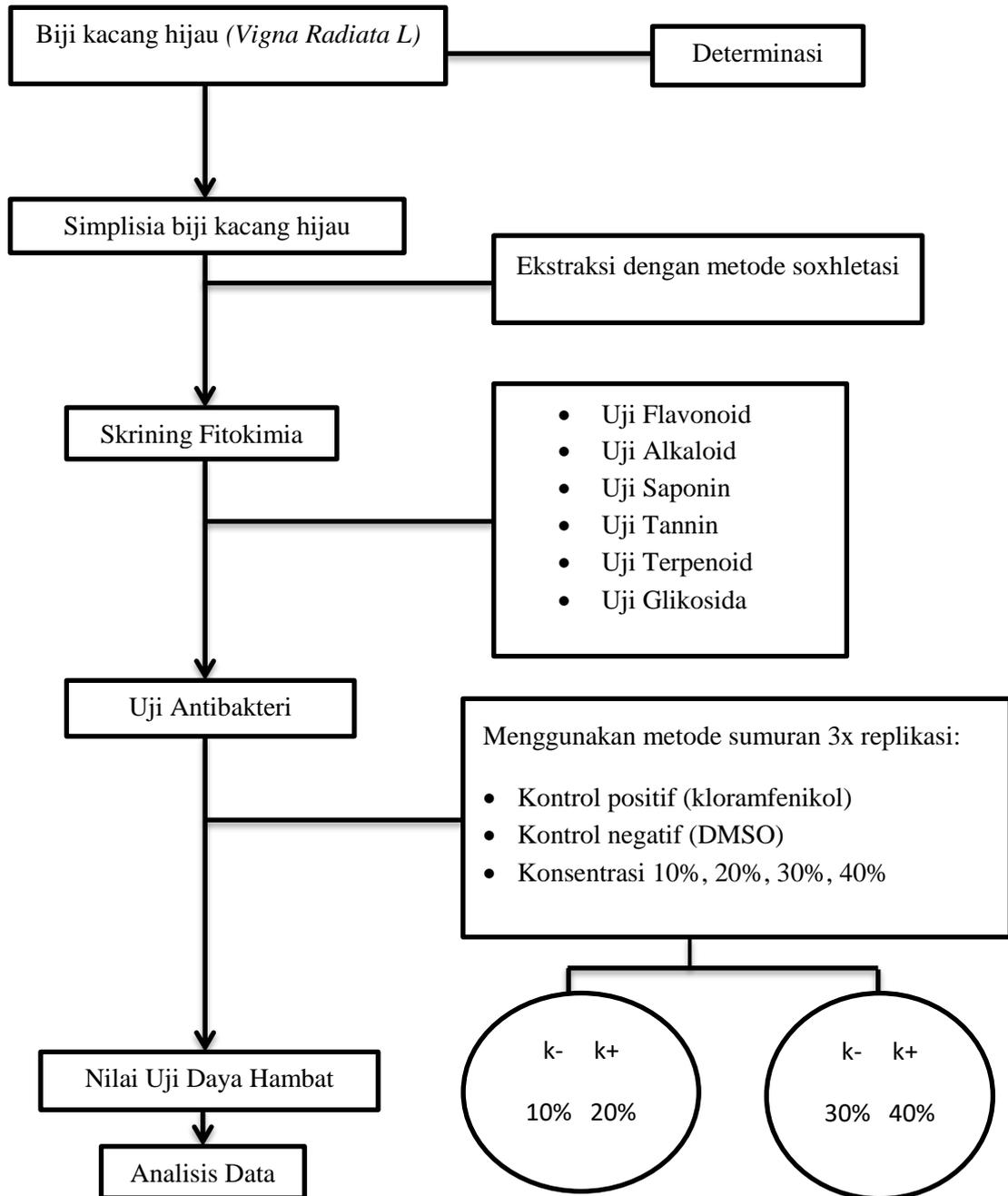
4.8.1 Pengumpulan Data

Pada saat pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang diukur dalam satuan mm. zona hambat merupakan zona yang berwarna bening pada daerah sekeliling lubang yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm. dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan.

4.8.2 Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis dengan statiska menggunakan *Statistical Program For Social Science* (SPSS). Diawali dengan menguji distribusi normalitas dan homogenitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen (nilai $p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*.

4.9 Kerangka Operasional



Gambar 4.2 Kerangka Operasional

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Determinasi Tanaman Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*)

Determinasi dilakukan di UPT Politeknik Negeri Jember. Hasil dari biji kacang hijau yang digunakan pada penelitian ini dapat diyakinkan masuk kedalam spesies dari *Vigna Radiata L.* yang termasuk didalam suku fabaceae. Hasil identifikasi kacang hijau dapat dilihat pada (lampiran 1).

5.2 Hasil Ekstraksi Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*)

Ekstraksi menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etanol diperlukan untuk mengekstraksi biji kacang hijau. Hasil sokhletasi biji kacang hijau dapat dilihat pada table 5.1 dan untuk perhitungan rendemen dapat dilihat pada (lampiran 7).

Tabel 5.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Kental

Replikasi	Bobot sampel	Bobot ekstrak kental	Bobot rendemen
1	300,02	22,23 gram \pm 0,199	7,40%
2	300,03	21,87 gram \pm 0,199	7,28%
3	300,04	22,20 gram \pm 0,199	7,39%
Rata-rata	300,03	22,10 gram	7,35 %

Sampel yang digunakan adalah biji kacang hijau yang diperoleh dari pasar tanjung dengan nama toko sembako al-qodiri diambil melalui distributor kacang hijau yang bertempat di jl. raden rahmat no.3, kelurahan jember kidul, talangsari, kabupaten jember dengan jenis kacang hijau VIMA 5 yang termasuk kedalam variates paling banyak diminati dan dikonsumsi masyarakat. Sebelum dilakukan ekstraksi biji kacang hijau disortir basah yang bermaksud mampu membersihkan daun dari kotoran beserta benda asing. Setelah itu dibersihkan menggunakan air bersih yang

mengalir kemudian ditiriskan. Tahap selanjutnya yaitu pengeringan dengan cara diangin-anginkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung, sortasi kering dilakukan untuk menghilangkan kotoran sehingga diperoleh simplisia biji kacang hijau yang dihaluskan menggunakan blender.

Serbuk yang telah halus kemudian diekstraksi dengan metode sokhletasi dan pelarut etanol. Pelarut organik yang digunakan untuk proses ekstaksi antara lain etanol karena bisa melarutkan semua bahan kimia metabolit sekunder, etanol merupakan pelarut yang universal tidak bersifat toxic serta penggunaannya aman (Rismayanti, 2021).

Pada penelitian ini, sampel sebanyak 300 gram di ekstraksi menggunakan metode sokhletasi dengan 3000 liter pelarut dengan perbandingan 1:10. Pemilihan metode sokhletasi lebih efektif dibanding dengan metode lain, karena cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan diperoleh hasil yang lebih pekat (Ilham syah, 2015). Setelah dilakukan ekstraksi pada kacang hijau, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, dimana merupakan suhu dibawah titik didih etanol yang bertujuan dapat melindungi senyawa yang terkandung dalam pelarut sehingga diperoleh hasil ekstrak kental dari kacang hijau dengan tiga kali replikasi menggunakan metode sokhletasi. Penimbangan serbuk dilakukan sebanyak 3 kali yang pertama adalah 300,02 gram, kedua 300,03 gram dan yang ketiga 300,04 gram sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 22,23 gram, 21,87 gram dan 22,20 gram. Sehingga

rata-rata bobot rendemen yang diperoleh dari ketiga replikasi sebesar 7,35 %.

5.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia digunakan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kacang hijau. Hasil skrining dapat dilihat pada table 5.2.

Tabel 5.2 Hasil skrining fitokimia kacang hijau (*Vigna Radiata L*).

Golongan Senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Etanol, serbuk magnesium (Mg) dan HCl pekat	Terbentuk warna menjadi kuning, merah atau jingga	Positif (+)	Berubah warna menjadi merah
Alkaloid	HCl dan mayer	Endapan berwarna putih	Negatif (-)	Tidak mengalami perubahan
Saponin	Aquadest dan HCl	Terdapat buih	Positif (+)	Terdapat busa yang stabil
Tannin	Aquadest dan FeCl ₃	Perubahan warna hitam kehijauan	Positif (+)	Berubah warna menjadi hitam kehijauan
Glikosida	Asam asetat anhidrat P. Asam sulfat P	Perubahan warna menjadi biru atau hijau	Negatif (-)	Tidak mengalami perubahan
Triterpenoid	Kloroform, asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄ pekat	Perubahan warna merah – ungu kecoklatan	Positif (+)	Berubah warna menjadi ungu kecoklatan

Keterangan :

(+) : Hasil Positif

(-) : Hasil Negatif

5.4 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna Radiata L*)

Pengujian standar kekeruhan Mc. Farland 0,5 dengan panjang gelombang 625 nm diperoleh hasil absorbansi 0,090 dan untuk bakteri

Escherichia coli diperoleh hasil absorbansi 0,093. Hasil uji kekeruhan dapat dilihat pada (lampiran 3).

Uji aktivitas antibakteri biji kacang hijau terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dilakukan pada perlakuan ekstrak biji kacang hijau, dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif pelarut DMSO. Hasil data aktivitas antibakteri hijau dapat dilihat pada table 5.3 dan (lampiran 10).

Tabel 5.3 Hasil uji aktivitas antibakteri kacang hijau (*Vigna Radiata L*)

Bakteri Uji	Bahan uji	Replikasi	Zona hambat (mm)	Rata – rata zona hambat $\bar{x} \pm SD$
<i>Escherichia coli</i>	Kontrol negatif	1	0	0 mm \pm 0 mm
		2	0	
		3	0	
	Kontrol positif	1	20,60	20,56 mm \pm 0,25 mm
		2	20,80	
		3	20,30	
Konsentrasi 10%	10%	1	11,01	11,04 mm \pm 0,03 mm
		2	11,04	
		3	11,08	
Konsentrasi 20%	20%	1	12,05	12,04 mm \pm 0,03 mm
		2	12,01	
		3	12,07	
Konsentrasi 30%	30%	1	12,96	12,83 mm \pm 0,15 mm
		2	12,87	
		3	12,66	
Konsentrasi 40%	40%	1	13,99	13,88 mm \pm 0,14 mm
		2	13,93	
		3	13,72	

Keterangan :

K+ = Kontrol positif (Kloramfenikol)

K- = Kontrol negatif (DMSO)

Data yang telah saya peroleh dari zona hambat yang paling kuat ditunjukkan oleh konsentrasi 40% dengan zona hambat sebesar 13,88 mm.

kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO.

5.5 Analisa Data

Uji one way ANOVA dilakukan untuk menilai statistic pengukuran zona hambat. Komputer SPSS dengan versi 25 digunakan untuk menguji zona hambat masing-masing konsentrasi ekstrak etanol biji kacang hijau apakah ada perbedaan yang berarti. Diameter zona bening ekstrak biji kacang hijau terhadap bakteri *Escherichia coli* diukur menggunakan nilai output SPSS dapat dilihat pada (lampiran 4).

Statistic digunakan untuk menganalisis data yang dikumpulkan, eksperimen menggunakan uji ANOVA satu arah. Konsentrasi ekstrak biji kacang hijau dan suspensi bakteri hanya dua variabel yang akan diperiksa, maka uji ANOVA satu arah dilakukan. Untuk uji ANOVA satu arah data penelitian harus memiliki varians yang sama dan terdistribusi normal kemudian data harus diperiksa dengan menggunakan SPSS versi 25, untuk normalitas dan homogenitas menggunakan *Saphiro Wilks*.

Hasil uji normalitas berdistribusi teratur, tingkat signifikan ($>0,05$) menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan hasil nilai signifikan ($>0,05$), maka dinyatakan bahwa data bersifat homogen. Uji one way ANOVA dilakukan setelah pengecekan normalitas dan homogenitas, hasil uji one way ANOVA memiliki nilai signifikan 0,000-0,05. Ditegaskan bahwa

penggunaan ekstrak biji kacang hijau (*Vigna Radiata L*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri.

Uji statistic ANOVA satu arah digunakan untuk menganalisis data dengan hasil analisis zona hambat yang diperoleh nilai signifikan $>0,05$, nilai p lebih besar dari 0,05 menyiratkan nilai residu standar normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas dan uji satu arah. Uji statistic ANOVA satu arah menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kacang hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan nilai signifikan $>0,05$.

Hasil uji analitik menunjukkan bahwa ekstrak biji kacang hijau pada konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut dengan menggunakan kloramfenikol sebagai acuan. Diameter zona hambat *Escherichia coli* pada replikasi pertama terdapat konsentrasi tertinggi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu konsentrasi 40% dengan nilai 13,88 mm. semua konsentrasi mampu menghentikan pertumbuhan bakteri ketika kloramfenikol terkendali.

BAB 6. PEMBAHASAN PENELITIAN

6.1 Hasil Uji Kandungan Fitokimia Kacang Hijau

Ekstrak kental biji kacang hijau diuji skrining fitokimia untuk memastikan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam biji kacang hijau tidak hilang pada saat melakukan proses penyaringan dan penguapan. Hasil dari penelitian ekstraksi biji kacang hijau dengan menggunakan metode ekstraksi sokhletasi dapat dibuktikan adanya golongan senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, glikosida dan triterpenoid.

Hasil uji skrining fitokimia yang pertama menunjukkan bahwa biji kacang hijau positif mengandung flavonoid dengan adanya perubahan warna menjadi merah, dimana flavonoid sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja terjadi denaturasi pada protein, proses ini menyebabkan adanya gangguan pada pembentukan sel dimana semakin lipofilik suatu flavonoid maka semakin kuat merusak dinding sel dari suatu bakteri (Raudhatul *et al.*, 2017).

Hasil uji skrining fitokimia yang kedua menunjukkan bahwa biji kacang hijau positif mengandung saponin dengan adanya busa yang stabil. Sebagai antibakteri saponin memiliki mekanisme kerja dengan cara merusak membrane sel. Dimana membrane sel berguna untuk substansi keluar masuknya sel ke dalam sel. Maka dengan itu rusaknya membrane sel mampu menyebabkan kematian sel itu karena hampir sama dengan kinerja detergen (Raudhatul *et al.*, 2017).

Kemudian yaitu yang ke tiga dimana hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa biji kacang hijau positif mengandung tannin dengan adanya perubahan warna menjadi hitam kehijauan. Sebagai antibakteri tannin memiliki mekanisme kerja dengan cara menginaktifkan enzim dan juga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel sehingga sel bisa mati (Raudhatul *et al.*, 2017).

Hasil uji skrining yang ke empat fitokimia menunjukkan bahwa biji kacang hijau positif mengandung triterpenoid dengan adanya perubahan warna menjadi ungu kecoklatan. Sebagai antibakteri senyawa triterpenoid memiliki mekanisme kerja yang bereaksi dengan adanya protein transmembran pada membrane luar dinding sel bakteri. Rusaknya protein ini mengakibatkan kekurangan nutrisi, sehingga bakteri terhambat dan mati (Rahman *et al.*, 2017).

Sedangkan pada hasil skrining fitokimia pada kedua metabolit sekunder menunjukkan bahwa biji kacang hijau negatif mengandung alkaloid dan glikosida. Dimana tidak adanya perubahan warna pada glikosida dan tidak terdapat endapan putih untuk alkaloid pada sampel, proses ini dapat terjadi dikarenakan adanya perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada suatu sampel dapat disebabkan oleh pelarut yang digunakan, proses pemanasan pada saat ekstraksi dan juga tempat tumbuh simplisia serta iklim pada suatu daerah (Yuliani, 2015).

Berdasarkan hasil yang didapatkan peneliti bahwa kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada biji kacang hijau masing – masing memiliki

mekanisme kerja yang saling bersinergis sehingga menambah aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

6.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kacang Hijau

Penelitian selanjutnya yaitu dilakukan uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui adanya antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol biji kacang hijau dengan cara mengukur zona bening pada area sekitar lubang sumuran. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kacang hijau yaitu metode difusi sumuran dengan medium yang digunakan adalah media Nutrient Agar (NA). Pemilihan metode difusi sumuran karena memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolate beraktivitas tidak hanya di bagian permukaan atas saja tetapi juga sampai bagian bawah nutrient agar (Hayati *et al.*, 2019).

Metode ini dilakukan untuk mengetahui besar diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* setelah diinkubasi 1x24 jam. Larutan ekstrak etanol biji kacang hijau akan keluar untuk menghambat pertumbuhan mikroba pada medium. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong dengan ketelitian millimeter (mm).

Medium nutrient agar (NA) digunakan karena medium ini baik untuk tempat tumbuhnya bakteri gram positif ataupun negatif dimana dapat digunakan sebagai tempat sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri yang sebelumnya disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dalam kurun waktu selama 15 menit, kemudian dituang ke dalam cawan petri lalu

dimasukkan cork borer untuk membuat lubang sumuran lalu ditunggu hingga memadat. Pengerjaan ini dilakukan secara aseptis ke dalam cawan petri agar tidak terkontaminasi bakteri ataupun jamur lain pada saat proses pengerjaan menggunakan biosafety cabinet.

Setelah itu dimasukkan kultur bakteri sebanyak 100 μ L ke dalam masing – masing cawan petri kemudian ditambahkan nutrient agar (NA) untuk lapisan kedua tunggu hingga memadat. Kemudian setelah memadat cork borer diangkat menggunakan pinset sehingga terbentuk sumur-sumur yang akan digunakan dalam uji bakteri . Sumuran yang terbentuk diisi dengan larutan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif larutan DMSO dan larutan uji masing-masing 10%, 20%, 30% dan 40% sebanyak 50 mikroliter Selanjutnya semua media di inkubasi dalam incubator pada suhu 37 °C menggunakan suhu optimum dikarenakan organisme sel bakteri akan tumbuh dengan baik pada suhu tersebut dengan waktu selama 24 jam (Nurhamidin *et al*, 2021).

Pada table 5.3 menunjukkan diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* mempunyai perbedaan bermakna terhadap kontrol positif dan berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji kacang hijau yaitu 10%, 20%, 30% dan 40%. Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol, fungsi kontrol positif yaitu sebagai pembanding daya hambat yang dihasilkan ekstrak biji kacang hijau. Kontrol negatif yang digunakan adalah *Dimethyl Sulphoxide* (DMSO). Fungsi kontrol negatif yaitu untuk mengetahui bahwa tambahan dari pelarut ini tidak memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan tidak munculnya

zona bening, sehingga dapat dikatakan bahwa kontrol negatif tidak mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini juga menandakan jika DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri, dan dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh DMSO (Huda *et al.*, 2019).

Kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan dengan kontrol negatif dan juga konsentrasi ekstrak biji kacang hijau, karena menghasilkan aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat paling besar terhadap bakteri uji *Escherichia coli* yaitu 20,56 mm.

Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu kloramfenikol. Dimana obat ini merupakan antibiotik spectrum luas yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri dan kuman anaerob. Kloramfenikol adalah antibiotik yang mempunyai aktivitas bakteristatik dan pada dosis tinggi bersifat bakterisidal. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah mampu menghambat sintesis protein dengan jalan mengikat ribosom yang merupakan langkah penting dalam pembentukan ikatan peptide (Anonim, 2022).

6.3 Hasil Uji Zona Hambat Paling Kuat

Kriteria kekuatan daya antibakteri antara lain, diameter zona hambat <5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan memiliki nilai sedang, diameter zona hambat 10-20 mm memiliki kategori kuat dan diameter zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat. Setelah dilakukan penelitian maka mendapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat diperoleh rata-rata untuk konsentrasi 10% tergolong kategori kuat

dengan rata-rata zona hambat (11,04 mm), konsentrasi 20% tergolong kategori kuat dengan rata-rata zona hambat (12,04 mm), konsentrasi 30% tergolong kategori kuat dengan rata-rata zona hambat (12,83 mm), sedangkan konsentrasi 40% tergolong kategori kuat dengan rata-rata zona hambat (13,88 mm) dan untuk kontrol positif termasuk kategori sangat kuat dengan rata-rata zona hambat (20,56 mm).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa biji kacang hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona hambat. Pada bakteri *Escherichia coli* memberikan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 40% dengan diameter zona hambat 13,88 mm.

Pada tabel 5.3 membuktikan bahwa zona hambat paling tinggi yaitu 40% menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji kacang hijau, maka daya hambat yang diberikan semakin kecil. Hal ini berbanding terbalik dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Nurhamidin (2021) menunjukkan hasil diameter zona hambat paling kuat ditunjukkan oleh ekstrak n-heksan biji buah langsung pada konsentrasi 10% (konsentrasi paling kecil). Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi maka membuat tingkat kelarutan menurun sehingga zat aktif tidak dapat berdifusi ke dalam agar sehingga diperoleh daya hambat yang berkurang (Dwika *et al.*, 2016).

Salah satu factor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba yaitu konsentrasi bahan dari antimikroba. Hasil daya hambat oleh bahan antimikroba akan semakin tinggi apabila konsentrasinya juga tinggi. Hal tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji

kacang hijau, maka semakin baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dibuktikan dengan semakin besar konsentrasi atau zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, proses ini juga disebabkan oleh banyaknya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid yang terkandung didalamnya dan mengakibatkan aktivitas antibakteri yang semakin besar serta proses ekstraksi perlu menggunakan ekstraksi dengan cara dingin untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal (Maramis, 2022).

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Biji kacang hijau (*Vigna Radiata L*) terdapat zat aktif yang terdiri dari flavonoid, tannin, saponin dan juga triterpenoid yang berperan sebagai antibakteri.
2. Untuk uji antibakteri mendapatkan hasil pengukuran diameter rata-rata zona hambat bakteri *Escherichia coli* untuk konsentrasi 10% (11,04 mm), konsentrasi 20% (12,04 mm), konsentrasi 30% (12,83 mm), dan konsentrasi 40% (13,88 mm) termasuk dalam kategori kuat.
3. Pada bakteri *Escherichia coli* memberikan zona hambat paling kuat pada konsentrasi 40% dengan diameter zona hambat 13,88 mm.

7.2 Saran

1. Peneliti selanjutnya disarankan untuk menggunakan ekstraksi metode cara dingin untuk tetap mempertahankan senyawa yang terkandung didalam kacang hijau.
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan bakteri lain untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol biji kacang hijau sebagai zat antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Mubarak, Z. and Rinanda, D.R. (2016) 'Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro', *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), pp. 202–204.
- Candra, L.M.M., Andayani, Y. and Wirasisya, D.G. (2021) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.)', *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), pp. 397–405..
- Dwika, W. *et al.* (2016) 'Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L) Di Bali (Identification Of Chemical Compounds Ethanol Extract Leaf Moringa (*Moringa Oleifera* L) In Bali)', *Indonesia Medicus Veterinus Oktober*, 5(5), Pp. 464–473.
- Eny, R. (2017) *Aktivitas Antioksidan Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) yang Difermentasi Oleh Ragi Tempe.*
- Hayati, L.N. *et al.* (2019) 'Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), p. 76.
- Huda, C. *Et Al.* (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat', 3(1).
- Jannah, R., Husni, M.A. And Nursanty, R. (2017) *Inhibition Test Of Methanol Extract From Soursop Leaf (*Annona Muricata* Linn.) Against *Streptococcus Mutans Bacteria**, *Jurnal Natural*.*
- Maramis, A.Y. and Asri, M.T. (2022) 'Uji Aktivitas Antibakteri Hand Sanitizer Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*', *LenteraBio*, 11(3), pp. 554–561.
- Munandar, A. *Et Al.* (2023) 'Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna Radiata* (L.) Wilczek) Dengan Metode Bslt Phytochemical Screening And Cytotoxicity Testing Of Ethanol Extract Of Green Bean Sprout (*Vigna Radiata* (L.) Wilczek) Wi', 2(2), Pp. 214–223.
- Nugroho (2022) 'Hijau Dengan Kombinasi Jahe Merah Physical Chemical Properties and Antibacterial Activity of Kefir Mung Bean Milk With Red Ginger', IV(1), pp. 40–46.
- Nurhamidin, A.P.R., Fatimawali, F. And Antasionasti, I. (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (*Lansium Domesticum*

- Corr) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Klebsiella Pneumoniae', *Pharmacon*, 10(1), P. 748.
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. and Hidayatulloh, A. (2020) 'Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram', *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), p. 41.
- Octaviani, M., Fadhli, H. and Yuneistya, E. (2019) 'Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of Shallot (*Allium cepa* L.) Peels Using the Disc Diffusion Method', *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(1), pp. 62–68.
- Qodariyah, L.N., Lestari, F. and Suwendar (2015) 'Pengaruh Pemberian Infusa Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wiclzek) terhadap Daya Ingat Mencit Swiss Webster Jantan Menggunakan Metode Labirin', *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba 2015*, (2012), pp. 205–209.
- Rahayu, W.P., Nurjanah, S. and Komalasari, E. (2018) 'Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 1(5), pp. 1–151.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T. and Utami, T.W. (2017) 'Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668', *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), p. 1.
- Raudhatul Jannah, Muhammad Ali Husni And Risa Nursanty (2017) 'Inhibition Test Of Methanol Extract From Soursopleaf (*Annona muricata* Linn.) Against *Streptococcus Mutans* Bacteria', *Jurnal Natural*, 17(1), Pp. 11–12.
- Rismayanti AD, Lestari EP, Widayanti S, H.R. (2021) 'Uji Stabilitas Formulasi Masker Peel Off Ekstrak Etanol Batang Sempeng (*Nepentes Gracilis* Korth)', ... *Research Journal*, 2(1), pp. 1–10.
- Setyoningsih, G.R., Pantjajani, T. and Irawati, F. (2020) 'Kefir Susu Kacang Merah (*Phaseolus Vukgaris*) dengan Gula Aren (Palm Sugar)', 9(September).
- Susanty, S., Yudistirani, S.A. and Islam, M.B. (2019) 'Metode ekstraksi untuk perolehan kandungan flavanoid tertinggi dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam)', *Jurnal Konversi*, 8(2), pp. 31–36.
- Syahrana, P.R., Mustika, A. and Faizi, M. (2020) 'Efek Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Murine Sepsis Score (MSS) Mencit Sepsis yang Diinduksi *Shigella dysenteriae*', *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), p. 95.
- Yuliani, N.N. and Dienina, D.P. (2015) 'Uji aktivitas antioksidan infusa daun

kelor (Infusa Moringa)', *Jurnal Info Kesehatan*, 14(2), pp. 1060–1082.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. 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: 074/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1032/FIKES.UDS/U/II/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Rizky Amalia Eka Agustin
NIM : 19040115
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi / Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Divisio: Spermatophyta; Sub Divisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Rosales; Famili: Papilionaceae/ Leguminaceae; Genus: Vigna; Spesies: Vigna radiata, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 April 2023
Ka. UPA, Pengembangan Pertanian Terpadu

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

Lampiran 2. Surat bakteri Escherichia coli



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI**

UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-332988, 330738 Fax: 0331-334988 Laman: www.fkip.unej.ac.id

SURAT KETERANGAN ISOLAT
No: 008/ISOLAT/V/2023

Diberikan kepada : Rizky Amalia
Asal Instansi : Universitas dr. Soebandi

Menyatakan bahwa;
Isolat bakteri yang dibeli merupakan isolat *E.coli*

Isolat	Media	Kemasan	Warna koloni	Bentuk sel (gram)
<i>E.coli</i>	EMBA (Eosin Metylen blue Agar)	Tube (tabung reaksi/agar slant)	Koloni berwarna hijau metallic pada media EMBA	Basil, gram -

**Isolat berasal dari isolasi daging

Jember, 16 Mei 2023
Kepala Laboratorium P. Biologi,

Kamalija Fikri, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19840223 201012 2 004

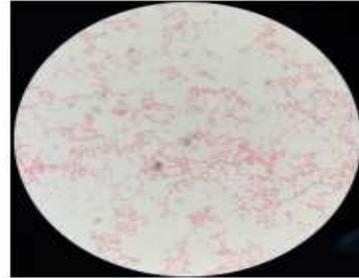


KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-332988, 330738 Fax: 0331-334988 Laman: www.fkip.unej.ac.id

Lampiran pendukung



Koloni berwarna hijau metallic pada media EMBA.



Pengamatan sel bakteri (perbesaran 1000x)



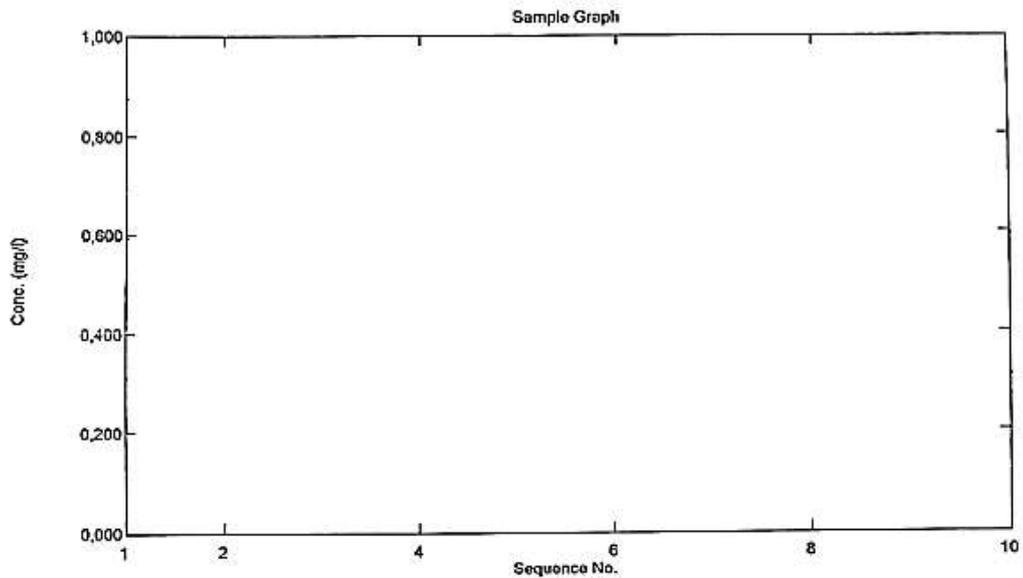
Uji indol (positif berwarna merah)

Lampiran 3. Hasil Mc Farland dan Suspensi Bakteri

Sample Table Report

12/06/2023 13:20:41

File Name: C:\Users\ACER\Documents\bakteri tim\meli.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Comments
1	StandartMcFa	Unknown		*****	0,090	
2	Ecoli	Unknown		*****	0,093	
3						

Lampiran 4. Hasil Uji Statistik

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Replikasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Daya_Hambat	Kontrol positif	.219	3	.	.987	3	.780
	10%	.204	3	.	.993	3	.843
	20%	.253	3	.	.964	3	.637
	30%	.269	3	.	.949	3	.567
	40%	.304	3	.	.907	3	.407

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Daya_Hambat	Based on Mean	2.730	4	10	.090
	Based on Median	1.183	4	10	.375
	Based on Median and with adjusted df	1.183	4	5.481	.412
	Based on trimmed mean	2.606	4	10	.100

3. Uji One Way

ANOVA					
Daya_Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	171.145	4	42.786	1957.288	.000
Within Groups	.219	10	.022		
Total	171.364	14			

4. Uji ducan

Daya_HambatDuncan^a

Replikasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
10%	3	11.0433				
20%	3		12.0433			
30%	3			12.8300		
40%	3				13.8800	
Kontrol positif	3					20.5667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 5. Proses pembuatan serbuk



Membeli biji kacang ijo sebanyak 3 kg



Proses pencucian dan pengeringan pada biji kacang hijau



Proses blender biji kacang hijau



Serbuk kacang hijau siap digunakan

Lampiran 6. Proses Ekstraksi Sokhletasi



Proses ekstraksi sokhletasi serbuk kacang hijau dengan pelarut etanol



Hasil esktraksi sampel kemudian di rotary evaporator



Menimbang hasil ekstrak kental

lampiran 7. Perhitungan

1. Perhitungan hasil rendemen

Bobot simplisia awal = 300 gram

Berat ekstrak akhir = 22,2 gram

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak akhir}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\% \\ &= \frac{22,2 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,40\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan media

- Nutrient agar (NA) = 20 gram ~ 1000 mL

$$= x \sim 250 \text{ mL}$$

$$= \frac{20 \text{ gram} \times 250 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 5 \text{ gram} \sim 250 \text{ mL}$$

Caranya :

Ambil nutrient agar lalu ditimbang sebanyak 5 gram kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer tambahkan aquadest ad 100 mL

- Nutrient broth (NB) = 8 gram ~ 1000 mL

$$= x \text{ gram} \sim 50 \text{ mL}$$

$$= \frac{8 \text{ gram} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} = 0,8 \text{ gram} \sim 50 \text{ mL}$$

Caranya :

Ambil nutrient broth lalu ditimbang sebanyak 0,8 gram kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer tambahkan aquadest ad 50 mL

3. Pembuatan larutan Mc Farland 0,5

- BaCl 1% = 1 gram ~ 100 mL

= x gram ~ 100 mL

X = 1 gram dalam 100 mL aquadest

- H₂SO₄ 1% = 1 mL dalam 100 mL

= x mL ~ 100 mL

X = 1 mL dalam 100 mL aquadest

Caranya :

Ambil BaCl sebanyak 0,05 mL dengan menggunakan pipet ukur masukkan ke tabung reaksi, setelah itu ambil H₂SO₄ sebanyak 9,95 mL dengan pipet ukur masukkan ke tabung reaksi kemudian di vortex hingga homogen. Lalu amati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm, rentang 0,08 – 0,13.

4. Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli*

NaCl 0,9% = 0,9 gram ~ 100 mL

= x gram ~ 100 mL

X = 0,9 gram dalam 100 mL aquadest

Caranya :

Ambil dari larutan NaCl dengan jumlah 10 mL lalu masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan kultur bakteri sebanyak 50 µL dan di vortex hingga homogen. Setelah itu amati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm, rentang 0,08 – 0,13.

5. Pembuatan konsentrasi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif

- K- dengan DMSO 10% = 10 mL ~ 100 mL
= x gram ~ 100 mL
X = 10 mL dalam 100 mL aquadest
- K+ dengan chloramphenicol 0,5 gram dilarutkan dalam larutan DMSO 5 mL lalu diambil 50 μ L
- Larutan uji 10% v/v dibuat dengan cara dipipet 2 mL larutan stok kemudian ditambahkan 8 mL larutan DMSO.
- Larutan uji 20% v/v dibuat dengan cara dipipet 4 mL larutan stok kemudian ditambahkan 6 mL larutan DMSO
- Larutan uji 30% v/v dibuat dengan cara dipipet 6 mL larutan stok kemudian ditambahkan 4 mL larutan DMSO
- Larutan uji 40% v/v dibuat dengan cara dipipet 8 mL larutan stok kemudian ditambahkan 2 mL larutan DMSO.

Lampiran 8. Skrining fitokimia



Bahan pereaksi yang digunakan ketikan uji skrining



Hasil skrining uji fitokimia pada ekstrak kacang hijau

Lampiran 9. Proses perlakuan bakteri



Perlengkapan Alat



Pembuatan Natrium Agar



sterilisasi autoklaf



Pembuatan agar miring



Pembuatan suspense



Pembuatan Mc farland



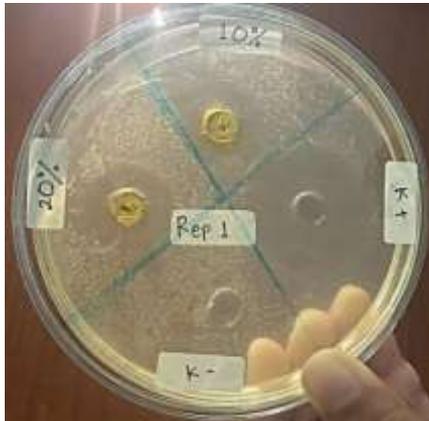
Kontrol positif dan negative



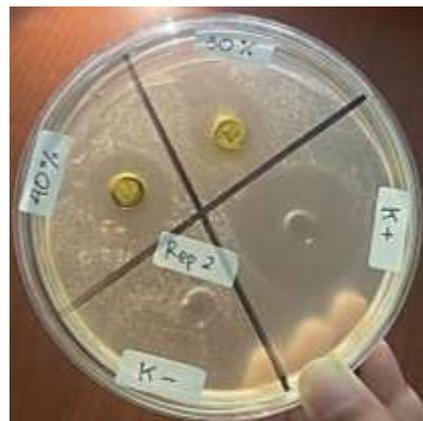
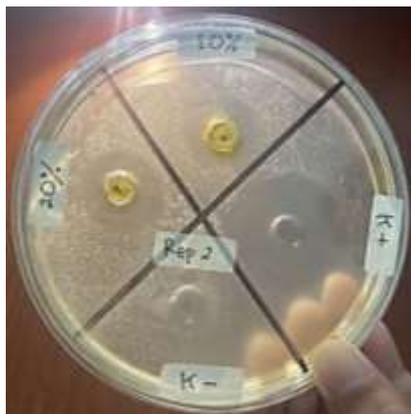
Pembuatan Konsentrasi



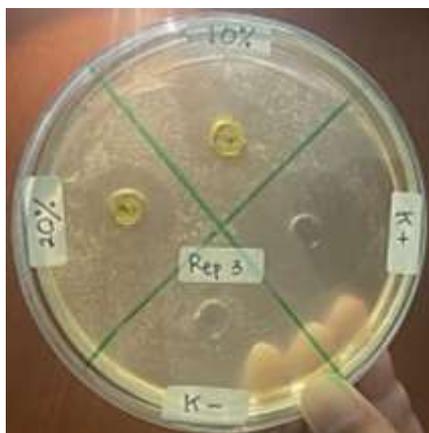
Proses perlakuan di biosafety

Lampiran 10. Pengukuran zona hambatan

Hasil replikasi 1



Hasil replikasi 2



Hasil replikasi 3

Lampiran 11. Jadwal Penyusunan naskah skripsi

No.	Kegiatan	Februari	Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agustus
1.	Penyusunan proposal							
	- Bimbingan							
	- Revisi							
	- Fixasi proposal							
2.	Seminar Proposal							
3.	Proses penyiapan bahan dan ekstrak							
4.	Proses pelaksanaan penelitian							
	- Ekstraksi							
	- Skrining fitokimia							
	- Pembuatan media							
	- Pemiakan bakteri							
	- Pembuatan larutan mc farland							
	- Pembuatan suspense bakteri uji							
	- Pembuatan konsentrasi							
	- Uji aktivitas antibakteri							
5.	Proses penyusunan hasil skripsi							
6.	Seminar hasil skripsi							