

## ABSTRAK

Lola Sagita Sinta Sari. 24020121140125. Uji Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Dan Etanol Mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Laboratorium Bioteknologi, FSM, Universitas Diponegoro, Semarang dibawah bimbingan Arina Tri Lunggani dan Endang Kusdiyantini.

Tuban merupakan salah satu daerah penghasil siwalan (*Borassus flabellifer* L.) terbesar di Indonesia, namun pemanfaatan bagian mesokarp buah siwalan masih sangat terbatas dan sering kali dianggap sebagai limbah. Mesokarp siwalan mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang memiliki potensi sebagai antibakteri alami. Di sisi lain, infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masih sering ditemukan, terutama akibat kurangnya kebersihan pada saluran pencernaan dan kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-heksana, kemudian diuji aktivitas antibakterinya melalui metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak sebesar 25%, 50%, dan 75%, disertai kontrol positif (Ciprofloxacin) dan negatif (DMSO 10%). Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Analisis data dilakukan menggunakan uji Two-Way ANOVA dengan SPSS (*Statistical Program of Social Science*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 3 pelarut, ekstrak etanol memiliki daya hambat paling tinggi dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*, dengan daya hambat tertinggi ditemukan pada konsentrasi 75%, yakni rata-rata zona hambat sebesar 9,67 mm terhadap *S. aureus* dan 8,1 mm terhadap *E. coli*. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol mesokarp buah siwalan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap bakteri gram positif, serta berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami yang ramah lingkungan.

**Kata kunci:** siwalan, mesokarp, antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

## ABSTRACT

Lola Sagita Sinta Sari. 24020121140125. Antibacterial Activity Test of n-Hexane, Ethyl Acetate, and Ethanol Extracts of Siwalan Mesocarp (*Borassus flabellifer* L.) Against the Growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Biotechnology Laboratory, Faculty of Science and Mathematics, Diponegoro University, Semarang, under the guidance of Arina Tri Lunggani and Endang Kusdiyantini.

Tuban is one of the largest producers of siwalan (*Borassus flabellifer* L.) in Indonesia. However, the utilization of the mesocarp part of the siwalan fruit remains very limited and is often considered waste. The siwalan mesocarp contains bioactive compounds such as flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids, which have the potential to act as natural antibacterial agents. On the other hand, infections caused by pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are still commonly found, particularly due to poor hygiene in the digestive tract and skin. This study aims to examine the antibacterial activity of n-hexane, ethyl acetate, and ethanol extracts of siwalan mesocarp against *E. coli* and *S. aureus*. Extraction was carried out using the maceration method with ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. The antibacterial activity was then tested using the disc diffusion method with extract concentrations of 25%, 50%, and 75%, accompanied by positive control (Ciprofloxacin) and negative control (10% DMSO). The tests were conducted in triplicate. Data analysis was performed using Two-Way ANOVA with SPSS (Statistical Program of Social Science). The results showed that among the three solvents, the ethanol extract exhibited the highest inhibitory effect on the growth of *E. coli* and *S. aureus*, with the strongest inhibition observed at a 75% concentration. The average inhibition zone was 9.67 mm against *S. aureus* and 8.1 mm against *E. coli*. These findings indicate that the ethanol extract of siwalan mesocarp has more effective antibacterial activity against Gram-positive bacteria and has the potential to be developed as an environmentally friendly natural

**Keywords:** siwalan, mesocarp, antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

## DAFTAR ISI

|                                                                |                              |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------|
| HALAMAN PENGESAHAN.....                                        | Error! Bookmark not defined. |
| KATA PENGANTAR.....                                            | iii                          |
| ABSTRAK .....                                                  | iv                           |
| ABSTRACT .....                                                 | v                            |
| DAFTAR ISI .....                                               | vi                           |
| DAFTAR TABEL.....                                              | viii                         |
| DAFTAR GAMBAR .....                                            | ix                           |
| I. PENDAHULUAN .....                                           | 1                            |
| 1.1 Latar Belakang .....                                       | 1                            |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                      | 5                            |
| 1.3 Tujuan.....                                                | 5                            |
| 1.4 Manfaat .....                                              | 5                            |
| II. TINJAUAN PUSTAKA .....                                     | 6                            |
| 2.1 Siwalan ( <i>Borassus flabellifer</i> L.) .....            | 6                            |
| 2.2 Klasifikasi Siwalan ( <i>Borassus flabellifer</i> L.)..... | 8                            |
| 2.3 Kandungan Siwalan ( <i>Borassus flabellifer</i> L.).....   | 8                            |
| 2.4 Senyawa Antibakteri .....                                  | 9                            |
| 2.5 Ekstraksi.....                                             | 14                           |
| 2.6 Bakteri uji.....                                           | 18                           |
| 2.6.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....                    | 18                           |
| 2.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                       | 21                           |
| 2.7 Skrining Fitokimia .....                                   | 24                           |
| 2.8 Uji Aktivitas Antibakteri .....                            | 27                           |
| 2.9 Hipotesis.....                                             | 29                           |
| METODE PENELITIAN.....                                         | 30                           |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....                           | 30                           |
| 3.2 Alat.....                                                  | 30                           |
| 3.3 Bahan.....                                                 | 30                           |
| 3.4 Cara Kerja Penelitian .....                                | 31                           |
| 3.4.1 Sterilisasi alat .....                                   | 31                           |
| 3.4.2 Tahapan Pembuatan Serbuk Simplisia .....                 | 31                           |

|         |                                                                                                                       |    |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.4.3.  | Pembuatan Ekstrak dengan Metode Maserasi.....                                                                         | 32 |
| 3.4.4.  | Penentuan Kontrol Positif dan Negatif .....                                                                           | 36 |
| 3.4.5.  | Uji Fitokimia .....                                                                                                   | 37 |
| 3.4.6.  | Pembuatan Media.....                                                                                                  | 38 |
| 3.4.7.  | Pemurnian Bakteri.....                                                                                                | 40 |
| 3.4.8.  | Pembuatan Suspensi Kultur Bakteri Uji .....                                                                           | 41 |
| 3.4.9.  | Uji aktivitas Antibakteri .....                                                                                       | 42 |
| 3.4.10. | Pengamatan dan pengukuran .....                                                                                       | 42 |
| 3.5.    | Rancangan Percobaan .....                                                                                             | 44 |
| 3.6.    | Analisis Data .....                                                                                                   | 46 |
| IV.     | HASIL DAN PEMBAHASAN.....                                                                                             | 47 |
| 4.1.    | Ekstraksi Mesokarp Siwalan.....                                                                                       | 47 |
| 4.2.    | Analisis Hasil Uji Fitokimia .....                                                                                    | 50 |
| 4.3.    | Uji Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan n-Heksana Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> ..... | 53 |
| 4.5.    | Analisis Data .....                                                                                                   | 71 |
| V.      | KESIMPULAN.....                                                                                                       | 74 |
| 5.1.    | Kesimpulan .....                                                                                                      | 74 |
| 5.2.    | Saran.....                                                                                                            | 74 |
|         | DAFTAR PUSTAKA .....                                                                                                  | 75 |
|         | UCAPAN TERIMA KASIH .....                                                                                             | 83 |
|         | LAMPIRAN.....                                                                                                         | 86 |
|         | DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....                                                                                             | 98 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 2.1. Kriteria Kekuatan Daya Antibakteri .....                              | 13 |
| Tabel 3.1. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Mesokarp Siwalan.....                 | 34 |
| Tabel 3.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>E. coli</i> .....         | 44 |
| Tabel 3.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S. aureus</i> .....       | 44 |
| Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak dengan Variasi Pelarut.....                     | 48 |
| Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Mesokarp Siwalan.....                              | 50 |
| Tabel 4.3 Rata-Rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> .....   | 52 |
| Tabel 4.4 Rata-Rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> ..... | 52 |
| Tabel 4.4.1 Hasil Uji GC-MS Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan.....                 | 63 |
| Tabel 4.4.2. Karakterisasi Senyawa Pada Mass Spektra (MS).....                   | 64 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1. Pohon Siwalan .....                                                   | 7  |
| Gambar 2.6.1. <i>Escherichia coli</i> Perbesaran 1000x .....                      | 21 |
| Gambar 2.6.2. <i>Staphylococcus aureus</i> Perbesaran 1000x.....                  | 24 |
| Gambar 4.3. Hasil Uji Antibakteri Mesokarp Siwalan Terhadap <i>E. coli</i> .....  | 59 |
| Gambar 4.4. Hasil Uji Antibakteri Mesokarp Siwalan Terhadap <i>S.aureus</i> ..... | 60 |
| Gambar 4.4.1. Grafik Kromatogram Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan.....             | 61 |

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Tuban merupakan daerah yang terletak di pesisir utara Jawa Timur dan memiliki kekayaan sumber daya alam yang signifikan, salah satunya adalah pohon siwalan (*Borassus flabellifer* L.). Pohon siwalan dapat tumbuh subur di Tuban karena kondisi tanah dan iklim yang mendukung. Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) telah lama menjadi bagian penting dari kehidupan masyarakat Tuban baik dalam aspek ekonomi, sosial, maupun budaya. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (2013), produksi siwalan di Kabupaten Tuban mencapai 5.477 ton setiap tahun, menempatkan Tuban sebagai salah satu daerah penghasil yang cukup melimpah di Indonesia.

Potensi produksi siwalan di Tuban sangat besar, namun pemanfaatannya hingga saat ini masih terbatas. Secara tradisional, masyarakat lebih banyak memanfaatkan buah muda siwalan yang dikenal sebagai "tal", baik sebagai bahan pangan maupun sebagai bahan baku minuman segar. Bagian lain dari pohon siwalan dimanfaatkan dengan beragam cara. Air niranya digunakan dalam pembuatan minuman tradisional, misalnya legen dan tuak. Daun siwalan dimanfaatkan untuk atap rumah tradisional atau bahan anyaman yang dijual sebagai kerajinan tangan. Sedangkan mesokarp atau kulit buah siwalan hingga saat ini masih kurang dimanfaatkan dan umumnya hanya digunakan untuk bahan bakar atau bahkan dibuang.

Mesokarp siwalan diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif yang memiliki potensi farmakologis tinggi, seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid (Alamelungamai *et al.*, 2014). Senyawa-senyawa ini

dapat digunakan sebagai antibakteri, antimikroba, antioksidan, dan juga antiinflamasi. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa mesokarp buah siwalan memiliki potensi farmakologis, khususnya sebagai bahan baku obat herbal dan antibakteri (Pattanaik et al., 2008). Kandungan senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, dan tanin berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Potensi ini membuka peluang pemanfaatan mesokarp sebagai agen antibakteri alami terhadap berbagai bakteri patogen, salah satunya *E. coli*, yang dikenal sebagai penyebab infeksi pada manusia.

*Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan bakteri flora normal yang hidup di usus manusia dan hewan, namun dalam kondisi tertentu dapat menjadi patogen yang menyebabkan berbagai penyakit serius seperti infeksi saluran kemih, gastroenteritis, hingga sepsis. Bakteri *E. coli* di Indonesia menjadi penyebab utama diare pada anak-anak, yang bisa berujung pada kematian jika tidak ditangani dengan tepat (Jawetz et al., 2019; Harvey, 2020).

Selain *E. coli*, *S. aureus* juga menjadi ancaman kesehatan karena kemampuannya untuk membentuk biofilm dan resistensi terhadap antibiotik. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif yang sering ditemukan di kulit dan saluran pernapasan manusia. Jenis bakteri yang paling berbahaya dari kelompok ini adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang resisten terhadap antibiotik *methicillin* dan beberapa antibiotik lainnya. MRSA sering menjadi penyebab infeksi serius di rumah sakit, seperti infeksi kulit, pneumonia, hingga sepsis (Hanberger et al., 2011).

Berdasarkan laporan *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS) yang diterbitkan WHO pada tahun 2022,

resistensi antimikroba di Indonesia juga menunjukkan peningkatan signifikan, terutama pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan tingkat resistensi 68-70%. Oleh karena itu, dalam menghadapi ancaman infeksi *E. coli* dan *S. aureus*, pencarian alternatif pengobatan dari bahan alami semakin penting. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah dengan penggunaan tanaman obat sebagai sumber senyawa antibakteri alami.

Penelitian oleh Alamelumangai *et al.*, (2014) mengungkapkan bahwa ekstrak kulit daging buah siwalan memiliki kemampuan antibakteri terhadap berbagai patogen manusia, termasuk bakteri dan jamur. Dari mikroorganisme yang diuji, *Aspergillus brasiliensis* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan tingkat penghambatan tertinggi. Sementara pada penelitian Iksani (2020) menggunakan ekstrak kulit buah siwalan untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap bakteri yang di uji.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak siwalan memiliki potensi sebagai agen antibakteri, namun penelitian yang secara spesifik menguji aktivitas antibakteri ekstrak mesokarp buah siwalan terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) belum banyak dilakukan. Penelitian oleh Alamelumangai *et al.*, (2014) hanya memfokuskan pada ekstrak kulit daging buah siwalan terhadap patogen lain seperti *Aspergillus brasiliensis* dan *Bacillus subtilis*, sementara Iksani (2020) hanya menggunakan *E. coli* sebagai bakteri uji.

Adanya potensi mesokarp siwalan sebagai antibakteri, maka dibuatlah penelitian yang berjudul “Uji Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Dan

Etanol Mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri (*E. coli*) *Eschericia coli* dan (*S. aureus*) *Staphylococcus aureus*". Penelitian ini memiliki kebaruan karena secara khusus menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol yang mewakili pelarut non-polar, semi-polar, dan polar. Pemilihan ketiga pelarut ini bertujuan untuk mengekstraksi berbagai senyawa bioaktif dengan polaritas berbeda dalam mesokarp siwalan, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran menyeluruh mengenai potensi antibakteri dari masing-masing fraksi. Adanya penelitian ini dibuat untuk mengisi kesenjangan tersebut dengan mengevaluasi efektivitas antibakteri dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan terhadap *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda. Maka dari itu, dari penelitian ini diharapkan dapat menemukan agen antibakteri yang efektif.

## **1.2. Rumusan Masalah**

- 1.2.1. Bagaimana pengaruh konsentrasi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?
- 1.2.2. Bagaimana pengaruh pelarut ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?

## **1.3. Tujuan**

- 1.3.1. Mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- 1.3.2. Mengetahui pengaruh pelarut ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## **1.4. Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah terkait efektivitas antibakteri dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

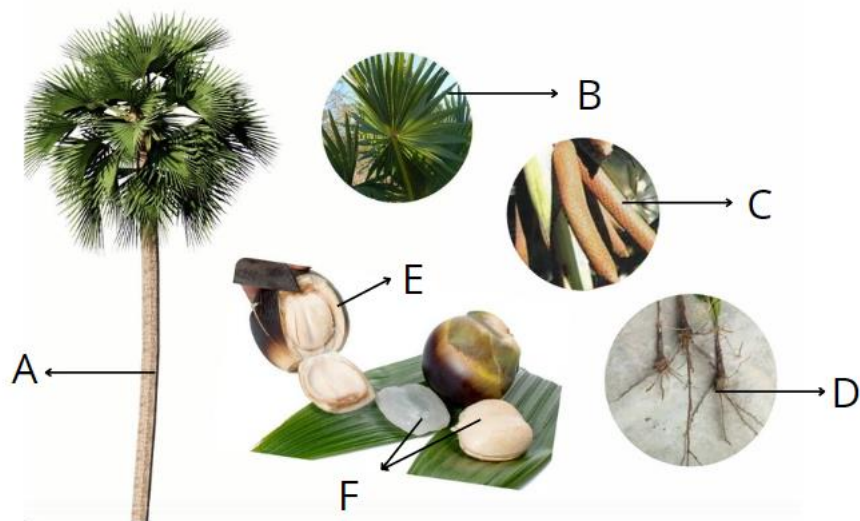
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Pohon siwalan (*Borassus flabellifer* L.) merupakan salah satu jenis palem unggulan lokal yang banyak ditemukan di Kabupaten Tuban. Tumbuhan ini hanya dapat tumbuh optimal di wilayah beriklim tropis, sehingga keberadaannya menjadi ciri khas daerah (Sukamaludin et al., 2016). Pohon siwalan memiliki batang lurus tanpa cabang dengan ketinggian antara 15-30 meter dan dapat tumbuh sendiri atau berkelompok. Kulit luar batang siwalan berwarna hitam seperti tanduk dengan garis-garis kuning. Batang pohon siwalan dapat mencapai tinggi 40 meter. Setiap pohon siwalan memiliki mahkota yang terdiri dari 30-40 tangkai daun. Daunnya dapat tumbuh hingga hampir satu meter dengan jumlah 12 hingga 14 helai daun baru setiap tahunnya. Setiap daun memiliki umur hidup sekitar tiga hingga empat tahun (Bernhard, 2007).

Tangkai daun siwalan dapat mencapai panjang 1 meter, berwarna hitam pada bagian atas, dan memiliki duri di tepinya. Helaian daun berbentuk bulat, bercangap menjari, dengan diameter sekitar 2,5 hingga 4 cm. Buah siwalan berbentuk bulat menyerupai peluru, berdiameter 7-20 cm, dan beratnya berkisar antara 1,5-2,5 kg. Warna buah bervariasi dari ungu tua hingga hitam. Daging buah muda berwarna keputihan dan bertekstur lembut, sedangkan buah yang telah matang berwarna kuning dan berubah menjadi berserat. Pohon siwalan terdiri dari dua jenis kelamin, yaitu jantan dan betina. Meskipun keduanya dapat menghasilkan nira, hanya pohon siwalan betina yang mampu menghasilkan buah (Fauziah, 2015).

Mesokarp siwalan merupakan bagian daging buah yang terletak di antara kulit luar dan biji buah siwalan (*Borassus flabellifer*). Secara fisik, mesokarp ini menyerupai serabut kelapa, dengan tekstur halus hingga kasar. Pada buah muda, mesokarp berwarna putih dan lunak, kemudian berubah menjadi kuning-oranye dan mengeras seiring proses pematangan. Mesokarp siwalan menyumbang sekitar 60–70% dari total bobot buah yang memiliki rasa manis, serta aroma yang khas (Sukamaludin et al., 2016).



Gambar 2.1. Pohon Siwalan (A) Batang (B) Daun (C) Bunga (D) Akar (E) Mesokarp (F) Endokarp & biji (Amin Fauzie, 2022)

## 2.2. Klasifikasi Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Klasifikasi siwalan (*Borassus flabellifer* L.) menurut GBIF; *Global Biodiversity Information Facility*, (2024) :

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Arecales

Famili : Arecaceae

Genus : *Borassus*

Spesies : *Borassus flabellifer* L.

## 2.3. Kandungan Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Buah siwalan (*Borassus flabellifer* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa aktif utama yang ditemukan pada kulit dan daging buah siwalan antara lain flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, dan juga pigmen karotenoid. Berdasarkan Idayati (2014), senyawa bioaktif utama mesokarp siwalan adalah karotenoid ( $\beta$ -karoten dan lutein/xantofil), kandungan total karotenoid dalam mesokarp siwalan mencapai 8324,6  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , dengan  $\beta$ -karoten sebesar 6217,48  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . Saponin diketahui memiliki efek yang kuat terhadap bakteri gram positif dengan mekanisme meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Selain itu, tanin juga berperan sebagai antibakteri dengan cara menghambat adhesi bakteri pada permukaan, menonaktifkan enzim yang penting bagi metabolisme bakteri, serta

mengganggu proses transport protein pada membran sel bakteri (Alamelumangai *et al.*, 2014).

Bahan aktif flavonoid juga ditemukan dalam buah siwalan dan berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Terpenoid juga dapat membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. Akibatnya sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat atau mati (Cowan, 1999). Ekstrak etanol kulit daging buah siwalan telah diuji aktivitas antibakterinya (Aprilia *et al.*, 2021). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri, termasuk *Escherichia coli* (Lenggu, 2020).

#### **2.4. Senyawa Antibakteri**

Senyawa antibakteri merupakan zat yang berfungsi untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen yang dapat menyebabkan infeksi dan penyakit. Tujuan pengendalian ini adalah untuk mencegah penyebaran infeksi dan penyakit, mengobati inang yang sudah terinfeksi, serta menghindari kerusakan bahan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Senyawa antibakteri termasuk dalam kelompok antimikroba, yang juga mencakup antijamur dan antivirus (Zahro, 2013). Senyawa antibakteri bekerja dengan berbagai cara dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa mekanisme utamanya yaitu menghambat pembentukan dinding sel bakteri atau merusak dinding sel setelah terbentuk, mengganggu permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan nutrisi keluar dari dalam sel, merusak protein

dan asam nukleat dalam sel, menghambat fungsi enzim, dan menghentikan sintesis protein serta asam nukleat. Di bidang farmasi, senyawa antibakteri dikenal sebagai antibiotik, yaitu zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Antibiotik dapat bekerja dengan cara menghentikan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), membunuh bakteri (bakterisidal), atau menyebabkan lisis sel bakteri (bakteriolitik) (Martiasih, 2014).

Senyawa antimikroba memiliki tiga jenis efek berdasarkan toksisitas selektifnya terhadap mikroorganisme (Madigan dkk., 2009):

1. Bakteriostatik: bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya. Biasanya, senyawa ini menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Pada kultur bakteri di fase logaritmik, penambahan senyawa bakteriostatik membuat jumlah total sel dan sel hidup tetap stabil.
2. Bakterisidal: bekerja dengan membunuh sel bakteri tanpa menyebabkan sel tersebut lisis. Hal ini terlihat dari penurunan jumlah sel hidup setelah penambahan senyawa antibakteri, meskipun jumlah total sel tetap sama.
3. Bakteriolitik: menyebabkan sel bakteri mengalami lisis, yang terlihat dari penurunan jumlah total sel dan sel hidup setelah perlakuan dengan senyawa antibakteri.

Antibakteri bekerja dengan berbagai cara untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Secara umum, mekanisme kerja antibakteri yang efektif meliputi gangguan pada fungsi-fungsi vital bakteri, seperti menghambat sintesis dinding sel, merusak permeabilitas dinding sel, menghambat aktivitas enzim, serta menghalangi proses sintesis asam

nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 1980). Salah satu kelompok antibakteri utama adalah yang menghambat atau merusak pembentukan dinding sel bakteri, contohnya adalah senyawa  $\beta$ -laktam seperti penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, serta inhibitor  $\beta$ -laktamase. Kelompok lainnya berperan dengan cara menghambat sintesis protein bakteri, termasuk aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida (seperti eritromisin, azitromisin, dan klaritromisin), klindamisin, dan musiprosin. Selain itu, terdapat antibakteri yang bekerja dengan menghambat enzim-enzim penting dalam metabolisme asam folat, seperti trimetoprim dan sulfonamid, serta senyawa yang memengaruhi sintesis atau metabolisme folat seperti kuinolon dan nitrofurantoin (Permenkes, 2011). Adapun penjelasan lengkap mekanisme penghambatan bakteri sebagai berikut:

#### 1. Penghambatan Sintesis Dinding Sel Bakteri

Sintesis dinding sel bakteri merupakan salah satu target utama bagi antibakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari komponen peptidoglikan yang memberikan kekuatan struktural dan perlindungan terhadap perubahan tekanan osmotik. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel berinteraksi dengan enzim transpeptidase, yang bertanggung jawab dalam pembentukan ikatan silang peptidoglikan (Nailufar, 2017). Ketika enzim ini dihambat, peptidoglikan tidak dapat terbentuk secara sempurna, sehingga dinding sel menjadi lemah dan bakteri mengalami lisis. Dalam lingkungan isotonis, bakteri akan pecah akibat tekanan osmotik yang tidak mampu ditahan oleh dinding sel yang rusak.

## 2. Penghambatan Permeabilitas Membran Sel Bakteri

Membran sel bakteri berfungsi sebagai penghalang selektif yang mengatur pergerakan molekul ke dalam dan ke luar sel. Antibakteri yang bekerja dengan mekanisme ini merusak integritas membran sel, meningkatkan permeabilitasnya, sehingga menyebabkan kebocoran komponen-komponen penting seperti protein, ion, dan asam nukleat (Rupiniasih, Indriani, Syamsuddin, & Razak, 2019). Perubahan permeabilitas ini mengganggu keseimbangan osmotik dan metabolisme bakteri, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel.

## 3. Penghambatan Sintesis Protein

Sintesis protein merupakan proses penting dalam pertumbuhan dan fungsi bakteri. Antibakteri yang menghambat sintesis protein bekerja dengan mengganggu proses translasi di ribosom, yaitu tempat terjadinya penerjemahan informasi genetik dari mRNA ke dalam rantai polipeptida (Syafiyah 2021). Antibakteri ini berikatan dengan subunit ribosom, mengakibatkan kesalahan dalam membaca mRNA dan menghambat pembentukan protein esensial. Akibatnya, bakteri tidak dapat melakukan proses biologis yang penting dan pertumbuhannya terhenti.

## 4. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat

Sintesis asam nukleat (DNA dan RNA) merupakan proses vital bagi bakteri dalam melakukan replikasi dan memperbaiki kerusakan

genetik. Antibakteri yang menghambat kerja enzim seperti DNA polymerase, DNA helicase, atau RNA polymerase dapat mengganggu jalannya proses ini. Akibatnya, replikasi DNA terhenti, perbaikan DNA tidak dapat berlangsung, dan pembelahan sel terhambat, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Syafiyah, 2021).

#### 5. Penghambatan Kerja Enzim Esensial

Bakteri bergantung pada berbagai enzim esensial untuk menjalankan proses metabolisme, seperti sintesis asam folat dan produksi energi. Antibakteri yang menghambat kerja enzim esensial akan menargetkan enzim-enzim kunci yang terlibat dalam proses metabolisme tersebut (Syafiyah 2021). Penghambatan aktivitas enzim ini mengakibatkan terhentinya jalur metabolik yang penting, sehingga bakteri tidak dapat menghasilkan senyawa esensial untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya, yang berujung pada kematian bakteri.

Aktivitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor penting yang dapat menentukan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Faktor-faktor tersebut meliputi pH lingkungan, stabilitas senyawa terhadap suhu, jumlah bakteri yang ada, lamanya waktu inkubasi, serta aktivitas metabolisme bakteri. pH yang sesuai dapat mempengaruhi kinerja senyawa antibakteri, sementara suhu yang tepat diperlukan untuk menjaga stabilitas senyawa agar tidak terdegradasi. Selain itu, semakin banyak jumlah bakteri, semakin besar dosis atau durasi paparan yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan. Lamanya inkubasi juga penting, karena

senyawa antibakteri memerlukan waktu untuk bekerja secara optimal. Aktivitas antibakteri juga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan zat antibakteri, jenis bakteri yang dihambat, waktu inkubasi, pelarut yang digunakan pada saat pembuatan ekstrak, dan juga kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada besarnya konsentrasi ekstrak tersebut (Indarto, 2019).

Tabel 2.1. Kriteria Kekuatan Daya Antibakteri (Repi, Mambo, 2016)

| Diameter Zona Hambat<br>(mm) | Kategori<br>Zona Hambat |
|------------------------------|-------------------------|
| $\leq 5$                     | Lemah                   |
| 6 – 10                       | Sedang                  |
| 11– 20                       | Kuat                    |
| $\geq 21$                    | Sangat Kuat             |

## 2.5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen dari suatu campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ini akan dihentikan ketika tercapai kesetimbangan konsentrasi antara senyawa yang terlarut dalam pelarut dan konsentrasi senyawa dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel menggunakan teknik penyaringan. Dalam proses ini, senyawa yang ingin diisolasi akan larut dalam pelarut, sementara komponen lain yang tidak larut akan terpisah (Diantika dkk., 2014). Senyawa dalam ekstrak awal seringkali tidak dapat diisolasi dengan satu metode pemisahan saja, diperlukan langkah-langkah lanjutan untuk memisahkan ekstrak tersebut menjadi fraksi-fraksi berdasarkan polaritas dan ukuran molekul yang serupa.

Pemilihan target ekstraksi sangat penting, di mana target dapat berupa senyawa bioaktif yang belum diketahui, senyawa tertentu yang sudah diketahui ada dalam organisme, atau sekelompok senyawa dengan struktur yang terkait satu sama lain (Sarker SD, dkk., 2006).

Proses ekstraksi tumbuhan umumnya diawali dengan pemisahan bagian tanaman seperti daun, bunga, atau batang, yang kemudian dikeringkan dan digiling hingga menjadi serbuk halus. Pemilihan jenis pelarut dapat memengaruhi senyawa yang dapat diekstraksi. Pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol cocok digunakan untuk melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut semipolar seperti etil asetat dan diklorometana digunakan untuk senyawa semipolar. Sementara itu, pelarut nonpolar seperti n-heksana, petroleum eter, dan kloroform lebih efektif untuk mengekstraksi senyawa nonpolar. Pemilihan pelarut yang sesuai akan meningkatkan efisiensi proses ekstraksi dan mendukung keberhasilan isolasi senyawa bioaktif yang diinginkan.

Pelarut dari golongan alkohol, terutama etanol, sering digunakan karena sifatnya yang baik dalam melarutkan berbagai senyawa. Etanol merupakan pelarut polar yang tidak berwarna, mudah menguap (volatil), memiliki titik didih rendah, dan kelarutan yang cukup tinggi, sehingga ideal untuk proses ekstraksi. Etanol juga merupakan pelarut yang mudah larut dalam air. Etanol memiliki titik didih yang rendah dan dapat memaserasi bahan secara maksimal (Sari, 2016). Etanol dianggap lebih unggul dibandingkan pelarut lain seperti n-hexana dan etil asetat karena memiliki banyak kelebihan, seperti selektivitas yang tinggi, sifat netral, dan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan

mikroorganisme pada konsentrasi lebih dari 20%. Selain itu, etanol memiliki daya absorpsi yang baik serta dapat bercampur dengan air dalam berbagai rasio. Etanol juga mampu melarutkan berbagai senyawa, seperti minyak atsiri, flavonoid, klorofil, steroid, kumarin, alkaloid basa, antrakinon, kurkumin, dan glikosida, sehingga hanya sedikit zat pengganggu yang terlarut. Keuntungan lain dari etanol 96% adalah kemampuannya untuk menghasilkan komponen aktif dalam jumlah optimal, ekstrak dengan etanol 96% menghasilkan kadar flavonoid tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi etanol lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa etanol 96% sangat efektif dalam menjaga kualitas bahan kimia dalam ekstrak (Wahyuni, 2021). Selain itu, etanol dianggap lebih aman digunakan dibandingkan dengan pelarut lain seperti metanol, karena memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah, sehingga lebih ramah bagi lingkungan dan kesehatan (Yulianti dkk., 2021).

Faktor penting yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah sebagai berikut (Anggista, 2019):

1. Ukuran Bahan

Ukuran partikel bahan yang akan diekstraksi mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Bahan dengan ukuran kecil lebih disarankan karena memiliki bidang permukaan yang lebih luas untuk berinteraksi dengan pelarut, yang memungkinkan ekstraksi lebih efektif.

2. Waktu Ekstraksi

Lama waktu ekstraksi berpengaruh terhadap hasil ekstraksi. Semakin lama proses ekstraksi berlangsung, semakin banyak

senyawa yang dapat terekstraksi karena waktu kontak antara pelarut dan bahan menjadi lebih optimal, sehingga meningkatkan efisiensi pelarutan.

### 3. Suhu

Kenaikan suhu dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, sehingga mempercepat kelarutan dan difusi senyawa yang diekstraksi. Namun, suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan dekomposisi senyawa yang sensitif terhadap panas, sehingga suhu harus diatur dengan hati-hati.

### 4. Jenis Pelarut

Pemilihan pelarut harus didasarkan pada prinsip kelarutan, di mana pelarut polar efektif untuk melarutkan senyawa polar, sedangkan pelarut nonpolar lebih cocok untuk senyawa nonpolar. Memilih pelarut yang sesuai dengan sifat kimia senyawa target sangat penting untuk mencapai hasil ekstraksi yang optimal.

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana dan banyak digunakan, baik dalam skala laboratorium maupun industri (Agoes, 2007). Proses ini melibatkan perendaman serbuk tanaman dalam pelarut yang sesuai di dalam wadah tertutup pada suhu ruang. Ekstraksi berlangsung sampai tercapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif yang larut dalam pelarut dan yang masih berada dalam jaringan tanaman. Setelah selesai, larutan diekstraksi dipisahkan dari ampas tanaman melalui penyaringan. Meskipun efektif, metode ini memiliki beberapa kelemahan, seperti waktu yang relatif

lama, kebutuhan pelarut dalam jumlah besar, serta kemungkinan kehilangan beberapa komponen bioaktif (Lenggu, 2020). Selain itu, beberapa senyawa mungkin sulit larut pada suhu kamar. Namun, keunggulan maserasi terletak pada kemampuannya menjaga kestabilan senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi sehingga kandungan aktif tetap terjaga selama proses ekstraksi.

## 2.6. Bakteri uji

### 2.6.1. Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* diklasifikasikan dalam sistem taksonomi mikrobiologi sebagai berikut (Jawezt, 2005):

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Bacteria                |
| Filum   | : Proteobacteria          |
| Kelas   | : Gamma Proteobacteria    |
| Ordo    | : Enterobacteriales       |
| Family  | : Enterobacteriaceae      |
| Genus   | : <i>Escherichia</i>      |
| Species | : <i>Escherichia coli</i> |

*Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri koliform yang tergolong dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri enterik yang hidup dan berkembang biak di saluran pencernaan (Yang dan Wang, 2014). *E. coli* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran sekitar 1,0-1,5  $\mu\text{m}$  lebar dan 2,0-6,0  $\mu\text{m}$  panjang. Bakteri ini dapat bergerak menggunakan flagela atau tidak, serta dapat tumbuh dalam kondisi aerob maupun anaerob

fakultatif. Selain itu, *E. coli* memiliki kemampuan bertahan hidup pada media dengan kandungan nutrisi yang rendah. Secara biokimia, bakteri ini mampu menghasilkan indol, menunjukkan hasil negatif pada uji urease, dan memiliki kemampuan terbatas dalam fermentasi sitrat (Rendrahadi, 2021).

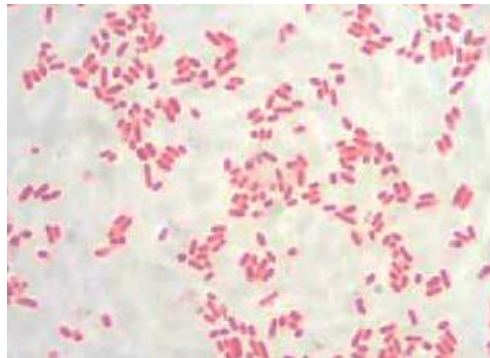
*Escherichia coli* biasanya hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan, serta memiliki kemampuan bertahan yang tinggi dalam berbagai kondisi lingkungan yang menantang. Bakteri ini dapat ditemukan di berbagai habitat seperti air tawar, air laut, dan tanah, di mana mereka menghadapi beragam faktor lingkungan baik abiotik maupun biotik (Anderson *et al.*, 2005). Kemampuan *E. coli* untuk menyebabkan penyakit berkaitan erat dengan adaptasinya terhadap kondisi lingkungan yang beragam. Meskipun demikian, beberapa kondisi seperti lingkungan dengan pH rendah (tingkat keasaman tinggi) di saluran pencernaan, perubahan suhu ekstrem, dan tekanan osmotik dapat menjadi tantangan bagi kelangsungan hidupnya.

*Escherichia coli* mampu bertahan pada suhu hingga 60°C selama 15 menit atau pada 55°C selama satu jam. Bakteri ini hidup di dalam tinja dan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan pada manusia, seperti diare, muntaber, serta gangguan pencernaan lainnya. Sebagai mikroorganisme oportunistik, *E. coli* merupakan bagian dari flora normal yang banyak ditemukan di usus besar manusia. Keunikan bakteri ini terletak pada kemampuannya menyebabkan infeksi primer di saluran pencernaan, terutama diare pada anak-anak, serta infeksi

pada jaringan tubuh lain di luar usus. Secara alami, *E. coli* hidup di usus besar manusia dan hewan berdarah panas, di mana dalam kondisi normal tidak menimbulkan gangguan kesehatan dan justru berperan dalam proses pencernaan, termasuk sintesis vitamin K dan membantu penyerapan nutrisi (Kaper, 2004). Namun, jika jumlahnya meningkat secara berlebihan atau jika strain tertentu menghasilkan toksin, bakteri ini dapat berubah menjadi patogen. Toksin yang dihasilkan, seperti enterotoksin, dapat menyebabkan diare dan masalah pencernaan lainnya (Jawetz et al., 2005). Selain itu, *E. coli* juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, sepsis neonatal, dan meningitis pada bayi baru lahir. Salah satu komplikasi serius yang dapat muncul akibat infeksi usus oleh strain tertentu adalah sindrom uremik hemolitik (Hairil, 2023).

Virulensi *Escherichia coli* berkaitan dengan berbagai faktor yang mempermudah bakteri ini dalam menginfeksi dan merusak jaringan tubuh inang. Faktor-faktor tersebut mencakup kemampuan *E. coli* untuk melekat pada sel inang, memproduksi toksin, serta bertahan terhadap respons imun tubuh. Beberapa strain bahkan mampu menyebabkan infeksi yang menyebar ke seluruh tubuh, seperti sepsis, yaitu kondisi serius ketika infeksi memasuki aliran darah dan mengancam keselamatan pasien. Pemahaman mendalam mengenai sifat patogenik *E. coli* sangat penting untuk upaya pencegahan dan pengobatan infeksi. Informasi ini juga membantu dalam menentukan pilihan antibiotik yang efektif. Selain itu, penerapan praktik kebersihan

yang baik, seperti mencuci tangan secara rutin, menjaga kebersihan makanan, dan memastikan sanitasi lingkungan yang layak, sangat krusial dalam mengurangi risiko penyebaran bakteri ini (Croxen, 2013).



Gambar 2.6.1 *Escherichia coli* perbesaran 1000x (Jawetz *et al.*, 2008)

#### 2.6.2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk bulat yang bersifat Gram positif dan biasanya tersusun dalam kelompok tidak beraturan yang menyerupai buah anggur. Beberapa strain seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA), dan *Staphylococcus aureus Enterotoxin* (SEA, SEB, SEC, dll.), sering ditemukan pada kulit serta selaput mukosa manusia. Namun, dalam kondisi tertentu, bakteri ini dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi seperti abses, infeksi piogenik, dan bahkan septikemia yang dapat berakibat fatal. *Staphylococcus aureus* juga memiliki kandungan polisakarida dan protein yang berperan sebagai antigen serta merupakan komponen penting dalam struktur dinding selnya. Bakteri ini tidak membentuk

spora maupun flagela, yang merupakan ciri khas lainnya dari spesies ini (Jawetz *et al.*, 2005).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (Capuccino and Natalie, 2007):

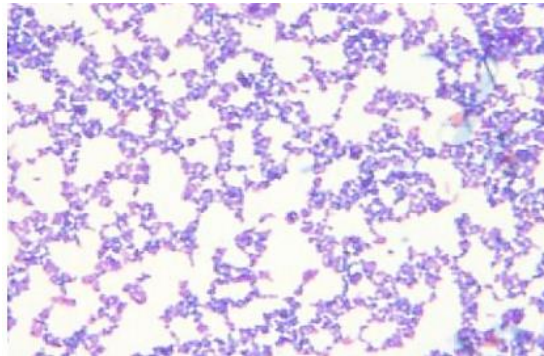
|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| Kingdom | : Bacteria                     |
| Divisi  | : Firmicutes                   |
| Kelas   | : Bacilli                      |
| Ordo    | : Cocacceae                    |
| Famili  | : Staphylococcaceae            |
| Genus   | : <i>Staphylococcus</i>        |
| Species | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

*Staphylococcus aureus* mampu tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologis, terutama di bawah kondisi aerobik atau mikroaerobik. Bakteri ini berkembang dengan cepat pada suhu 37°C, meskipun pembentukan pigmen optimal terjadi pada suhu ruangan, yakni antara 20°C hingga 35°C. Pada media padat, koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, halus, menonjol, serta berkilauan, dan seringkali menghasilkan pigmen berwarna kuning keemasan (Jawetz *et al.*, 2005). Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Pigmen tidak dihasilkan pada biak anaerobik atau pada kaldu. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada banyak pembenihan bakteri. Berbagai tingkat

hemolisis dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dan kadang-kadang oleh spesies bakteri lain (Burrows, 1950; Jawetz *et al.*, 2001).

*Staphylococcus aureus* patogen dikenal menghasilkan enzim koagulase dan pigmen kuning yang bersifat hemolitik serta mampu meragikan manitol. Infeksi lokal yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya berupa infeksi pada folikel rambut atau abses, yang ditandai dengan peradangan lokal yang parah, terasa nyeri, serta muncul nanah di bagian tengah. Infeksi ini umumnya cepat sembuh setelah nanah dikeluarkan (Jawetz *et al.*, 2005).

Pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus*, salah satunya menggunakan antibiotik seperti eritromisin. Eritromisin adalah antibiotik golongan makrolida yang berfungsi menghambat sintesis protein pada bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Yati *et al.*, 2008). Pada kasus infeksi berat oleh bakteri Gram positif, termasuk *Staphylococcus aureus*, pengobatan biasanya melibatkan antibiotik yang diberikan secara oral atau intravena, seperti penisilin, metisilin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. Namun, banyak strain *Staphylococcus aureus* yang telah menunjukkan resistensi terhadap antibiotik tersebut, sehingga diperlukan antibiotik dengan spektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksisilin, dan tetrasiklin. Pada kasus infeksi *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA), vankomisin intravena sering direkomendasikan (Sumarno, 2010).



Gambar 2.6.2 *Staphylococcus aureus* Perbesaran 1000x (Jawetz, *et al.*, 2008)

## 2.7. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mempelajari kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel tanaman. Proses ini melibatkan analisis struktur kimia, jalur biosintesis, serta distribusi alami senyawa tersebut dalam tumbuhan. Selain itu, skrining juga berfokus pada fungsi biologis dari senyawa aktif yang ditemukan, sekaligus mencakup teknik isolasi dan perbandingan komposisi kimia di antara berbagai jenis tanaman (Salsabila, 2020). Kandungan senyawa aktif pada tanaman sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti letak geografis, suhu, iklim, serta tingkat kesuburan tanah di wilayah tempat tanaman tumbuh. Bagian tanaman yang digunakan untuk uji fitokimia bisa berupa daun, batang, buah, bunga, dan akar, terutama yang memiliki manfaat sebagai bahan obat. Komponen-komponen tersebut dapat diolah lebih lanjut sebagai bahan baku untuk pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Agustina *et al.*, 2016). Beberapa kandungan senyawa aktif atau senyawa tersebut diantaranya :

### 1. Alkaloid

Alkaloid yaitu kelompok senyawa organik yang mengandung setidaknya satu atom nitrogen (N) dan memiliki sifat basa. Senyawa ini umumnya membentuk cincin heterosiklik dan tersebar luas di hampir semua bagian tumbuhan. Mekanisme kerja alkaloid menjadi *S. aureus* diperkirakan terjadi dengan mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Akibatnya, dinding sel tidak dapat terbentuk secara sempurna, yang kemudian menyebabkan sel bakteri mengalami kerusakan dan mati (Saptowo, 2022).

### 2. Flavonoid

Flavonoid yaitu senyawa yang mempunyai gugus fenol, sehingga termasuk dalam golongan senyawa fenol. Struktur utama flavonoid terdiri dari C6-C3-C6 dan biasanya ditemukan didalam bentuk glikosida pada tumbuhan. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* melalui mekanisme denaturasi protein yang menyebabkan berhentinya aktivitas metabolisme sel bakteri, karena enzim yang merupakan protein tidak dapat bekerja, sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri. Selain itu, flavonoid juga bersifat bakteriostatik dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dan merusak membran sel, yang mengganggu transport nutrisi penting bagi pertumbuhan bakteri. (Saptowo, 2022).

### 3. Saponin

Mekanisme saponin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri dan

mengganggu fungsi enzim yang diperlukan untuk replikasi DNA dan pertumbuhan bakteri. Mekanisme ini didukung oleh hasil penelitian yang menguji fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi dan akar putri malu yang menunjukkan potensi antibakteri melalui mekanisme sinergis dan penghambatan sintesis protein (Sari *et al.*, 2019).

#### 4. Tanin

Tanin bekerja melalui mekanisme yang melibatkan kerusakan dinding sel bakteri dan gangguan permeabilitas sel. Tanin bekerja dengan mengikat polipeptida pada dinding sel bakteri sehingga menghambat pembentukan dinding sel dan menyebabkan lisis sel bakteri. Selain itu, tanin juga dapat menghambat enzim bakteri dan mengurangi pembentukan biofilm yang penting untuk virulensi bakteri. Mekanisme ini menyebabkan kematian bakteri baik gram positif seperti *S. aureus* maupun gram negatif seperti *E. coli*. Studi literatur menunjukkan bahwa senyawa tanin efektif dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut dengan aktivitas antibakteri yang kuat, terutama melalui kerusakan integritas dinding peptidoglikan dan penghambatan biosintesis komponen penting dinding sel (Saptowo, 2022).

#### 5. Senyawa Fenol

Senyawa fenol adalah kelompok senyawa organik yang ditandai dengan adanya satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik. Senyawa ini memiliki peranan penting dalam berbagai proses biokimia, terutama sebagai antioksidan. Mekanisme kerja fenol

sebagai senyawa antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel melalui ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein yang dapat menyebabkan kerusakan pada struktur protein (Hidayatullah, 2023).

## **2.8. Uji Aktivitas Antibakteri**

Aktivitas antibakteri bisa diuji dengan dilusi, difusi agar, serta metode difusi-dilusi. Dari ketiga jenis uji tersebut, metode difusi yaitu yang paling sering dipakai karena mudah dilakukan dan efisien untuk mengetahui seberapa sensitif bakteri terhadap antibiotik. Salah satu alasan mengapa metode ini lebih dipilih dibandingkan dengan metode lain seperti dilusi adalah karena metode difusi, khususnya menggunakan cakram, memungkinkan pengujian beberapa sampel sekaligus tanpa memerlukan banyak waktu dan tenaga. Penelitian oleh Balaouri dkk. (2016) menunjukkan bahwa metode ini memiliki risiko kegagalan yang lebih kecil dan memberikan hasil yang lebih jelas dalam pengamatan zona hambat, sehingga menjadikannya sebagai pilihan yang lebih efektif dalam pengujian aktivitas antibakteri. Hasil yang diperoleh berupa zona bening di sekitar sumber senyawa antibakteri, yang mempertunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri (Balouri *et al.*, 2016).

Metode difusi cakram memakai kertas cakram yang dijenuhkan senyawa antibakteri, diletakkannya di media agar yang diinokulasi mikroba, dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu 35°C. Zona bening di sekitar cakram akan menunjukkan hambatan pertumbuhan mikroba (Bonang, 1992). Metode ini umum digunakan karena kemudahannya dan hasil yang jelas serta dapat diukur (Balouiri *et al.*, 2016). Metode ini dikenal karena kecepatan dan

kemudahannya dalam menyiapkan cakram uji (Listari, 2009). Jika ekstrak tanaman mengandung senyawa metabolit sekunder yang aktif, maka zona hambat akan terlihat jelas. Diameter zona hambat mencerminkan potensi aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji (Horváth *et al.*, 2016).

## 2.9. Hipotesis

- 2.9.1.  $H_0$  : Ekstrak n-Heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer* L.) tidak menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus* (jika nilai  $p > 0.05$ ).
- 2.9.2.  $H_1$  : Ekstrak n-Heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dapat menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus* (jika nilai  $p < 0.05$ ).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Mesokarp Buah Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*” akan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang. Waktu penelitian dimulai pada bulan Januari - Maret 2025.

#### 3.2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, jarum ose, autoklaf, mikropipet, gelas beker 200 ml, alat saring, gelas benda, gelas penutup, corong bucher 500 ml, pembakar spirtus, pipet tetes, vortex, masker, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan analitik, oven, inkubator, blender, pisau, pinset, *water bath*, kamera, botol kaca, jangka sorong, alat tulis, *rotary evaporator*, *hot plate*, *spreader*, dan *laminar air flow* (LAF).

#### 3.3. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer*) sebanyak 1 kg, etanol 96%, media *Nutrient Agar* (NA), biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, aquades steril, alkohol 70%, HCl pekat, etil asetat, pereaksi Wagner, DMSO (dimetil sulfoksida),

FeCl<sub>3</sub> 1%, kloroform, aluminium klorida 10%, kertas saring, *aluminium foil*, tisu, label, MHA agar, dan tablet antibiotik ciprofoxacin 500 mg.

### **3.4. Cara Kerja Penelitian**

#### **3.4.1. Sterilisasi alat**

Sterilisasi alat dilakukan dengan secara fisik dan kimia. Sterilisasi secara kimia, dilakukan dengan menggunakan sabun khusus untuk mencuci alat gelas di laboratorium. Sterilisasi alat secara fisik dilakukan dengan menggunakan teknik pemanasan. Teknik ini dilakukan secara basah. Sterilisasi panas basah dilakukan dengan cara mendidihkan air seperti pada autoklaf dengan prinsip tekanan uap tinggi. Alat yang disterilisasi dengan menggunakan autoklaf atau secara panas basah yaitu beberapa peralatan gelas pada suhu autoklaf diatur pada 121°C selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan alkohol 70% dapat dilakukan pada alat yang tidak tahan panas, sedangkan untuk sterilisasi jarum ose dapat dilakukan dengan menggunakan pijar api bunsen (Saputera, 2018).

#### **3.4.2. Tahapan Pembuatan Serbuk Simplisia**

Kulit buah (Mesokarp) siwalan matang dengan ciri kulit berwaran kuning ditimbang sebanyak 3.8 kg dan dipilih yang tidak berjamur. Mesokarp dibersihkan dengan air mengalir, dicuci bersih lalu ditiriskan untuk menghilangkan sisa air. Mesokarp dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 - 48 jam. Mesokarp yang telah kering di haluskan dengan menggunakan *blender* dan disaring untuk mendapatkan serbuk simplisia

yang sesuai. Serbuk yang didapatkan ditimbang masing-masing 50 g untuk membuat ekstrak (Rohman, 2021).

### 3.4.3. Pembuatan Ekstrak dengan Metode Maserasi

Serbuk mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer*) ditimbang sebanyak 50 gram tiap masing-masing pelarut. Serbuk yang telah ditimbang, dimaserasi dengan dimasukkan kedalam botol kaca, lalu ditambahkan pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% masing-masing sebanyak 250 ml atau dengan perbandingan 1:5 hingga serbuk mesokarp terendam. Simplisia yang telah dituangkan pelarut, diaduk secara merata menggunakan *spreader glass*. Botol kaca ditutup rapat dan dibungkus alumunium foil dan didiamkan pada tempat yang terhindar dari sinar matahari selama 3x24 jam. Selama maserasi, dilakukan pengadukan secara berkala. Setelah 3 hari, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu yang dihasilkan dapat dimaserasi ulang untuk mendapatkan lebih banyak filtrat. Filtrat yang diperoleh lalu diuapkan dengan menggunakan alat *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga konsistensinya sesuai. Filtrat dipekatkan kembali dengan menggunakan *water bath* pada suhu 60°C untuk memastikan sisa-sisa pelarut benar-benar menguap dan simpan di lemari pendingin (Aprilia, 2021).

Penelitian ini dilakukan dengan 3 macam konsentrasi larutan uji yang terdiri dari 25%, 50%, dan 75%. Penelitian yang dilakukan oleh Rachmawati dkk. (2020) menemukan bahwa pada konsentrasi ekstrak terhadap efektivitas antibakteri meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, dengan konsentrasi optimal terpurifikasi 25% memberikan

zona hambat yang signifikan terhadap *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga mencatat bahwa konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan efek toksik, sehingga bakteri mati sebelum pengukuran dapat dilakukan, yang berpotensi menghasilkan data yang tidak konsisten dan akurat. Maka dari itu, dalam penelitian ini digunakan variasi konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Setiap konsentrasi tersebut dibuat dengan cara menimbang ekstrak pekat (konsentrasi awal 100%) dan mengencerkannya menggunakan pelarut DMSO 10%. Variasi konsentrasi ekstrak dibuat dalam labu ukur dengan volume akhir 10 ml.

Perhitungan konsentrasi dilakukan dengan menggunakan berdasarkan rumus berikut (Adigunawan, 2018):

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2 \quad (1)$$

Keterangan:

- C1 : konsentrasi awal ekstrak pekat (100%) tanpa DMSO
- V1 : volume ekstrak pekat 100% yang dibutuhkan.
- C2 : konsentrasi akhir yang ingin dibuat (25%, 50%, 75%).
- V2 : volume total larutan yang diinginkan (10 mL).

Setelah V1 dihitung, jumlah pelarut (DMSO 10%) yang harus ditambahkan adalah:

$$V_{\text{pelarut}} = V2 - V1 \quad (2)$$

Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak mesokarp siwalan untuk uji aktivitas antibakteri, dilakukan pengenceran dengan menggunakan pelarut DMSO 10% (Rachmawaty, 2018). DMSO dipilih sebagai pelarut pada tahap pengujian untuk memastikan ekstrak larut dengan sempurna. DMSO adalah pelarut yang sangat baik untuk melarutkan

senyawa organik, termasuk hasil ekstraksi, tanpa mengganggu hasil uji antibakteri. Dalam konsentrasi rendah, DMSO tidak bersifat antibakteri, sehingga tidak mempengaruhi validitas hasil uji. Penggunaan DMSO pada tahap ini bertujuan untuk mendapatkan larutan yang stabil dan siap diuji tanpa mengubah sifat ekstrak yang telah diperoleh melalui proses ekstraksi dengan pelarut (Rachmawaty, 2018). Proses pembuatan konsentrasi 25% dilakukan dengan menimbang 2,5 ml ekstrak mesokarp siwalan, kemudian tambahkan DMSO 10% hingga volume total larutan mencapai 10 ml. Untuk konsentrasi 50%, dilakukan dengan menimbang 5 ml ekstrak mesokarp siwalan dan tambahkan DMSO 10% hingga mencapai volume total 10 ml. Sedangkan untuk konsentrasi 75% dilakukan dengan menimbang 7,5 ml ekstrak mesokarp siwalan dan tambahkan DMSO 10% hingga volume mencapai 10 ml. Perhitungan pelarut konsentrasi ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan disajikan dalam tabel berikut :

Tabel 3.1. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Mesokarp Siwala

| Perlakuan | Konsentrasi (%) | Volume ekstrak Mesokarp 100% (mL) | Volume Pelarut DMSO (mL) | Volume Total (mL)  |
|-----------|-----------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------|
| K1        | 25%             | 2,5                               | 7,5                      | 10                 |
| K2        | 50%             | 5                                 | 5                        | 10                 |
| K3        | 75%             | 7,5                               | 2,5                      | 10                 |
| K-        | -               | -                                 | -                        | -                  |
| K+        | 0%              | -                                 | -                        | Konsentrasi 5µg/mL |

Keterangan :

- K1 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwala 25% (b/v)  
 K2 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwala 50% (b/v)  
 K3 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwala 75% (b/v)  
 K+ : Kontrol positif (Ciprofloxacin) Konsentrasi 5µg/mL  
 K- : Kontrol negatif (DMSO)

#### 3.4.4. Penentuan Kontrol Positif dan Negatif

##### 1. Kontrol Negatif

Kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan larutan DMSO 10%. Larutan ini dipilih karena DMSO adalah pelarut organik yang tidak bersifat bakterisidal, sehingga tidak akan memengaruhi hasil pengujian. Dimetil sulfoksida (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif karena pelarut polar aprotik ini mampu melarutkan polieugenol dan senyawa eugenol sebagai sampel uji dan merupakan pelarut yang tidak memiliki sifat antibakteri (Prasetya, 2019).

##### 2. Kontrol Positif

Kontrol positif ditentukan dengan menggunakan ciprofloxacin, yang merupakan antibiotik yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Stok awal ciprofloxacin disiapkan dengan melarutkan 1 mg ciprofloxacin dalam pelarut untuk mencapai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Dari larutan stok ini, satu tablet ciprofloxacin seberat 500 mg ditimbang dan diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi akhir sebesar 5  $\mu\text{g/ml}$  (South, 2019).

### 3.4.5. Uji Fitokimia

#### 1. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCL pekat untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid. penambahan HCl pekat digunakan untuk membentuk garam flavilium dan memutus ikatan glikosida pada flavonoid. Lalu dipanaskan dengan *water bath* suhu 50°C selama 15 menit. Jika larutan berubah warna menjadi warna merah atau kuning, hal ini menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak (Muthyantih, 2019).

#### 2. Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 2 ml etil asetat dan diaduk. Lapisan etil asetat dikeringkan dan ditambahkan 2 tetes asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna merah atau kuning jingga, hal ini menandakan adanya senyawa terpenoid dan menunjukkan positif steroid jika terbentuk warna hijau (Muthmainnah, 2019).

#### 3. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2,5 ml HCl. Larutan kemudian diaduk dan dipanaskan pada suhu 40 °C selama 15 menit. Menurut penelitian Rachmawati dkk. (2020), saat melakukan reaksi yang melibatkan asam kuat seperti HCl, disarankan untuk menutup tabung reaksi untuk mencegah pelepasan uap berbahaya. Setelah dipanaskan, ditambahkan reagen Wagner (yodium-kalium iodida) ke dalam

filtrat. Jika terbentuk endapan berwarna coklat, ini menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak (Muthmainnah, 2019).

#### 4. Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air panas. Kemudian, didinginkan dan dikocok hingga homogen selama 10 detik. Jika terbentuk busa atau buih setinggi 1-10 cm dengan stabil, ini menunjukkan bahwa sampel mengandung saponin (Muthmainnah, 2019).

#### 5. Uji Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air panas, panaskan hingga mendidih dengan *hot plate*, lalu ditetesi dengan  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tua, maka hal ini menunjukkan adanya tanin dalam ekstrak (Muthmainnah, 2019).

### 3.4.6. Pembuatan Media

#### 1. Media Nutrient Agar (NA) Miring

Sebanyak 10 gram media Nutrient Agar (NA) dimasukkan ke dalam gelas beaker yang bersih dan kering. Selanjutnya, media ini dilarutkan dengan menambahkan 0,5 liter akuades steril secara perlahan. Setelah media dan akuades tercampur, campuran tersebut dipanaskan di atas *hot plate*. Sambil dipanaskan, campuran terus diaduk menggunakan magnetic stirrer agar media terhomogenkan sempurna dan larut dengan baik. Pemanasan dilanjutkan hingga campuran mencapai titik didih, yang ditandai dengan munculnya

gelembung kecil di seluruh permukaan larutan. Medium dituang dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml, lalu disumbat dengan kapas, dan disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dimiringkan hingga memadat pada suhu ruang.

## 2. Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) disiapkan dengan cara menimbang sejumlah 9,5 gram bubuk MHA, kemudian melarutkannya dalam 250 ml air destilasi (akuades). Jika diperlukan, proses pelarutan dapat dilakukan dengan pemanasan ringan untuk memastikan bubuk terdispersi secara merata. Setelah larutan terbentuk, media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Selanjutnya, larutan media yang telah disterilkan dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan pada suhu kamar sampai media MHA mengeras. Setelah media memadat, cawan petri disimpan pada suhu 4°C dalam lemari es untuk menjaga kestabilan media hingga siap digunakan.

#### 3.4.7. Pemurnian Bakteri

Pemurnian bakteri dimulai dengan mengambil biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing sebanyak satu ose menggunakan jarum ose yang telah disterilkan. Jarum ose yang mengandung biakan bakteri diambil dengan hati-hati untuk memastikan jumlah bakteri yang cukup pada ose. Setelah itu, biakan tersebut diinokulasikan secara terpisah ke dalam medium agar miring Nutrient Agar (NA). Proses inokulasi dilakukan secara aseptis di bawah kondisi steril untuk mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain. Jarum ose yang membawa biakan bakteri diletakkan pada dasar kemiringan agar di dalam tabung reaksi, kemudian ditarik perlahan ke atas dengan gerakan zig-zag menggunakan teknik streak. Gerakan ini dilakukan untuk memastikan penyebaran bakteri yang merata pada permukaan agar, yang memungkinkan pemisahan koloni bakteri saat inkubasi.

Setelah inokulasi selesai, tabung reaksi yang berisi medium agar miring tersebut ditutup dengan rapat dan diberi label sesuai dengan jenis bakteri yang diinkubasi. Selanjutnya, tabung-tabung tersebut dimasukkan ke dalam inkubator yang sudah diatur pada suhu 37°C. Inkubasi berlangsung selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri yang cukup banyak dan jelas terbentuk di sepanjang garis zig-zag yang diinokulasikan (Afrani, 2011).

### 3.4.8. Pembuatan Suspensi Kultur Bakteri Uji

#### 1. Pembuatan Larutan NaCl 0,9%

Sebanyak 0,9 gram NaCl ditimbang dan dilarutkan dalam labu ukur berkapasitas 100 ml dengan menggunakan aquades hingga mencapai tanda batas volume. Setelah itu, larutan dihomogenkan dengan baik. Larutan NaCl 0,9% yang telah siap dipindahkan ke dalam botol reagen yang memiliki penutup rapat dan gelap. Untuk menjaga kestabilan dan mencegah kontaminasi, larutan NaCl 0,9% disimpan dalam kulkas (Rosmania dan Yanti, 2019). Pembuatan larutan NaCl 0,9% dilakukan karena larutan ini memiliki kemiripan dengan salinitas cairan tubuh manusia, sehingga aman digunakan sebagai larutan isotonik untuk berbagai aplikasi laboratorium, termasuk sebagai media untuk suspensi bakteri.

#### 2. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Biakan bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan ose steril dan kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri disiapkan dengan konsentrasi yang ditentukan berdasarkan standar McFarland 0,5, yang setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml, menggunakan spektrofotometer uv-vis untuk memastikan akurasi pengukuran (Chifiriuc *et al.*, 2011).

#### **3.4.9. Uji aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode Kirby Bauer (Bauer, 1966) metode ini merupakan metode difusi di mana kertas cakram berdiameter 6 mm digunakan sebagai media penyerapan ekstrak uji pada media MHA. Pertama, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) steril sebanyak 15 ml dituangkan ke dalam cawan petri steril secara aseptik dan dibiarkan hingga media memadat. Setelah media padat, suspensi bakteri sebanyak 200  $\mu$ l ditambahkan ke atas permukaan media secara aseptik dan diratakan. Suspensi bakteri dibiarkan selama 15 menit agar dapat meresap ke dalam agar.

Selanjutnya, untuk setiap konsentrasi ekstrak yang diuji, serta kontrol positif dan kontrol negatif, sebanyak 20  $\mu$ l larutan dipipet dan diteteskan secara aseptik ke dalam blank disc. Disc yang telah terisi dengan larutan uji dibiarkan selama 15 menit sebelum diletakkan secara aseptik pada media MHA menggunakan pinset steril. Cawan petri kemudian diinokulasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar disc dari satu sisi ke sisi lainnya melalui tengah disc, menggunakan jangka sorong (Novariyatiin, 2018).

#### **3.4.10. Pengamatan dan pengukuran**

Pengamatan dan pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan memeriksa zona hambat di sekitar cakram ekstrak daun siwalan setelah inkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan pertama dilakukan pada

jam ke-24 dan dilanjutkan pada jam ke-48 setelah inkubasi. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong atau penggaris dalam milimeter, dilakukan untuk setiap cakram pada seluruh uji bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*), dan diulang sebanyak tiga kali untuk memastikan keakuratan hasil. Data yang diperoleh dicatat dan dianalisis untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri serta membandingkan perkembangan zona hambat antara waktu pengamatan. Ukur diameter zona hambat menggunakan mistar dengan skala milimeter (mm). Setelah diameter zona hambat diukur maka dapat ditentukan sensitivitas klinik dari bakteri berdasarkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri. Penentuan zona hambat menggunakan rumus:

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(D1-DS)+(D2-DS)}{2} \quad (4)$$

Keterangan:

D1: Diameter Vertikal

D2: Diameter Horizontal

DS: Diameter Disk

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut, kemudian ditentukan sensitivitas dari bakteri dengan menggunakan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Davis dan Stout (1971) dikutip Kumesan *et al.*, (2013). Klasifikasi daya hambat pertumbuhan dibagi atas: sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5 mm).

### 3.5. Rancangan Percobaan

Penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Dan Etanol Mesokarp Buah Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*” merupakan penelitian eksperimental dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Penelitian ini menggunakan lima perlakuan dengan tiga kali pengulangan. Perlakuan terdiri dari kontrol negatif dengan penambahan (DMSO), kontrol positif dengan penambahan antibiotik (Ciprofloxacin), konsentrasi 1 (konsentrasi 25%), konsentrasi 2 (konsentrasi 50%), dan konsentrasi 3 (konsentrasi 75%).

Variabel penelitian terdiri dari :

- a) Variabel bebas adalah ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan
- b) Variabel terikat adalah persentase daya hambat ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol mesokarp siwalan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
- c) Variabel terkontrol adalah media NA dan Media MHA

Tabel 3.2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli*

| Pengulangan | Diameter Zona Hambat (mm) |                    |      |      |      |
|-------------|---------------------------|--------------------|------|------|------|
|             | Kontrol<br>Negatif        | Kontrol<br>Positif | K1   | K2   | K3   |
| 1           | K-                        | K+                 | K1P1 | K2P1 | K3P1 |
| 2           | K-                        | K+                 | K1P2 | K2P2 | K3P2 |
| 3           | K-                        | K+                 | K1P3 | K2P3 | K3P3 |
| Total       | ...                       | ...                | ...  | ...  | ...  |
| Rerata      | ...                       | ...                | ...  | ...  | ...  |

Tabel 3.3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer* L.) terhadap pertumbuhan *S. aureus*.

| Pengulangan | Diameter Zona Hambat (mm) |                    |      |      |      |
|-------------|---------------------------|--------------------|------|------|------|
|             | Kontrol<br>Negatif        | Kontrol<br>Positif | K1   | K2   | K3   |
| 1           | K-                        | K+                 | K1P1 | K2P1 | K3P1 |
| 2           | K-                        | K+                 | K1P2 | K2P2 | K3P2 |
| 3           | K-                        | K+                 | K1P3 | K2P3 | K3P3 |
| Total       | ...                       | ...                | ...  | ...  | ...  |
| Rerata      | ...                       | ...                | ...  | ...  | ...  |

Keterangan:

- K1 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwalan 25% (b/v)
- K2 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwalan 50% (b/v)
- K3 : Konsentrasi ekstrak mesokarp siwalan 75% (b/v)
- P1 : Pengulangan 1
- P2 : Pengulangan 2
- P3 : Pengulangan 3

### 3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh secara deskriptif melalui pencatatan hasil identifikasi kultur bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli* setelah diberikan perlakuan terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol Siwalan pada konsentrasi 25%, 50%, 75% (g/ml). Data disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar. Data akan dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dengan SPSS (*Statistical Program of Social Science*) pada taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha = (0,05)$ .

## **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1. Ekstraksi Mesokarp Siwalan**

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan komponen atau senyawa metabolit dari suatu tanaman menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan untuk melakukan ekstraksi biasanya disesuaikan dengan jenis senyawa yang akan di ekstrak. Proses ekstraksi pada penelitian ini, dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini adalah metode sederhana tanpa pemanasan yang digunakan untuk megambil komponen metabolit sekunder dari suatu sampel sehingga dapat mencegah komponen metabolit sekunder dari kerusakan akibat suhu tinggi. Proses ekstraksi sampel dengan metode maserasi dilakukan dengan menggunakan 3 jenis pelarut , diantaranya pelarut polar, semi polar, dan non polar. Pelarut polar menggunakan etanol 96%, pelarut semi polar menggunakan etil asetat, dan pelarut non polar menggunakan n-heksana. Penggunaan 3 jenis pelarut adalah untuk memaksimalkan pengambilan senyawa metabolit yang bersifat polar, semi polar, maupun non poral yang mungkin ada dalam mesocarp siwalan. Menurut Rahmadani (2018), Proses maserasi menggunakan pelarut seperti etanol, etil asetat, dan n-heksana dapat digunakan tergantung pada sifat kelarutan senyawa yang diinginkan.

Proses maserasi dilakukan dengan memasukkan sampel sebanyak masing-masing 50 gram pada wadah kaca dan ditambahkan dengan pelarut sebanyak 250 gram. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam di wadah yang tertutup dan ditempatkan di tempat yang gelap kemudian dilakukan pengadukan secara berkala. Setelah 3x 34 jam, hasil maserasi disaring untuk

memisahkan residu dan filtrat. Residu yang tersisa dimaserasi ulang. Filtrat kemudian dievaporasi. Setelah dievaporasi, kemudian dihitung hasil rendemen dari masing masing ekstrak. Pengamatan hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 4.1 berikut :

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Mesokarp Siwalan dengan Variasi Pelarut

| Jenis pelarut | Warna ekstrak | Ekstrak awal (mL) | Hasil ekstrak pekat (mL) | Rendemen (%) |
|---------------|---------------|-------------------|--------------------------|--------------|
| Etanol        | Coklat tua    | 500               | 45                       | 9            |
| Etil Asetat   | Coklat muda   | 500               | 32                       | 6,4          |
| n-Heksana     | Kuning tua    | 500               | 30                       | 6            |

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak mesokarp siwalan dengan variasi pelarut yang berbeda, menghasilkan warna dan hasil rendemen yang berbeda pula. Ekstrak etanol menghasilkan warna coklat tua, ekstrak etil asetat menghasilkan warna coklat muda, dan ekstrak n-heksana menghasilkan warna kuning tua. Perbedaan warna hasil ekstraksi tersebut disebabkan karena adanya perbedaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Misfadhila (2020) bahwa warna ekstrak dapat berbeda karena senyawa metabolit yang terkandung didalamnya. Ekstrak etanol yang berwarna coklat tua mengandung senyawa yang larut dalam pelarut polar, sehingga memberikan warna yang lebih intensif. Sedangkan berdasarkan rendemen yang dihasilkan, ekstrak etanol memiliki rendemen paling tinggi yaitu sebanyak 9% dibandingkan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana yang memiliki rendemen sebanyak 6,4% dan 6%. Hal ini disebabkan oleh sifat etanol sebagai pelarut polar yang efektif dalam mengekstrak senyawa polar.

Metabolit sekunder pada tumbuhan umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida, yaitu senyawa aktif yang masih terikat dengan gugus gula, sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar (Amalia *et al.*, 2018). Salah satu pelarut polar yang banyak digunakan adalah etanol, karena mengandung gugus hidroksil (OH) yang memungkinkan terjadinya interaksi dengan senyawa-senyawa polar dalam sampel. Selain bersifat polar, etanol juga memiliki gugus alkil yang bersifat non-polar, sehingga mampu melarutkan senyawa semi-polar atau sedikit non-polar sekaligus (Zela dan Diah, 2021). Sifat ini membuat etanol lebih unggul dalam mengekstraksi berbagai jenis senyawa aktif. Sebaliknya, etil asetat sebagai pelarut polar-aprotik tidak memiliki kemampuan menyumbang ion OH<sup>-</sup>, sehingga kurang optimal dalam mengekstraksi senyawa polar dan menghasilkan rendemen lebih rendah dibanding etanol (Markom, 2007). Sementara itu, n-heksana yang bersifat non-polar hanya dapat melarutkan senyawa non-polar, yang jumlahnya terbatas dalam sampel, sehingga menghasilkan rendemen terkecil. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rosa (2023) yang menyatakan bahwa semakin tinggi kepolaran suatu pelarut maka semakin tinggi pula rendemen ekstrak yang didapatkan. Rendemen ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana berbeda karena perbedaan sifat polaritasnya. Agustien (2021) menjelaskan bahwa Etanol bersifat polar, menghasilkan rendemen tertinggi karena dapat melarutkan berbagai senyawa polar dan semi-polar. Etil asetat, bersifat semi-polar, memiliki rendemen lebih rendah daripada etanol tetapi lebih tinggi daripada n-heksana karena dapat melarutkan senyawa semi-polar. Sementara itu, n-heksana, bersifat non-polar, memiliki rendemen paling rendah karena hanya efektif melarutkan senyawa non-polar.

#### **4.2. Analisis Hasil Uji Fitokimia**

Uji fitokimia merupakan metode analisis awal yang penting dalam penelitian untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang terkandung dalam suatu bahan alam, seperti tanaman obat. Tujuan utama dari uji fitokimia adalah untuk memberikan informasi tentang kandungan senyawa kimia yang berpotensi memiliki aktivitas biologis, seperti antibakteri, antioksidan, atau anti-inflamasi. Uji fitokimia dalam penelitian terhadap mesokarp siwalan ini dilakukan dengan menggunakan berbagai pelarut seperti etanol, etil asetat, dan n-heksana. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, tanin, steroid, dan triterpenoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mierza Dkk., (2023) yang menyatakan bahwa uji fitokimia merupakan metode analisis yang digunakan untuk mendeteksi dan mengenali keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam suatu bahan, khususnya tanaman. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengidentifikasi jenis senyawa kimia yang terkandung dalam sampel, seperti flavonoid, fenol, alkaloid, serta terpenoid.

Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana terhadap mesokarp siwalan dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut :

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Mesokarp Siwalan

| No | Golongan Senyawa    | Pelarut Ekstrak |             |           | Perubahan Warna (+) |
|----|---------------------|-----------------|-------------|-----------|---------------------|
|    |                     | Etanol          | Etil Asetat | n-Heksana |                     |
| 1. | Flavonoid           | (+)             | (+)         | (-)       | Merah / jingga      |
| 2. | Terpenoid & steroid | (+)             | (-)         | (+)       | Merah Jingga        |
|    |                     | (-)             | (-)         | (-)       |                     |
| 3. | Alkaloid            | (+)             | (-)         | (-)       | Endapan Coklat      |
| 4. | Saponin             | (+)             | (+)         | (-)       | Buih/busa           |
| 5. | Tanin               | (+)             | (+)         | (-)       | Hijau Kehitaman     |

Keterangan : (+) terdeteksi (-) tidak terdeteksi

Hasil uji fitokimia pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol mesokarp siwalan mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin dan tanin. Ekstrak etil asetat mesokarp siwalan mendapatkan hasil positif pada senyawa flavonoid, dan tanin. Sedangkan ekstrak n-heksana mesokarp siwalan memiliki hasil positif hanya pada uji terpenoid. Perbedaan hasil uji fitokimia antar ekstrak disebabkan oleh perbedaan polaritas pelarut yang digunakan. Etanol yang bersifat polar mampu mengekstraksi berbagai senyawa metabolit sekunder dengan polaritas tinggi hingga sedang, seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Etil asetat yang bersifat semi-polar cenderung mengekstraksi senyawa dengan polaritas menengah seperti flavonoid dan tanin. Pratiwi (2021) menyatakan bahwa senyawa semi-polar adalah senyawa yang memiliki karakteristik polaritas menengah, artinya memiliki gugus polar dan

non-polar dalam satu molekul, sehingga secara teori dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar meskipun dalam batas lebih rendah.

Berbeda dengan pelarut polar seperti etanol yang memiliki kemampuan tinggi dalam membentuk ikatan hidrogen dan melarutkan senyawa polar, etil asetat memiliki keterbatasan dalam mengekstrak senyawa polar kuat. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa etil asetat yang bersifat semi-polar terdeteksi dapat melarutkan flavonoid, tanin dan saponin. Hal ini dikarenakan senyawa polar seperti flavonoid dan saponin memiliki banyak jenis, sehingga kemungkinan yang terdeteksi dalam etil asetat biasanya adalah yang senyawa struktur polaritasnya sedang. Hal ini sependapat dengan Lubis *et al.*, (2020) bahwa saponin, tanin, dan flavonoid memiliki struktur kimia dan polaritas yang bervariasi, sehingga beberapa jenis dengan polaritas sedang dapat larut dalam pelarut semi-polar seperti etil asetat, sementara yang sangat polar lebih larut dalam pelarut polar seperti etanol.

Sementara itu, n-heksana yang bersifat nonpolar hanya efektif mengekstraksi senyawa nonpolar seperti terpenoid. Hasil ini menunjukkan bahwa sifat kimia pelarut sangat memengaruhi jenis senyawa yang dapat diekstraksi dari bahan alam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sasandra (2022) bahwa pemilihan pelarut yang tepat sangat memengaruhi hasil ekstraksi, dan penggunaan kombinasi pelarut dengan polaritas berbeda dapat memberikan gambaran fitokimia yang lebih lengkap dan akurat terhadap suatu sampel.

#### 4.3. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan n-Heksana Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Pengujian antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Metode ini adalah salah satu metode pengujian aktivitas antimikroba yang paling umum digunakan, terutama untuk menilai efektivitas suatu senyawa atau ekstrak terhadap mikroorganisme, seperti bakteri berdasarkan zona hambatnya. Semakin besar zona hambat yang dihasilkan, maka semakin kemampuan antibakteri semakin efektif. Metode ini juga dikenal sebagai metode Kirby-Bauer. Hal ini sesuai dengan pendapat Fathurrohman Dkk., (2022) bahwa dalam analisis antibakteri, metode difusi umumnya digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba terhadap agen antimikroba berdasarkan zona hambat. Efektivitas antibakteri akan berbanding lurus dengan zona hambat yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan tiga jenis konsentrasi pada masing-masing ekstrak pelarut, yaitu 25%, 50% dan 75% serta kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin 3µg/mL dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil uji aktivitas antibakteri yang dapat dilihat pada tabel 4.3. dan 4.4 :

Tabel 4.3 Rata-Rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri *E. coli*

| Jenis Pelarut | Rata-Rata Diameter Zona Hambat <i>E. coli</i> |      |      |              |      |
|---------------|-----------------------------------------------|------|------|--------------|------|
|               | Konsentrasi (mm)                              |      |      | Kontrol (mm) |      |
|               | K1                                            | K2   | K3   | K(+)         | K(-) |
| Etanol        | 5,87                                          | 7,27 | 8,1  | 15           | 0    |
| Etil Asetat   | 4,33                                          | 5,4  | 6,33 | 15,27        | 0    |
| n-Heksana     | 0                                             | 0,4  | 3,23 | 15,7         | 0    |

Tabel 4.4 Rata-Rata Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri *S. aureus*

| Jenis Pelarut | Rata-Rata Diameter Zona Hambat <i>S. aureus</i> |      |      |              |      |
|---------------|-------------------------------------------------|------|------|--------------|------|
|               | Konsentrasi (mm)                                |      |      | Control (mm) |      |
|               | K1                                              | K2   | K3   | K(+)         | K(-) |
| Etanol        | 6,73                                            | 8,03 | 9,67 | 17,87        | 0    |
| Etil Asetat   | 1,5                                             | 5,93 | 7,8  | 18           | 0    |
| n-Heksana     | 0,37                                            | 2,43 | 5,3  | 18,37        | 0    |

Hasil uji antibakteri terhadap bakteri *E. coli* perlakuan kontrol positif menggunakan antibiotik ciprofloxacin menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* lebih sensitif dibandingkan *Escherichia coli*. Hal ini terlihat dari rata-rata zona hambat ciprofloxacin terhadap *S. aureus* (17,87 mm; 18 mm; 18,37 mm) yang lebih besar dibandingkan terhadap *E. coli* (15 mm; 15,27 mm; 15,7 mm). Perbedaan efektivitas ciprofloxacin terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dipengaruhi oleh struktur dinding sel. Ciprofloxacin menghambat enzim DNA girase dan topoisomerase IV yang penting dalam replikasi DNA. Pada *E. coli* Gram negatif, lapisan lipopolisakarida menghalangi penetrasi obat sehingga efektivitasnya menurun. Jadi, ciprofloxacin lebih mudah masuk dan bekerja efektif pada bakteri gram positif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sreedevi (2025) bahwa Studi in vitro juga menunjukkan ciprofloxacin bahwa ciprofloxacin lebih unggul dalam menyerang bakteri Gram-positif dibandingkan Gram-negatif, yang dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel dan target enzim yang berbeda pada kedua jenis bakteri.

Sementara itu, kontrol negatif berupa DMSO 10% sama sekali tidak menunjukkan zona hambat terhadap kedua jenis bakteri. Hal ini dikarenakan DMSO (Dimetil sulfoksida) pada konsentrasi tersebut tidak

memiliki aktivitas antibakteri. DMSO hanya berfungsi sebagai pelarut untuk mengekstraksi senyawa aktif dari bahan uji dan tidak mengandung senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Rachmawati (2018) bahwa DMSO adalah pelarut yang sangat baik untuk melarutkan senyawa organik. Pada konsentrasi rendah, DMSO tidak bersifat antibakteri, sehingga tidak mempengaruhi validitas hasil uji. Oleh karena itu, tidak terbentuk zona hambat atau 0 mm.

Perlakuan kontrol positif ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana terhadap bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat berturut-turut sebesar 15 mm; 15,27 mm; dan 15,7 mm. Sementara pada *S. aureus* memiliki zona hambat berturut-turut sebesar 17,87 mm; 18 mm; dan 18,37 mm. hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif antibiotik ciprofloxacin yang digunakan cenderung lebih sensitif terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan kontrol negatif DMSO 10% di berbagai variasi pelarut tidak memiliki zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Hasil pengamatan berdasarkan konsentrasinya, dapat dilihat bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana mesokarp siwalam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri diketahui mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi sehingga didapat hasil rata-rata zona hambat paling tinggi pada perlakuan K3 (konsentrasi 75%). Perbedaan konsentrasi menyebabkan diameter zona hambat bervariasi. Semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan konsentrasi yang tinggi berarti memiliki kandungan senyawa bioaktif yang lebih banyak. Senyawa aktif

seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin memiliki kemampuan merusak membran sel bakteri, menghambat sintesis protein, serta mengganggu fungsi enzim bakteri. Dengan jumlah senyawa yang lebih banyak pada konsentrasi tinggi, efektivitas hambatan terhadap pertumbuhan bakteri menjadi lebih kuat. Oleh karena itu, konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi memberikan daya antibakteri yang lebih optimal. Selain itu, efek sinergis antar senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid dalam ekstrak tumbuhan seringkali lebih berperan dalam menghasilkan aktivitas antibakteri yang optimal dibandingkan efek satu senyawa tunggal. Hal ini didukung oleh penelitian Rahminiwati (2024) bahwa pada ekstrak biji bengkuang, antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* merupakan hasil interaksi secara sinergis antara senyawa-senyawa flavonoid, tanin, kuinon, alkaloid, dan triterpenoid yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

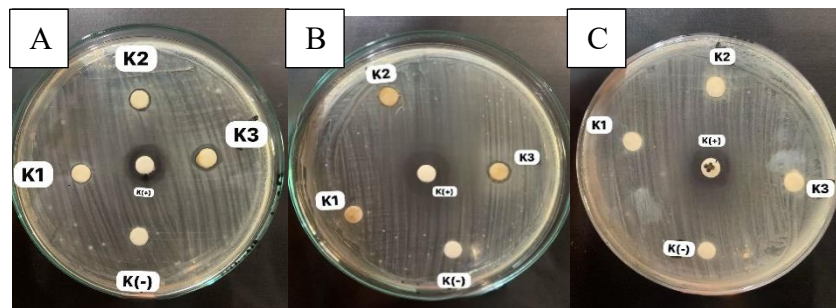
Hasil pengamatan berdasarkan pelarutnya, menunjukkan bahwa baik pada bakteri *E.coli* maupun *S. aureus*, ekstrak etanol memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri paling tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksana yang menempati urutan zona hambat terendah. Ekstrak etanol menunjukkan daya hambat tertinggi terhadap bakteri dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan n-heksana karena etanol merupakan pelarut polar yang mampu melarutkan lebih banyak jenis senyawa bioaktif, terutama senyawa polar hingga semi-polar seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut telah diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang kuat. Menurut penelitian

Arni (2024), sifat etanol yang polar juga memungkinkannya mengekstraksi senyawa aktif dalam jumlah yang lebih besar dan beragam dibandingkan etil asetat yang bersifat semi-polar, maupun n-heksana yang bersifat nonpolar dan hanya efektif melarutkan senyawa nonpolar seperti minyak atsiri atau senyawa terpenoid tertentu.

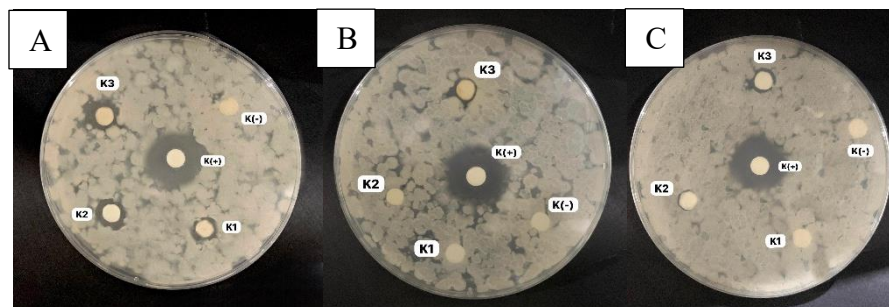
*S. aureus* pada konsentrasi tertinggi di ketiga variasi lebih sensitif daripada bakteri *E. coli*. Bakteri *S. aureus* lebih sensitif karena adanya perbedaan karakteristik struktur dinding sel dari kedua bakteri. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki lapisan luar berupa lipopolisakarida, yang berfungsi sebagai penghalang terhadap masuknya senyawa asing, termasuk senyawa antibakteri. Struktur ini membuat *E. coli* lebih resisten terhadap senyawa aktif dalam ekstrak. Penelitian oleh Salsabilla (2023) juga menunjukkan bahwa membran luar Gram-negatif seperti *E. coli* mengandung lipid tinggi, yang secara signifikan mengurangi permeabilitas senyawa antibakteri.

Sebaliknya, *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang tidak memiliki lapisan lipopolisakarida, sehingga dinding selnya lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri. Hal ini sependapat dengan Apriliantisyah (2023) yang menyatakan bahwa *S. aureus* (Gram positif) tidak memiliki membran luar lipopolisakarida sehingga dinding selnya hanya terdiri dari peptidoglikan tebal yang lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri. Selain itu, senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak bekerja dengan cara merusak dinding sel, mengganggu metabolisme sel, dan menghambat sintesis

protein. Karena struktur dinding sel *S. aureus* lebih rentan, efektivitas senyawa tersebut menjadi lebih tinggi, yang ditunjukkan oleh zona hambat yang lebih besar. Oleh karena itu, ketiga jenis ekstrak cenderung memberikan daya hambat yang lebih kuat terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*.



Gambar 4.3. Hasil uji antibakteri mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap *E. coli* (A) Ekstrak Etanol; (B) Ekstrak Etil Asetat; (C) Ekstrak n-Heksana



Gambar 4.4 Hasil uji antibakteri mesokarp siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap *S. aureus* (A) Ekstrak Etanol; (B) Ekstrak Etil Asetat; (C) Ekstrak n-Heksana

Gambar 4.3 dan 4.4 merupakan hasil uji antibakteri ekstrak etanol, etil asetat, dan ekstrak n-heksana dengan variasi konsentrasi dan perlakuan kontrol mesokarp siwalan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Gambar 4.3 dan 4.4 menunjukkan bahwa dalam pengujian antibakteri ini, menghasilkan zona hambat di sekeliling kertas cakram yang berisi ekstrak.

Zona hambat yang terbentuk pada media agar menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa bioaktif dalam ekstrak mesokarp siwalan. Ketika cakram kertas yang telah diberi ekstrak diletakkan pada media yang telah diinokulasi bakteri, senyawa antibakteri akan berdifusi ke lingkungan sekitar cakram. Senyawa tersebut menghambat pertumbuhan bakteri dengan berbagai mekanisme, tergantung pada sifat dan target sel bakteri. Akibatnya, terbentuk zona bening di sekitar cakram (zona hambat) yang menandakan area di mana pertumbuhan bakteri berhasil dicegah. Besarnya zona hambat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa aktif, daya difusi senyawa dalam media, serta kepekaan bakteri terhadap senyawa tersebut.

Flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak mesokarp siwalan diketahui memiliki peran penting dalam aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Senyawa-senyawa ini bekerja melalui berbagai mekanisme yang mengganggu struktur dan fungsi sel bakteri. Salah satu senyawa tersebut adalah flavonoid, yang dapat merusak membran sel dan menurunkan permeabilitasnya sehingga terjadi kebocoran isi sel. Menurut penelitian Wahyuni (2021), flavonoid juga mengganggu sintesis asam nukleat dan enzim bakteri. Pada *E. coli* yang merupakan bakteri Gram negatif, flavonoid relatif sulit menembus lapisan lipopolisakarida, namun tetap menunjukkan efektivitas pada konsentrasi tinggi. Sementara itu, terhadap *S. aureus* yang merupakan Gram positif, struktur dinding sel yang lebih sederhana memungkinkan flavonoid bekerja lebih optimal.

Selanjutnya, senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja dengan menginterferensi sintesis DNA dan RNA melalui penghambatan enzim topoisomerase atau interaksi langsung dengan asam nukleat. Alkaloid menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi pada *S. aureus* karena penetrasi ke dalam sel lebih cepat akibat struktur dinding sel yang tidak sekompleks *E. coli*. Hal ini sependapat dengan Rijayanti (2014) bahwa mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Tanin juga berperan penting sebagai antibakteri melalui kemampuannya mengendapkan protein dan enzim bakteri, yang mengganggu fungsi enzim esensial dan merusak permeabilitas membran. Efektivitas tanin lebih tinggi terhadap *S. aureus* karena bakteri ini memiliki dinding sel yang lebih mudah ditembus. Selain itu, terpenoid sebagai senyawa lipofilik dapat dengan mudah menyusup ke dalam membran lipid sel bakteri, merusak integritas membran, dan menyebabkan kebocoran isi sitoplasma. Senyawa ini juga menunjukkan aktivitas yang lebih kuat pada *S. aureus* karena tidak terhalang oleh lapisan lipopolisakarida seperti pada *E. coli*. Terakhir, saponin bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan sterol pada membran sel, yang kemudian menyebabkan kebocoran dan lisis sel. Efek penghambatan saponin juga lebih dominan pada *S. aureus*, karena struktur dinding sel Gram positif lebih mudah ditembus dibandingkan dengan Gram negatif. Hal ini sependapat dengan pernyataan Kurniawaty (2022) yang menyatakan menyebutkan bahwa dalam ekstrak daun bakau

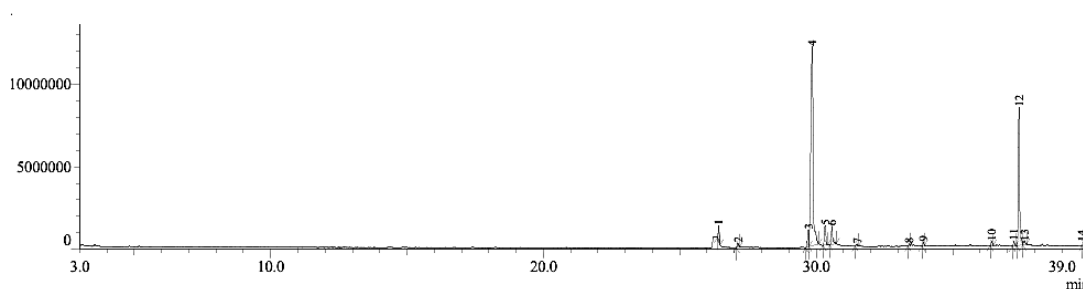
terdapat saponin, tanin, flavonoid, dan terpenoid yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri, dengan mekanisme kerja saponin merusak porin membran, tanin membentuk kompleks hidrofobik dengan protein sehingga mengaktifasi enzim dan protein transport, serta flavonoid yang merusak membran sel.

Secara umum, ekstrak mesokarp siwalan belum dapat dikategorikan sangat efektif, karena diameter zona hambatnya masih relatif rendah (semuanya  $<10$  mm). Menurut Kumesan *et al.*, (2013) Klasifikasi daya hambat pertumbuhan dibagi atas: sangat kuat ( $>20$  mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah ( $<5$  mm). Hal ini menandakan bahwa ekstrak mesokarp siwalan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, masih tergolong kategori sedang. meskipun masih dalam kategori efektivitas rendah hingga sedang. Efektivitas yang lebih baik terhadap *S. aureus* juga sejalan dengan pernyataan bahwa bakteri Gram positif lebih rentan terhadap senyawa bioaktif karena dinding selnya lebih sederhana.

#### **4.4. Analisis Senyawa Bioaktif dengan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)**

GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa dalam larutan atau ekstrak. Alat ini terdiri dari dua bagian utama, yaitu Gas Chromatograph (GC) dan Mass Spectrometer (MS). Menurut Nugraha dan Nandiyanto (2021), GC berfungsi untuk memisahkan senyawa dalam sampel berdasarkan waktu retensinya, sehingga dapat diidentifikasi jenis senyawa organik yang

terkandung. Sementara itu, MS memberikan informasi mengenai struktur molekul dari senyawa yang telah dipisahkan. Uji GC-MS pada penelitian ini dilakukan pada sampel ekstrak yang menunjukkan hasil terbaik, yaitu pada ekstrak etanol mesokarp siwalan.



Gambar 4.4.1. Grafik Kromatogram Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Hasil analisis GC-MS pada ekstrak etanol mesokarp siwalan ditunjukkan pada kromatogram Gambar 4.4.1. Berdasarkan hasil kromatogram tersebut diketahui bahwa terdapat 14 puncak (peak) yang mewakili 14 senyawa ekstrak etanol mesokarp siwalan yang berhasil diidentifikasi. Dari hasil analisis, diperoleh lima senyawa yang memiliki persen area yang paling signifikan dibandingkan dengan senyawa lainnya. Secara berurutan, kelima senyawa tersebut terdiri dari 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS), 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS), Oleic Acid, dan Acetic acid, (triphenylphosphoranylidene)-, methyl ester (CAS) dengan persen luas area secara berurutan yaitu 3.50%, 59.75%, 3.90%, 3.38%, dan 23.27%.

Luas area puncak pada kromatogram pada hasil analisis GC-MS menunjukkan kelimpahan suatu senyawa pada sampel uji, sehingga semakin luas area puncak (peak) yang nampak pada grafik kromatogram tersebut, menunjukkan bahwa

maka semakin tinggi pula konsentrasi senyawa tersebut di dalam sampel yang diuji. Secara keseluruhan senyawa-senyawa yang terdeteksi pada ekstrak etanol mesokarp siwalan yang dianalisis menggunakan GC-MS. Terdapat 14 jenis senyawa dengan peak area dan retensi waktu yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.1. berikut:

Tabel 4.4.1 Hasil Uji GC-MS Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan

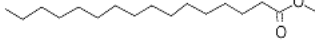
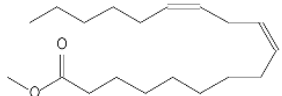
| No. puncak | Waktu Retensi | Luas Area | Luas Area% | Nama Senyawa                                                   |
|------------|---------------|-----------|------------|----------------------------------------------------------------|
| 1.         | 26.426        | 2196710   | 1.87       | Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)                          |
| 2.         | 27.126        | 724221    | 0.62       | n-Hexadecanoic acid                                            |
| 3.         | 29.715        | 4121304   | 3.50       | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)           |
| 4.         | 29.853        | 70340987  | 59.75      | 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS)                  |
| 5.         | 30.330        | 4593396   | 3.90       | Octadecanoic acid, methyl ester                                |
| 6.         | 30.576        | 3974208   | 3.38       | Oleic Acid                                                     |
| 7.         | 31.488        | 407011    | 0.35       | 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester                        |
| 8.         | 33.415        | 348391    | 0.30       | Octadecanoic acid (CAS)                                        |
| 9.         | 33.929        | 636188    | 0.54       | Eicosanoic acid, methyl ester (CAS)                            |
| 10.        | 36.429        | 678094    | 0.58       | DI-(9-OCTADECENOYL)-GLYCEROL                                   |
| 11.        | 37.243        | 895283    | 0.76       | Doc osanoic acid, methyl ester (CAS)                           |
| 12.        | 37.434        | 27395883  | 23.27      | Acetic acid, (triphenylphosphoranylidene)-, methyl ester (CAS) |
| 13.        | 37.616        | 868243    | 0.74       | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro- (CAS)                   |
| 14.        | 39.800        | 538889    | 0.46       | Nonadecane (CAS)                                               |

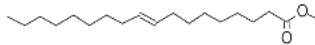
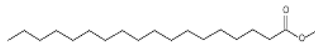
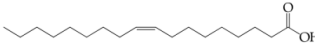
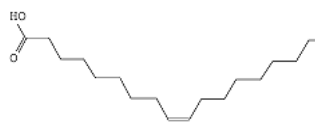
Senyawa kimia yang terdeteksi memiliki persen peak area terbesar pada kromatogram adalah 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS). Senyawa ini termasuk ke dalam golongan ester metil asam lemak tak jenuh tunggal dan senyawa ester metil dari asam oleat dengan konfigurasi ikatan rangkap trans (E) pada posisi karbon ke-9. Konsentrasi 9-octadecenoic acid, methyl ester yang tinggi pada ekstrak polar disebabkan oleh kelimpahan alamnya dalam bahan dan kemampuan pelarut polar seperti etanol untuk mengekstrak sebagian senyawa non-polar, terutama jika jumlahnya sangat dominan. Hal ini didukung

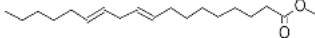
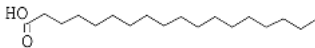
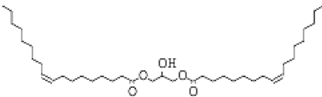
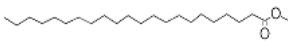
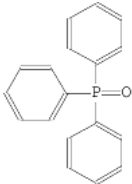
oleh Sundari (2025) bahwa hasil analisis GC-MS ekstrak etanol *Actinopyga echinites* yang juga menunjukkan 9-octadecenoic acid (Z)- sebagai salah satu komponen utama meskipun menggunakan pelarut polar.

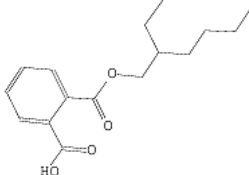
9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS) terdiri dari asam lemak rantai panjang yang memiliki satu ikatan rangkap karbon-karbon, yang berperan penting dalam berbagai aplikasi farmasi dan industri. 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-(CAS) banyak ditemukan dalam minyak nabati dan memiliki sifat kimia yang stabil sehingga digunakan sebagai bahan baku dalam parfum serta memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri Asghar *et al* (2011), antioksidan, dan antikanker. Hal ini sesuai dengan penelitian Maharani (2021) yang menunjukkan bahwa senyawa 9-octadecenoic acid, methyl ester terkandung dalam ekstrak etanol daun sirih hitam bermanfaat sebagai bahan parfum, antibakteri, antioksidan, antikanker, serta antidiabetes.

Tabel 4.4.2. Karakterisasi Senyawa Yang Terdeteksi Pada Mass Spektra (MS)

| No. | Nama Senyawa                                        | Massa Molekul | Rumus Molekul                                  | Struktur Molekul                                                                     | Manfaat                                                                                                                                                                                                                      |
|-----|-----------------------------------------------------|---------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)               | 270           | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> |   | Antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, (Karunia <i>et al.</i> , 2017), (Gupta <i>et al.</i> , 2023), dan antifungi (davoodbasha <i>et al.</i> , 2018).                                                                     |
| 2.  | n-Hexadecanoic acid                                 | 256           | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> |   | Antiinflamasi, (Agidew <i>et al.</i> , 2021; Safnowandi, 2022). antimikroba, antioksidan, dan antikanker (Etika, 2024).                                                                                                      |
| 3.  | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z), methyl ester (CAS) | 294           | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> |  | Anti-aterogenik, anti-inflamasi, antioksidan, dan antikarsinogenik (Kim <i>et al.</i> , 2016). Mengontrol hiperkolesterolemia, fungsi imunomodulator, dan peningkatan metabolisme tulang (Virsangbhai <i>et al.</i> , 2019). |

|    |                                               |     |                                                |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                     |
|----|-----------------------------------------------|-----|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4. | 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS) | 296 | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> |  | Antibakteri (Asghar <i>et al.</i> , 2011), sebagai bahan parfum, memiliki sifat antioksidan dan anti kanker, dan antidiabetes (Maharani, 2021).                                                                                                     |
| 5. | Octadecanoic acid, methyl ester               | 298 | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> |  | Antivirus seperti influenza A dan B, campak, dan parainfluenza (Linton, 2013).                                                                                                                                                                      |
| 6. | Oleic Acid                                    | 282 | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> |  | Antibakteri (Taslim <i>et al.</i> , 2016), anti inflamasi (Fernandes <i>et al.</i> , 2017).                                                                                                                                                         |
| 7. | 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester       | 294 | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> |  | Antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , (Nandhini <i>et al.</i> , 2025), Antioksidan, anti inflamasi dan anti arthritis, hepatoprotektif, antihistaminik hipokolesterolemik, dan antieksemik (Mu'nisa, 2017). |

|     |                                                                |     |                    |                                                                                      |                                                                                                                                                                   |
|-----|----------------------------------------------------------------|-----|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 8.  | Octadecanoic acid (CAS)                                        | 284 | $C_{19}H_{36}O_2$  |   | Antibakteri, Antivirus (Influenza A)Antiekmematik, Antiseboroik, Antihipoksia, Antimutagenik, Antiinflamasi usus, Antisekretorik, (Wasilah <i>et al.</i> , 2021). |
| 9.  | Eicosanoic acid, methyl ester (CAS)                            | 326 | $C_{21}H_{42}O_2$  |   | Antipsikotik (Yui <i>et al.</i> , 2015).                                                                                                                          |
| 10. | DI-(9-OCTADECENOYL)-GLYCEROL                                   | 620 | $C_{39}H_{72}O_5$  |   | Belum diketahui                                                                                                                                                   |
| 11. | Docosanoic acid, methyl ester (CAS)                            | 354 | $C_{23}H_{46}O_2$  |   | Belum diketahui                                                                                                                                                   |
| 12. | Acetic acid, (triphenylphosphoranylidene)-, methyl ester (CAS) | 334 | $C_{21}H_{19}O_2P$ |  | Belum diketahui                                                                                                                                                   |

- |     |                                                 |     |                   |                                                                                     |                                                                            |
|-----|-------------------------------------------------|-----|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 13. | 1,2-Benzenedicarboxylic acid,<br>3-nitro- (CAS) | 278 | $C_{16}H_{22}O_4$ |  | Antibakteri dan antifouling<br>(Ridhwan <i>et al.</i> , 2024).             |
| 14. | Nonadecane (CAS)                                | 268 | $C_{19}H_{40}$    |  | Antimikroba, anti-HIV, dan<br>antioksidan (Kumar <i>et al.</i> ,<br>2018). |
-

Berdasarkan tabel 4.4.2. senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol mesokarp siwalan memiliki berbagai macam manfaat, dari 14 senyawa yang terdeteksi, terdapat 7 senyawa yang memiliki fungsi sebagai antibakteri yaitu Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS; 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- (CAS); oleic acid; 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester; Octadecanoic acid (CAS); 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro- (CAS); dan Nonadecane (CAS). Lima dari senyawa tersebut berasal dari kelompok asam lemak jenuh ((asam palmitat (Hexadecanoic acid) & asam stearat (Octadecanoic acid)) dan asam lemak tak jenuh ((oleat (Oleic acid), 9-Octadecenoic acid methyl ester (konfigurasi trans), dan 9,12-Octadecadienoic acid methyl ester) sementara satu senyawa berasal dari kelompok senyawa aromatic (1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro-) dan nonadecane merupakan senyawa golongan alkana.

Mekanisme kerja asam lemak dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* terjadi melalui gangguan pada membran sel bakteri. Asam lemak menembus membran dan merusak struktur lipid bilayer, sehingga meningkatkan permeabilitas membran. Kondisi ini menyebabkan kebocoran elektrolit dan protein penting dari dalam sel, yang mengganggu fungsi membran sebagai penghalang selektif. Akibatnya, bakteri kehilangan komponen vital dan mengalami kematian. Studi oleh Agustini *et al.* (2017) menunjukkan bahwa asam lemak yang diisolasi dari mikroalga *Lyngbya* sp. mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat mencapai 30,30 mm melalui mekanisme peningkatan permeabilitas membran. Asam lemak tak jenuh cenderung memiliki aktivitas antibakteri

yang lebih kuat dibandingkan asam lemak jenuh, karena keberadaan ikatan rangkap mempermudah penetrasi ke dalam membran bakteri. Hal ini sependapan dengan Desbois & Smith (2010) yang membuktikan bahwa asam lemak tak jenuh memiliki kemampuan lebih baik dalam mengganggu membran sel bakteri karena struktur ikatan rangkapnya yang mempengaruhi fluiditas dan permeabilitas membran, sehingga meningkatkan penetrasi dan efek antibakteri.

Mekanisme antibakteri senyawa aromatik 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro- dimulai dengan kemampuannya untuk berikatan dengan enzim PBP5 dan PBP6 merupakan enzim  $\alpha$ -karboksipeptidase utama pada *E. coli* dan *S. aureus* yang berperan dalam sintesis dinding sel. Senyawa ini membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino di situs aktif enzim sehingga menghambat aktivitas dan mengganggu proses pembentukan dinding sel bakteri. Selain itu, senyawa aromatik juga meningkatkan permeabilitas membran bakteri, menyebabkan kebocoran komponen intraseluler yang esensial bagi kelangsungan hidup sel. Hal ini sejalan dengan hasil molecular docking pada penelitian Osman *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa ekstrak alga *Turbinaria triquetra* dan *Cystoseira trinodis* mengandung senyawa aromatik yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan *B. subtilis*.

Sementara itu, Nonadecane sebagai senyawa hidrokarbon alifatik rantai panjang, berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui mekanisme gangguan membran lipid sel bakteri. Interaksi nonadecane dengan membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas membran,

yang memicu kebocoran komponen intraseluler seperti enzim dan ion penting, sehingga mengganggu fungsi metabolik dan menyebabkan kematian sel bakteri. Penelitian Gayathri *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa hasil GC-MS pada ekstrak diethyl ether dari *Scenedesmus obliquus* menunjukkan kandungan nonadecane sebesar 76,10%, memiliki aktivitas antibakteri khususnya pada *Pseudomonas aeruginosa* NRRL B-272.

#### 4.5. Analisis Data

Analisis data hasil uji antibakteri ekstrak mesokarp buah siwala dilakukan menggunakan analisis Two Way ANOVA karena terdapat dua faktor bebas, yaitu jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dan jenis konsentrasi, serta satu variabel terikat berupa rata-rata zona hambat yang dihasilkan. menurut Rahmawati (2020), analisis ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh masing-masing faktor, baik secara individu maupun interaksinya terhadap efektivitas antibakteri dari ekstrak yang diuji.

Sebelum dilakukan uji ANOVA, data terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak. Hal ini sependapat dengan Dewi (2023) bahwa distribusi normal merupakan salah satu asumsi dasar yang harus dipenuhi sebelum dilakukan analisis statistik parametrik seperti ANOVA. Hasil uji normalitas pada penelitian ini baik dari bakteri *E.coli* maupun *S.aureus* menunjukkan bahwa seluruh data zona hambat memiliki nilai signifikansi (p-value) lebih dari 0,05, yang menandakan bahwa

data berdistribusi normal. Dengan demikian, asumsi normalitas terpenuhi dan data dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan uji parametrik.

Hasil uji Two-Way ANOVA, menunjukkan bahwa faktor pelarut dan konsentrasi masing-masing menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap daya hambat ekstrak terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (nilai Sig. = 0,000 < 0,05). Artinya, baik jenis pelarut maupun konsentrasi ekstrak secara terpisah memengaruhi efektivitas antibakteri. Sebaliknya, nilai signifikansi interaksi (pelarut dan konsentrasi) berturut-turut pada *E.coli* dan *S.aureus* sebesar 0,203 dan 0,156 (> 0,05) maka hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh signifikan dari kombinasi keduanya. Dengan demikian, peningkatan daya hambat lebih ditentukan oleh pengaruh masing-masing faktor, bukan dari interaksinya.

Setelah dilakukan uji Two-Way ANOVA, maka dilakukan uji lanjut menggunakan Duncan Multiple Range Test (DMRT). Hal ini bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan nyata, hal ini dikarenakan uji ANOVA hanya menunjukkan adanya perbedaan secara umum tanpa menjelaskan secara spesifik antar kelompok. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pada kedua jenis bakteri, pelarut etanol memberikan zona hambat paling besar dibandingkan pelarut etil asetat dan *n*-heksana. Terhadap *E. coli*, zona hambat tertinggi dihasilkan oleh etanol sebesar 8,144 mm, sedangkan terhadap *S. aureus* sebesar 7,078 mm. Sebaliknya, *n*-heksana menghasilkan zona hambat terendah pada kedua bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa polaritas pelarut berpengaruh terhadap efektivitas ekstraksi senyawa antibakteri, di mana etanol sebagai pelarut polar mampu melarutkan lebih

banyak senyawa aktif. Sementara itu, berdasarkan variasi konsentrasi, baik pada *E. coli* maupun *S. aureus*, konsentrasi tertinggi (K3) menghasilkan zona hambat terbesar, yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin kuat daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri.

## V. KESIMPULAN

### 5.1. Kesimpulan

**5.1.1.** Konsentrasi ekstrak mesokarp Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) berpengaruh terhadap kemampuan antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Konsentrasi 75% (K3) menunjukkan daya hambat paling besar dibandingkan konsentrasi lainnya, baik terhadap bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*.

**5.1.2.** Jenis pelarut memengaruhi efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Di antara pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol, pelarut etanol menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap kedua jenis bakteri uji.

### 5.2. Saran

Penelitian ini perlu dilakukan optimasi konsentrasi ekstrak dan jenis pelarut untuk meningkatkan efektivitasnya. Penelitian lanjutan juga sebaiknya mencakup uji toksisitas untuk memastikan keamanan ekstrak mesokarp siwalan sebelum dapat dipertimbangkan sebagai produk antibakteri alami yang aman digunakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adigunawan, I. W. B. 2018. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Doctoral dissertation*, Jurusan Analis Kesehatan.
- Agidew, M. G., Dubale, A. A., Atlabachew, M., & Abebe, W. 2021. Fatty Acid Composition, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity of White and Black Sesame Seed Varieties from Different Localities of Ethiopia. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-10.
- Agustien, G. S., & Susanti, S. 2022. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*). In *Prosiding Seminar Nasional Farmasi Universitas Ahmad Dahlan* (Vol. 1).
- Agustina, S., dkk. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Indonesia E-Journal of Applied Chemistry*, Vol 4 No 1.
- Agustini, N. W. S., Kusmiati, & Handayani, D. 2017. Aktivitas Antibakteri Dan Identifikasi Senyawa Kimia Asam Lemak Dari Mikroalga *Lyngbya* sp. *Jurnal JPBKP*.
- Amalia, S., Fasya, A. G., Hasanah, F., & Yuliani, D. 2018. Pemisahan Senyawa Aktif Fraksi Petroleum Eter dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* dari Ranu Grati Pasuruan. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 6(2): 50-56
- Anderson KL, Whitlock JE, Harwood VJ. 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Appl. Environ. Microbiol*, 71:3041–3048
- Anggista, G., Pangestu, I. T., Handayani, D., Yulianto, M. E., & Astuti, S. K. 2019. Penentuan Faktor Berpengaruh Pada Ekstraksi Rimpang Jahe Menggunakan Extraktor Berpengaduk. *Gema Teknologi*, 20(3):80-84.
- Aprilia, M., Sulistyanyingtyas, A. R., & Prastiyanto, M. E. 2021. Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Daging Buah Siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans*. In *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS* (Vol. 4).
- Apriliantisyah, W., Haidir, I., Sodikah, Y., & Said, M. F. M. 2022. Daya Hambat Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 2(10): 694-703.
- Apriyanti, I. R. 2018. Studi Potensi Pemanfaatan Limbah Serat Batok Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Sebagai Bahan Baku Kerajinan Lokal (Benang) Gresik. *Jurnal Teknologia*, 1(1): 79-86.

- Arni, V. Z. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida* Linn) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Doctoral dissertation*. Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong.
- Artiningsih, N. K. A., Irawan, T. A. B., & Wisnu, R. T. D. 2015. Optimasi Metode Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Buah Siwalan (*Borassus Flabellifer*) Untuk Pewarna Alami Bahan Pangan Dan Aplikasinya Pada Pembuatan Sari Buah Jeruk. *Serat Acitya*, 3(2): 85.
- Asghar, S., Rehman, M.I. Choudahry. and Rahman. 2011. Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis of Petroleum Ether Extract (Oil) and Bioassays of Crude Extract of Iris Germanica. *I. J. of Genetics and Molecular Biology*, 3(7): 95-100.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71-79.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Path.* 45(4):493-496.
- Bernhard, M. R. 2007. Budidaya Lontar (*Borassus sundaicus* Becc) Cultivation of Palmyra Palm (*Borassus sundaicus* Becc). *Buletin Palma No*, 32: 81.
- Bonang, G. 1992. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16.
- Burrows, W., Gordon, F.B., Porter, R.J., and Mowder, J.W. 1950. *Jordan-Burrows Textbook of Bacteriology 15 edition*. W. B Saunders Company. Philadelphia, USA.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev.* 12 (4): 564-582.
- Croxen, Matthew A, Law, Robyn J, Scholz, Roland, Keeney, Kristie M, Wlodarska, Marta, & Finlay, B Brett. 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, 26(4): 822-880.
- Depkes RI., 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Desbois, A. P., & Smith, V. J. 2010. Antibacterial Free Fatty Acids: Activities, Mechanisms Of Action And Biotechnological Potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6): 1629-1642.
- Dewi, S. S., Ermina, R., Kasih, V. A., Hefiana, F., Sunarmo, A., & Widianingsih, R. 2023. Analisis Penerapan Metode One Way Anova Menggunakan Alat Statistik Spss. *Jurnal Riset Akuntansi Soedirman*, 2(2):121-132.
- Diantika, F., Sutan, S. M., & Yulianingsih, R. 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3): 159-164.

- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republic Indonesia.
- Duddukuri GR, Yarla NS, Kaladhar DSVGK .2011. Preliminary studies on in vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of tender seed coat aqueous crude extract of *Borassus flabellifer* L. *Asian J Biochem Pharma Res Issue*; 3(1):517–23.
- Dwidjoseputro, D. 1980. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Gramedia: Jakarta.
- Fathurrohlim, M. F., Rezaldi, F., Abdilah, N. A., Fadillah, M. F., & Setyaji, D. Y. 2022. Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Sebagai Antibakteri *Propionibacterium acne*. *SIMBIOSA*, 11(1): 16-25.
- Fauziah, W. N. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun, Kulit Dan Biji Kelengkeng (*Euphoria longan* L.) Terhadap Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* Dan *Lactobacillus plantarum* Penyebab Kerusakan Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.). *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fernandes, GD, Gómez-Coca, RB, Pérez-Camino, MDC, Moreda, W., & Barrera-Arellano, D. 2017. Karakterisasi Kimia Senyawa Utama Dan Minor Dari Minyak Kacang: Almond, Hazelnut, Dan Pecan. *Jurnal Kimia* , 2017 (1): 2609549.
- Gayathri, V. R., Prakash, B., Yashika, J. V., Selvi, S. V., & Kumar, D. J. 2022. Molecular Docking Analysis Of Long-Chain Alkanes With The  $\beta$ -lactamase BEL-1 from *P. aeruginosa*. *Bioinformation*, 18(5): 460.
- Hairil, A. 2023. *Bakteriologi 2*. Jakarta
- Hidayatullah, S. H., & Mourisa, C. 2023. Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Aiton) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 7(1): 34-40.
- Horváth. G. Benesik, Tr Aos, K. & Kocsis, B. 2016. Sensitivity of ESBL. Producing Gram-Negative Bacteria to Essential Oils, Plant Extracts, Their Isolated Compounds. In Antibiotic Resistance: *Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*.
- Iksani, M., 2020. Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Buah Siwalan (*Borassus Flabellifer*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1)” 67-78.
- Janti, N. K. I. A. 2018. Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Biji Putin Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* Secara Vitro. *Diploma Thesis*. Jurusan Analis Kesehatan, Denpasar.

- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 2001. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. 2005. *Mikrobiologi kedokteran*. Buku 1. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg. 2005. *Medical Microbiology*. Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2: 123-140
- Kim, J. H., Kim, Y., Kim, Y. J., & Park, Y. 2016. Conjugated Linoleic Acid: Potential Health Benefits as a Functional Food Ingredient. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7(1): 221-244.
- Kumar, G., Karthik, M., & Rajakumar, R. 2018. Gc-Ms Analysis of Bioactive Compounds From Ethanolic Leaf Extract of *Waltheria indica* Linn. and Their Pharmacological Activities. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(5): 2005–2010.
- Kurniawaty, E., Megaputri, S., Mustofa, S., Rahmanisa, S., Audah, K. A., & Andriani, S. 2022. Ethanol Extract Of Bruguiera Gymnorhiza Mangrove Leaves And Propolis Activity On Macroscopic Healing Of Cuts In Vivo. *Acta Biochimica Indonesiana*, 5(1): 94.
- Lenggu, C. K. L., Indriarini, D., & Amat, A. L. S. 2020. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Daging Buah Lontar (*Borassus Flabellifer* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Secarain Virto. *Cendana Medical Journal*, 8(2): 96-107.
- Linton, R. E. A., Jerah, S. L., & Bin Ahmad, I. 2013. The effect of combination of octadecanoic acid, methyl ester and ribavirin against measles virus. *Int. J. Sci. Tech. Res*, 2(10), 181-4.
- Listari, Y. 2009. Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari *Rizosferfamilia poaceae* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal online*, 1-6.
- Lubis, S. S. Putri, D. M., 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2(3): 120-125.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2009. *Biology of Microorganisms*. 12th ed. New York: Prentice Hall International
- Maharani, R., & Fernandes, A. 2021. Profil fitokimia dan GC-MS daun sirih hitam (*Piper betle* L.) dari sekitar khdtk Labanan, Kabupaten Berau. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 25(1): 11-14.
- Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. 2012. Penentuan Kandungan Tanin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa*. 1(1): 40.

- Markom, M., Hasan, M., Daud, W.R.W., Singh, H., And Jaim, J.M., 2007, Extraction Of Hydrolysable Tannins From *Phyllanthus Niruri* L. :Effects Of Solvents And Extraction Methods, Separation And Purification Technology, 52: Pp. 487-496.
- Martiasih, M. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap *escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Doctoral dissertation*, UAJY.
- Mierza, V., Antolin, A., Ichsani, A., Dwi, N., Sridevi, S., & Dwi, S. 2023. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid: Research Article: Isolation and Identification of Terpenoid Compounds. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 9(2): 134-141.
- Misfadhila, S., Chandra, B., & Wahyuni, Y. 2020. Pengaruh Fraksi Air, Etil Asetat Dan n-Heksana Dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap kelarutan kalsium batu ginjal secara in vitro. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(2): 119-123.
- Mu'nisa, A., Syamsiah D, S. D., Rachmawaty, R., & Muflihunna, A. 2017. Analisis Senyawa Aktif pada Beberapa Tanaman Obat asal Sulawesi Barat.
- Nailufar, L. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* mill.) Terhadap Penutupan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Mencit *Mus musculus*. *Doctoral dissertation*, Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Nandasari, D. A. 2020. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air, Etanol Dan n-Heksana Kulit Bawang Merah *Allium cepa* L. Hasil Hidrolisis Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLT-A). *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Nandhini, K., Malini, G., Keerthana, R., Saradhai, P., & Sasikala, S. 2025. Analisis Fitokimia Enam Tanaman Obat Melalui Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) Dan Evaluasi Aktivitas Antibakterinya Terhadap Uropatogen MDR Yang Diisolasi Secara Klinis. *Vegetos* , 1-11.
- Novaryatiin, S., Handayani, R., & Chairunnisa, R. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepri* Sp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 3(2): 23-31.
- Osman, N. A., Nafie, M. S., Kang, H. K., Hyun, J. W., & Koh, Y. S. 2024. Chemical Composition, Antimicrobial Activity, and Molecular Docking of the Main Phytoconstituents from Three Rarely Investigated Marine Macroalgae. *Natural Product Communications*, 19(6), 1934578X241261016.
- Pangesti, D. W. 2020. Formulasi Sediaan Lotione ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.). *Doctoral dissertation*. Universitas AI-Ghifari, Bandung.

- Pattanaik C, Reddy CS, Dhal NK. 2008. Phytomedicinal study of coastal sand dune species of Orissa. *Indian J Tradit Knowl* ;7 (2):263–8.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. UI Press. Jakarta. Peraturan menteri kesehatan Republik Indonesia I Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011.
- Prasetya, N. B. A., & Sarjono, P. R. 2019. Synthesis and study of antibacterial activity of polyeugenol. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 50, (1), IOP Publishing.
- Pratiwi, R. 2021. Perbedaan Daya Hambat Terhadap *Streptococcus mutans* Dari beberapa Pasta Gigi Yang Mengandung Herbal. *Majalah Kedokteran Gigi*, 38(2) : 64 – 67.
- Rachmawaty, F. J., Akhmad, M. M., Pranacipta, S. H., Nabila, Z., & Muhammad, A. 2018. Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran dan kesehatan*, 18(1): 13-19.
- Rahmadani, S., Sa'diah, S., & Wardatun, S. 2018. Optimasi ekstraksi jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe) dengan metode maserasi. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1).
- Rahmawati, A. S., & Erina, R. 2020. Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dengan Uji Anova Dua Jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1): 54-62.
- Rahminiwati, M., Supardi, A. R., & Mahyuni, S. 2024. Sinergisme aktivitas antibakteri ekstrak biji bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan bioautografi.
- Rendrahadi, W. D. 2021. Analisa Kualitas Air tanah Berdasarkan Kandungan Bakteri (*Escherichia Coli*) pada Musim Kemarau di Kawasan Gumuk Pasir, bantul, Yogyakarta.
- Repi, Noviano, Chirti Mambo, dan Jane Wuisan. 2016. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4 (Juni).
- Ridhwan, M., Radiastuti, N., Bahri, S., Muhammad, A. A., Dwikencana, W., Haribowo, D. R., Solihat, N. A., & Ramadhan, F. 2024. Karakterisasi Dan Potensi Antibakteri Ekstrak Kapang Endofit Hasil Isolasi Dari *Sargassum* sp. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 10(4), 183–189.
- Rohalida, A. P., Kahdar, K., & Sunarya, Y. Y. 2022. Pemanfaatan Limbah Kulit Siwalan (*Borassus Flabellifer*) Sebagai Pewarna Alami untuk Produk Intimates (*Bra Mastektomi*). *Syntax Idea*, 4(1), 9-18.
- Rohman, D. F. 2021. Proses Produksi Serbuk Instan Sejati Dari Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dan Simplisia Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.).
- Rosa, D., Primiani, C. N., Bhagawan, W. S., & Pujiati, P. 2023. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Genitri (*Elaeocarpus ganitrus*) dari Magetan. In *Prosiding*

- Seminar Nasional Program Studi Farmasi UNIPMA (SNAPFARMA)* (Vol. 1, No. 1, pp. 146-153).
- Rupiniasih, N. nyoman, Indriani, Syamsuddin, & Razak, A. R. 2019. Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Kovalen, Jurnal Riset Kimia*, 5(2), 173–181.
- Safnowandi, S. 2022. Pemanfaatan Vitamin C Alami sebagai Antioksidan pada Tubuh Manusia. *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi*, 2(1), 6-13.
- Salsabila, S. 2023. Identifikasi Bakteri Dari Telapak Tangan Dengan Pewarnaan Gram. *CHEMVIRO: Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan (JKIL)* , 1 (1): 30-35.
- Saptowo, A., & Supriningrum, R. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis scheff*) terhadap Bakteri *propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Al Ulum: Jurnal Sains dan Teknologi*, 7(2): 93-97.
- Saputera, N., Nurkamalia, N., Zuraidah, Z., Qamariah, Q., & Hidayatullah, R. 2018. Rancang Bangun Alat Sterilisasi Kesehatan Berbasissmart Relay Zelio SR2 B121JD. In *Seminar Nasional Riset Terapan* (Vol. 3, pp. C20-C34).
- Sari, N. M. I., Hudha, A. M., & Prihanta, W. 2016. Uji Kadar Betasianin Pada Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) Dengan Pelarut Etanol Dan Pengembangannya Sebagai Sumber Belajar Biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(1), 72-77.
- Sarker SD, Latif Z, & Gray AI. 2006. Natural products isolation. In *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa (New Jersey). *Humana Press Inc*. hal. 6-10, 18.
- Sasudara, M. M. V., & Wiranata, I. G. 2022. Pengaruh Pelarut Dan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Dan Nilai Ic50 Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.). *Usadha*, 2(1): 7-13.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto. Hal 195.
- Sreedevi, A., Ligade, VS, & Dewan, S. 2025. Studi Bibliografi Komprehensif Tentang Kerangka Kerja Obat Generik Yang Kompleks. *Jurnal Ilmu Kedokteran Universitas Taibah* , 20 (2): 169-177.
- Sudarsono, Bambang. 2013. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Buah Kemukus (*Piper cubeba*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Karya Tulis Karya Tulis Ilmiah Tidak Diterbitkan. Malang: Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
- Sukamaluddin, Mulyadi, Dirawan GD, Amir F, Pertiwi N. 2016. Conservation status of lontar palm trees (*Borassus flabellifer* L.) in Jeneponto District, South Sulawesi, Indonesia. *Journal of Tropical Crop Science*. 3(1):28-33.
- Sumarno, S., Herry G., Sri R., Hindra IS., 2010. *Buku Ajar Infeksi dan Pediatric Tropis*. Edisi Kedua. FKUI-IDAI.

- Suoth, J. A., Sudewi, S., & Wewengkang, D. S. 2019. Analisis Korelasi Antara Flavonoid Total Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.). *Pharmacon*, 8(3): 591-600.
- Syafiyah, M. 2021. Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis* (In Vitro). *Doctoral dissertation*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Taslim, Muhammad Rizky Agung, & Sigit Purwanto. 2016. Ekstraksi Minyak Dari Biji Kurma (*Phoenix Dactylifera* L.) Dengan Metode Soxhlet Extraction Dengan Menggunakan Etil Asetat. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 5(2): 55–60.
- Virsangbhai, C. K., Goyal, A., Tanwar, B., & Sihag, M. K. J. 2019. Potential Health Benefits of Conjugated Linoleic Acid: An Important Functional Dairy Ingredient. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 11(4).
- Wahyuni, N. E., Yusuf, M., & Tutik, T. 2021. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *JFM (Jurnal Farmasi Malahayati)*, 4(2): 216-226.
- Wasilah, S., Sari, A. N., Nasution, R. S., & Diningrat, D. S. 202. Anti-meningitis agent potentially of *Syzygium cumini* Essential oil by GC-MS. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 753, No. 1, p. 012051). IOP Publishing.
- Yang X, Wang H. 2014. Pathogenic *E. coli*. Lacombe Research Centre, Lacombe. Canada.
- Yati H. I., Vincent H.S., 2008. *Penisilin, Sefalosporin dan Antibiotik Betalaktam lainnya dalam Farmakologi dan Terapi*, Edition 5. Jakarta, FKUI, 664-693
- Yui, K., Imataka, G., Nakamura, H., Ohara, N., & Naito, Y. 2015. Eikosanoid yang berasal dari asam arakidonat dan prostaglandin serta Siklooksigenase Dalam Gangguan Kejiwaan. *Neurofarmakologi terkini*, 13 (6): 776-785.
- Yulianti, I., Kusnadi, K., & Santoso, J. 2021. Identifikasi Tanin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Menggunakan Metode Maserasi dan Sokletasi. *Doctoral dissertation*, DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Zahro, L., & Agustini, R. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* antibacterial effectivity test of saponins crude extract from white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Against. *UNESA Journal of Chemistry*.
- Zela, Z., & Diah, A. W. M. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) Menggunakan 1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Media Eksakta*, 17(2): 85-90.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-NYA, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan Tugas akhir ini. Selama pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan ini penulis banyak mendapatkan bantuan, dukungan, serta bimbingan dari banyak pihak.

Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kash kepada:

1. Prof. Drs. Sapto Purnomo Putro, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro.
2. Prof. Dr. Endang Kusdiyantini, DEA selaku Ketua Laboratorium Biologi Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro
3. Dr. Arina Tri Lunggani, M.Si selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi selama penelitian dan penulisan laporan tugas akhir in sehingga dapat terselesaikan
4. Prof. Dr. Endang Kusdiyantini, DEA selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan banyak masukan, bimbingan, dan motivasi selama penelitian dan penulisan laporan tugas akhir.
5. Dwi Retno Fatmawati, M.Si. selaku Dosen Penguji atas kritik dan saran yang membangun dalam setiap ujian yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi.
6. Dr. Dra. Sri Darmanti, M.Si selaku Dosen Wali yang memberikan pengarahan dan motivasi untuk penulis.

7. Bapak dan Ibu dosen Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Atas bimbingan dan pengarahan selama penulis menuntut ilmu studi SI Biologi.
8. Orang tua tercinta. Bapak Lasmijan, Ibu Jumiati, dan Adek Hanum Vanesa Febriani yang tiada henti-hentinya mendoakan, memberikan semangat, dukungan, kasih sayang yang tidak dapat digantikan dengan apapun dari awal proses perkuliahan sampai dengan proses penyelesaian Skripsi ini. Selalu percaya pada potensi dan apapun yang penulis lakukan, selalu menguatkan, menyemangati, dan mengusahakan tanpa henti. InshaAllah, semoga do'a Bapak dan Ibu akan selalu mengiringi setiap langkah dan perjuangan yang dilakukan penulis.
9. Keluarga besar penulis, yang ikut membantu dalam memotivasi serta menasehati, dan mendukung penulis selama proses penulisan skripsi.
10. Teman-teman terdekat penulis. Miftakhul Fadzilah, Afni Diva Runnavilla, Aina Putri Sekar Arum, Novita Tri Apsari, Rahma Anggita Anma, Afifah Yulita Rahmayati, Radita Alya Wijaya, dan Rizkyara Syafozrah yang selalu membantu dan menyemangati penulis selama perkuliahan.
11. Teman-teman organisasi penulis yang telah berproses bersama dalam mempelajari hal-hal baru.
12. Semua teman-teman Laboratorium Bioteknologi dan teman-teman Biologi 2021 yang selalu ada dan memberi semangat dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan laporan Tugas Akhir ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan laporan Tugas Akhir ini.

Demikian, semoga laporan Tugas Akhir dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Semarang, 12 Juni 2025

Penulis

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Perhitungan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Mesokarp Siwalan

#### Lampiran 1.1 Perhitungan Rendemen

| Jenis pelarut | Warna ekstrak | Ekstrak awal (mL) | Hasil ekstrak pekat (mL) | Rendemen (%) |
|---------------|---------------|-------------------|--------------------------|--------------|
| Etanol        | Coklat tua    | 500               | 45                       | 9            |
| Etil Asetat   | Coklat muda   | 500               | 32                       | 6,4          |
| n-Heksana     | Kuning tua    | 500               | 30                       | 6            |

#### Lampiran 1.2 Perhitungan Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Rumus :  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$

Keterangan:

$C_1$  : konsentrasi awal ekstrak pekat (100%) tanpa DMSO

$V_1$  : volume ekstrak pekat 100% yang dibutuhkan.

$C_2$  : konsentrasi akhir yang ingin dibuat (25%, 50%, 75%).

$V_2$  : volume total larutan yang diinginkan (10 mL).

Setelah  $V_1$  dihitung, jumlah pelarut (DMSO 10%) yang harus ditambahkan adalah:

#### Langkah Perhitungan

##### 1. Untuk Konsentrasi 25%

- $C_2 = 25\%$ ,  $V_2 = 10$  mL.

- Hitung volume ekstrak ( $V_1$ ):

$$V_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1} = \frac{25 \cdot 10}{100} = 2.5 \text{ mL.}$$

- Volume pelarut ( $V_{\text{pelarut}}$ ):

$$V_{\text{pelarut}} = V_2 - V_1 = 10 - 2.5 = 7.5 \text{ mL.}$$

### 2. Untuk Konsentrasi 50%

- $C_2 = 50\%$ ,  $V_2 = 10 \text{ mL}$ .
- Hitung volume ekstrak ( $V_1$ ):

$$V_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1} = \frac{50 \cdot 10}{100} = 5 \text{ mL}.$$

- Volume pelarut ( $V_{\text{pelarut}}$ ):

$$V_{\text{pelarut}} = V_2 - V_1 = 10 - 5 = 5 \text{ mL}.$$

### 3. Untuk Konsentrasi 75%

- $C_2 = 75\%$ ,  $V_2 = 10 \text{ mL}$ .
- Hitung volume ekstrak ( $V_1$ ):

$$V_1 = \frac{C_2 \cdot V_2}{C_1} = \frac{75 \cdot 10}{100} = 7.5 \text{ mL}.$$

- Volume pelarut ( $V_{\text{pelarut}}$ ):

$$V_{\text{pelarut}} = V_2 - V_1 = 10 - 7.5 = 2.5 \text{ mL}.$$

## Lampiran 1.3 Perhitungan Pembuatan Variasi Kontrol Positif Dan Negatif

### a) Kontrol Positif Ciprofloxacin :

Pembuatan larutan stok ciprofloxacin

Konsentrasi = Volume larutan (mL) / Massa zat (mg)

Volume = Massa zat / Konsentrasi

Volume = 500 mg / 1 mg/mL

= 500 mL

Jadi, 500 mg ciprofloxacin dilarutkan dalam 500 mL pelarut untuk mendapatkan larutan stok 1 mg/mL (1000 µg/mL).

- b) Perhitungan pembuatan kontrol positif ciprofloxacin konsentrasi 3 µg/mL dilakukan dengan menambahkan 30 mikroliter larutan stok ciprofloxacin yang sudah dibuat kedalam 100 ml aquadest steril.
- c) Perhitungan pembuatan larutan kontrol negatif DMSO 10%

**Lampiran 3. Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan Terhadap Bakteri *E. Coli* dan *S. Aureus***

a) Tabel Hasil Rendemen Mesokarp Siwalan

| Jenis pelarut | Warna ekstrak | Ekstrak awal (mL) | Hasil ekstrak pekat (mL) | Rendemen (%) |
|---------------|---------------|-------------------|--------------------------|--------------|
| Etanol        | Coklat tua    | 500               | 45                       | 9            |
| Etil Asetat   | Coklat muda   | 500               | 32                       | 6,4          |
| n-Heksana     | Kuning tua    | 500               | 30                       | 6            |

b) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *E. coli*

| Ulangan   | Diameter Zona Hambat |      |      |              |      |
|-----------|----------------------|------|------|--------------|------|
|           | Konsentrasi (mm)     |      |      | Kontrol (mm) |      |
|           | 25%                  | 50%  | 75%  | (+)          | (-)  |
| 1         | 6,6                  | 7,4  | 6,6  | 14,4         | 0    |
| 2         | 6,2                  | 7,5  | 8,7  | 15,7         | 0    |
| 3         | 4,8                  | 6,9  | 9    | 14,9         | 0    |
| Total     | 17,6                 | 21,8 | 24,3 | 45           | 0    |
| Rata-rata | 5,87                 | 7,27 | 8,10 | 15,00        | 0,00 |

c) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *E. coli*

| Ulangan   | Diameter Zona Hambat |      |      |              |      |
|-----------|----------------------|------|------|--------------|------|
|           | Konsentrasi (mm)     |      |      | Kontrol (mm) |      |
|           | 25%                  | 50%  | 75%  | (+)          | (-)  |
| 1         | 3,7                  | 4,3  | 6,9  | 15,8         | 0    |
| 2         | 5,1                  | 6,1  | 6,2  | 14,9         | 0    |
| 3         | 4,2                  | 5,8  | 5,9  | 15,1         | 0    |
| Total     | 13                   | 16,2 | 19   | 45,8         | 0    |
| Rata-rata | 4,33                 | 5,40 | 6,33 | 15,27        | 0,00 |

d) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak n-Heksana Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *E. coli*

| Ulangan | Diameter Zona Hambat |     |     |              |     |
|---------|----------------------|-----|-----|--------------|-----|
|         | Konsentrasi (mm)     |     |     | Kontrol (mm) |     |
|         | 25%                  | 50% | 75% | (+)          | (-) |
| 1       | 0                    | 0   | 3,2 | 15,9         | 0   |
| 2       | 0                    | 0   | 2,6 | 14,1         | 0   |

|           |      |      |      |       |      |
|-----------|------|------|------|-------|------|
| 3         | 0    | 1,2  | 3,9  | 15,2  | 0    |
| Total     | 0    | 1,2  | 9,7  | 45,2  | 0    |
| Rata-rata | 0,00 | 0,40 | 3,23 | 15,07 | 0,00 |

- e) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *S. aureus*

| Ulangan   | Diameter Zona Hambat |      |      |              |      |
|-----------|----------------------|------|------|--------------|------|
|           | Konsentrasi (mm)     |      |      | Kontrol (mm) |      |
|           | 25%                  | 50%  | 75%  | (+)          | (-)  |
| 1         | 6,5                  | 8,3  | 9,7  | 19,2         | 0    |
| 2         | 7,1                  | 7,7  | 10,2 | 17,9         | 0    |
| 3         | 6,6                  | 8,1  | 9,1  | 16,5         | 0    |
| Total     | 20,2                 | 24,1 | 29   | 53,6         | 0    |
| Rata-rata | 6,73                 | 8,03 | 9,67 | 17,87        | 0,00 |

- a) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *S. aureus*

| Ulangan   | Diameter Zona Hambat |      |      |              |      |
|-----------|----------------------|------|------|--------------|------|
|           | Konsentrasi (mm)     |      |      | Kontrol (mm) |      |
|           | 25%                  | 50%  | 75%  | (+)          | (-)  |
| 1         | 1,8                  | 5,6  | 6,9  | 18,6         | 0    |
| 2         | 1,3                  | 6,3  | 8,1  | 18,3         | 0    |
| 3         | 1,4                  | 5,9  | 8,4  | 17,1         | 0    |
| Total     | 4,5                  | 17,8 | 23,4 | 54           | 0    |
| Rata-rata | 1,50                 | 5,93 | 7,80 | 18,00        | 0,00 |

- b) Tabel Diameter Zona Hambat Ekstrak n-Heksana Mesokarp Siwalan terhadap Bakteri *S. aureus*

| Ulangan   | Diameter Zona Hambat |      |      |              |      |
|-----------|----------------------|------|------|--------------|------|
|           | Konsentrasi (mm)     |      |      | Kontrol (mm) |      |
|           | 25%                  | 50%  | 75%  | (+)          | (-)  |
| 1         | 0                    | 3,2  | 6,3  | 19,5         | 0    |
| 2         | 1,1                  | 2,5  | 5,1  | 16,9         | 0    |
| 3         | 0                    | 1,6  | 4,5  | 18,7         | 0    |
| Total     | 1,1                  | 7,3  | 15,9 | 55,1         | 0    |
| Rata-rata | 0,37                 | 2,43 | 5,30 | 18,37        | 0,00 |

#### Lampiran 4. Analisis dan Pengolahan Data *E. coli*

a) Uji normalitas daya hambat terhadap *E. coli* berdasarkan Pelarut

##### Tests of Normality

| Pelarut     |             | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |       |
|-------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
|             |             | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig.  |
| Zona hambat | Etanol      | 0,148                           | 9  | 0,200 | 0,959        | 9  | 0,783 |
|             | Etil asetat | 0,215                           | 9  | 0,200 | 0,935        | 9  | 0,531 |
|             | n-Heksana   | 0,331                           | 9  | 0,183 | 0,768        | 9  | 0,119 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji normalitas daya hambat terhadap *E. coli* berdasarkan Konsentrasi

##### Tests of Normality

| Konsentrasi |    | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |       |
|-------------|----|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
|             |    | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig.  |
| Zona Hambat | K1 | 0,229                           | 9  | 0,189 | 0,843        | 9  | 0,062 |
|             | K2 | 0,233                           | 9  | 0,173 | 0,837        | 9  | 0,154 |
|             | K3 | 0,169                           | 9  | 0,200 | 0,936        | 9  | 0,545 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

c) Perhitungan Analisis Two-Way Anova *E. coli*

##### Descriptive Statistics

| Dependent Variable: |       |       |                |    |
|---------------------|-------|-------|----------------|----|
| Pelarut             |       | Mean  | Std. Deviation | N  |
| Etanol              | K1    | 5,867 | 0,9452         | 3  |
|                     | K2    | 7,267 | 0,3215         | 3  |
|                     | K3    | 8,100 | 1,3077         | 3  |
|                     | Total | 7,078 | 1,2775         | 9  |
| Etil Asetat         | K1    | 4,333 | 0,7095         | 3  |
|                     | K2    | 5,400 | 0,9644         | 3  |
|                     | K3    | 6,333 | 0,5132         | 3  |
|                     | Total | 5,356 | 1,0841         | 9  |
| n-Heksana           | K1    | 0,000 | 0,0000         | 3  |
|                     | K2    | 0,400 | 0,6928         | 3  |
|                     | K3    | 3,233 | 0,6506         | 3  |
|                     | Total | 1,211 | 1,5988         | 9  |
| Total               | K1    | 3,400 | 2,7005         | 9  |
|                     | K2    | 4,356 | 3,1357         | 9  |
|                     | K3    | 5,889 | 2,2696         | 9  |
|                     | Total | 4,548 | 2,8188         | 27 |

### Tests of Between-Subjects Effects

| Dependent Variable:   |                         |    |             |         |       |
|-----------------------|-------------------------|----|-------------|---------|-------|
| Source                | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig.  |
| Model                 | 754.487 <sup>a</sup>    | 9  | 83,832      | 142,177 | 0,000 |
| Pelarut               | 163,681                 | 2  | 81,840      | 138,800 | 0,000 |
| Konsentrasi           | 28,376                  | 2  | 14,188      | 24,063  | 0,000 |
| Pelarut * Konsentrasi | 3,917                   | 4  | 0,979       | 1,661   | 0,203 |
| Error                 | 10,613                  | 18 | 0,590       |         |       |
| Total                 | 765,100                 | 27 |             |         |       |

a. R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .979)

#### d) Uji Duncan

| Duncan <sup>a,b</sup> |   |        |       |       |
|-----------------------|---|--------|-------|-------|
| Pelarut               | N | Subset |       |       |
|                       |   | 1      | 2     | 3     |
| N-Heksana             | 9 | 1,211  |       |       |
| Etil Asetat           | 9 |        | 5,356 |       |
| Etanol                | 9 |        |       | 7,078 |
| Sig.                  |   | 1,000  | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on observed means.  
The error term is Mean Square(Error) = .590.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.  
b. Alpha = ,05.

### Zona\_Hambat

| Duncan <sup>a,b</sup> |   |        |       |       |
|-----------------------|---|--------|-------|-------|
| Konsentrasi           | N | Subset |       |       |
|                       |   | 1      | 2     | 3     |
| K1                    | 9 | 3,400  |       |       |
| K2                    | 9 |        | 4,356 |       |
| K3                    | 9 |        |       | 5,889 |
| Sig.                  |   | 1,000  | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
Based on observed means.  
The error term is Mean Square(Error) = .590.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.  
b. Alpha = ,05.

### Lampiran 5. Analisis dan Pengolahan Data *S.aureus*

a) Uji normalitas daya hambat terhadap *S.aureus* berdasarkan Pelarut

#### Tests of Normality

|             |             | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |       |
|-------------|-------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
| Pelarut     |             | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig.  |
| Zona_Hambat | Etanol      | 0,120                           | 9  | 0,200 | 0,947        | 9  | 0,660 |
|             | Etil asetat | 0,240                           | 9  | 0,145 | 0,856        | 9  | 0,087 |
|             | n-Heksana   | 0,132                           | 9  | 0,200 | 0,943        | 9  | 0,616 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji normalitas daya hambat terhadap *S.aureus* berdasarkan Konsentrasi

#### Tests of Normality

|             |    | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |       |
|-------------|----|---------------------------------|----|-------|--------------|----|-------|
| Konsentrasi |    | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig.  |
| Zona_Hambat | K1 | 0,307                           | 9  | 0,114 | 0,786        | 9  | 0,114 |
|             | K2 | 0,188                           | 9  | 0,200 | 0,907        | 9  | 0,298 |
|             | K3 | 0,156                           | 9  | 0,200 | 0,950        | 9  | 0,694 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

c) Uji Anova Two-Way terhadap *S.aureus*

#### Descriptive Statistics

Dependent Variable:

| pelarut     |       | Mean  | Std. Deviation | N  |
|-------------|-------|-------|----------------|----|
| etanol      | k1    | 6,733 | 0,3215         | 3  |
|             | k2    | 8,033 | 0,3055         | 3  |
|             | k3    | 9,667 | 0,5508         | 3  |
|             | Total | 8,144 | 1,3211         | 9  |
| etil asetat | k1    | 1,500 | 0,2646         | 3  |
|             | k2    | 5,933 | 0,3512         | 3  |
|             | k3    | 7,800 | 0,7937         | 3  |
|             | Total | 5,078 | 2,8389         | 9  |
| n-heksana   | k1    | 0,367 | 0,6351         | 3  |
|             | k2    | 2,433 | 0,8021         | 3  |
|             | k3    | 5,300 | 0,9165         | 3  |
|             | Total | 2,700 | 2,2528         | 9  |
| Total       | k1    | 2,867 | 2,9656         | 9  |
|             | k2    | 5,467 | 2,4935         | 9  |
|             | k3    | 7,589 | 2,0109         | 9  |
|             | Total | 5,307 | 3,1203         | 27 |

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:

| Source                | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig.  |
|-----------------------|-------------------------|----|-------------|----------|-------|
| Corrected Model       | 246.719 <sup>a</sup>    | 8  | 30,840      | 86,467   | 0,000 |
| Intercept             | 760,551                 | 1  | 760,551     | 2132,387 | 0,000 |
| pelarut               | 134,101                 | 2  | 67,050      | 187,992  | 0,000 |
| konsentrasi           | 100,690                 | 2  | 50,345      | 141,154  | 0,000 |
| pelarut * konsentrasi | 11,928                  | 4  | 2,982       | 8,361    | 0,156 |
| Error                 | 6,420                   | 18 | 0,357       |          |       |
| Total                 | 1013,690                | 27 |             |          |       |
| Corrected Total       | 253,139                 | 26 |             |          |       |

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .963)

d) Uji Duncan

#### zona\_hambat

Duncan<sup>a,b</sup>

| pelarut     | N | Subset |       |       |
|-------------|---|--------|-------|-------|
|             |   | 1      | 2     | 3     |
| n-heksana   | 9 | 2,700  |       |       |
| etil asetat | 9 |        | 5,078 |       |
| etanol      | 9 |        |       | 8,144 |
| Sig.        |   | 1,000  | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .357.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

#### zona\_hambat

Duncan<sup>a,b</sup>

| konsentrasi | N | Subset |       |       |
|-------------|---|--------|-------|-------|
|             |   | 1      | 2     | 3     |
| k1          | 9 | 2,867  |       |       |
| k2          | 9 |        | 5,467 |       |
| k3          | 9 |        |       | 7,589 |
| Sig.        |   | 1,000  | 1,000 | 1,000 |

## Lampiran 6 Sertifikat Hasil Uji GC-MS



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS DIPONEGORO**

**Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Terpadu Undip**

Jl. Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang, Kota Semarang, Indonesia

Telp/WA: 024-76918147 / 081910013241

Website: <https://labterpadu.undip.ac.id>

E-mail: [labterpadu@live.undip.ac.id](mailto:labterpadu@live.undip.ac.id)

### LAPORAN HASIL UJI (LHU)

**No. Seri : 2025-0721**

Nomor Kode Sampel Uji : SP 25-0691-04-02-1  
 Jenis Sampel Uji / Pengujian : Ekstrak/Serbuk Ekstrak/GCMS  
 Nama Pelanggan : Lola Sagita Sinta Sari (UNDIP)  
 Tanggal Penerimaan Contoh (jika sesuai) : 17-04-2025  
 Tanggal Pengambilan Contoh (jika sesuai) : -  
 Titik Pengambilan Contoh / koordinat : -  
 Tanggal Pengujian Contoh : 20-05-2025

| No. | Nama Sampel Uji                                | Parameter | Satuan | Nilai Hasil Analisis     | Metode Uji (SNI) / Alat | Keterangan |
|-----|------------------------------------------------|-----------|--------|--------------------------|-------------------------|------------|
| 1.  | SP 25-0691-04-02-1<br>(Ekstrak etanol siwalan) | GCMS      | -      | Hasil analisis terlampir | GCMS/Simadzu            | -          |

#### Keterangan:

Hasil pengujian terlampir

#### Catatan:

- UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro tidak bertanggung jawab terhadap penyalahgunaan hasil pengujian ini.
- Hasil analisis ini hanya berlaku untuk sampel uji yang dikirimkan ke UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.
- Dilarang mengutip/meng-copy dan/atau mempublikasikan sebagian isi laporan atau sertifikat ini tanpa seizin UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.

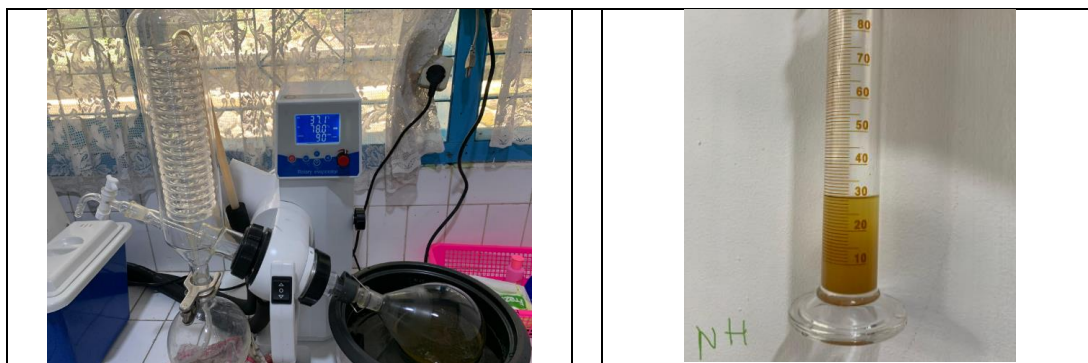
Semarang, 20-05-2025  
 Ketua Unit Pelaksana Pengujian dan Sertifikasi

Ir. Agus Hadivarto, M.T.

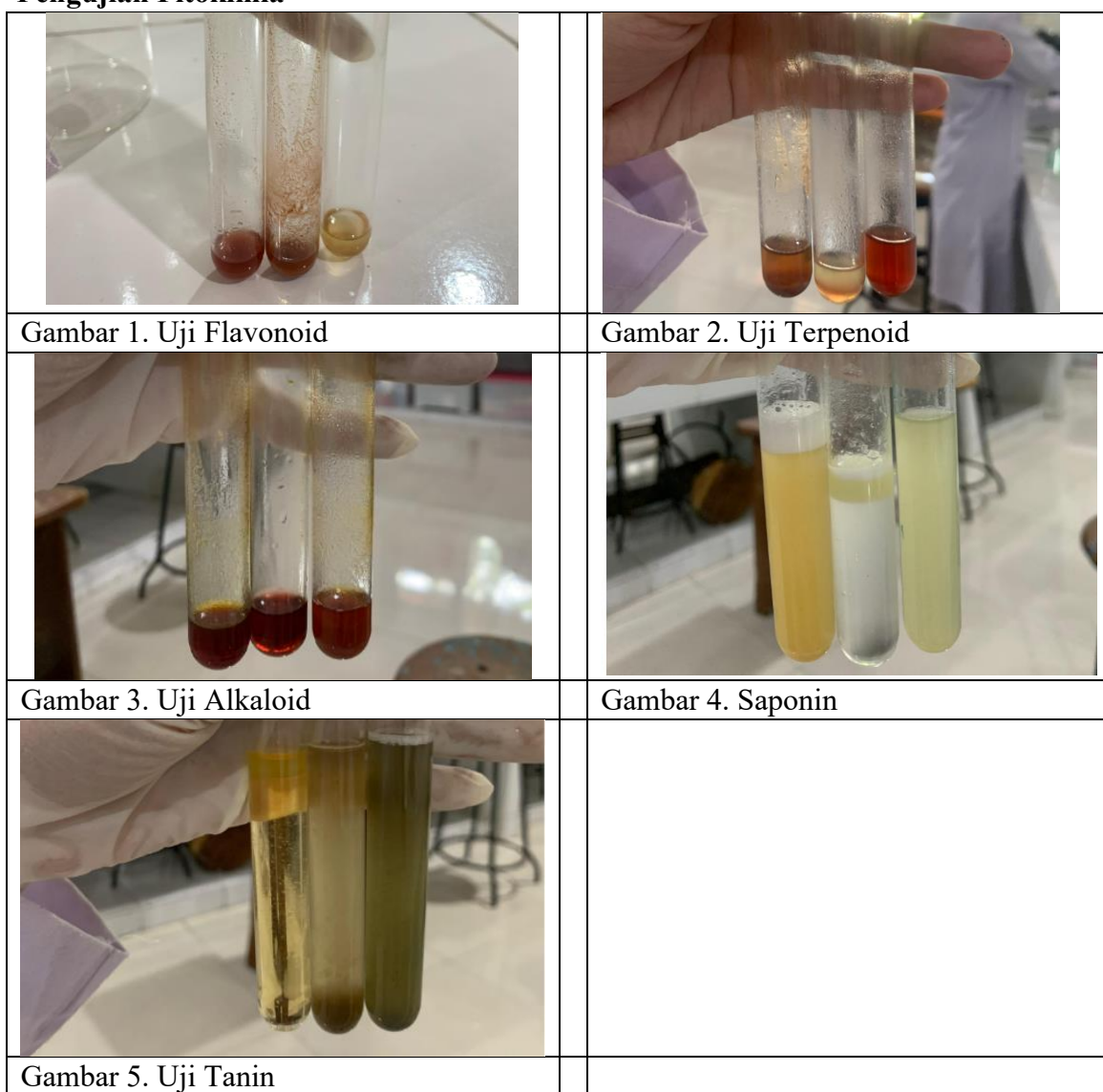
## Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

### a) Pembuatan Ekstrak Mesokarp Siwalan Dengan Metode Maserasi

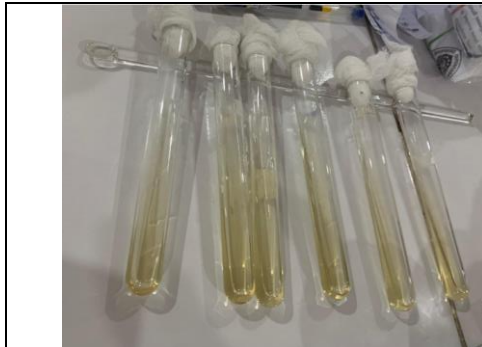
|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |
|    |    |
|  |  |
|  |  |
| <p>Gambar 7. Proses maserasi</p>                                                    | <p>Gambar 8. Penyaringan filtrat</p>                                                 |



**b) Pengujian Fitokimia**



c) Dokumentasi Pengujian Antibakteri



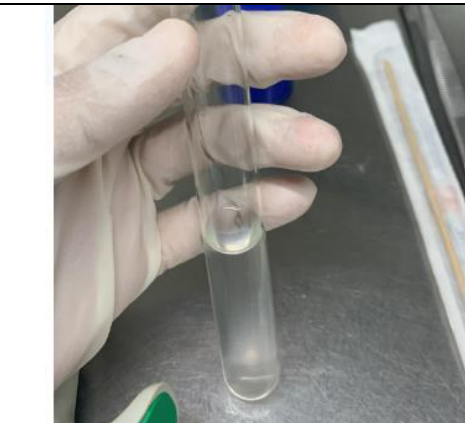
Gambar 1. Pembuatan Media Agar Miring



Gambar 2. Pembuatan Media MHA



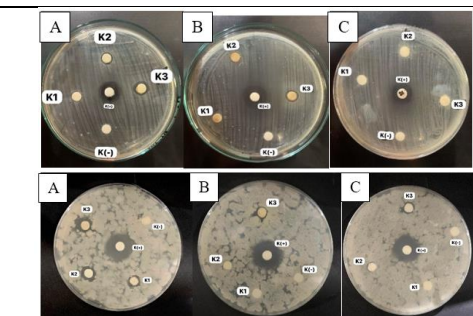
Gambar 3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak



Gambar 4. Pembuatan Suspensi Bakteri



Gambar 5. Pengujian Antibakteri



Gambar 6. Hasil Pengujian Antibakteri



Gambar 5. Pengukuran Zona Hambat

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama lengkap : Lola Sagita Sinta Sari  
NIM : 24020121140125  
Tempat/Tanggal Lahir : Tuban, 19 Oktober 2002  
Agama : Islam  
Alamat : Jl Iwenisari no 44 Tembalang  
Telp/HP : 085231827697  
Email : [lolasagita19@gmail.com](mailto:lolasagita19@gmail.com)  
Nama Orang Tua  
Bapak : Lasmijan  
Ibu : Jumiati  
Alamat Orang Tua : Dawung, Palang, Tuban, Jawa Timur



## RIWAYAT PENDIDIKAN

| NAMA SEKOLAH  | TAHUN LULUS |
|---------------|-------------|
| SDN Dawung 01 | 2015        |
| SMPN 1 Tuban  | 2018        |
| SMAN 1 Tuban  | 2021        |

## PENGALAMAN ORGANISASI

| ORGANISASI | JABATAN                 | TAHUN     |
|------------|-------------------------|-----------|
| HMB        | Staff Divisi Humas      | 2022-2023 |
| KMPL       | Staff Divisi Pendidikan | 2023      |

## PENGALAMAN ASISTEN PRAKTIKUM

| PRAKTIKUM                          | TAHUN |
|------------------------------------|-------|
| Asisten Praktikum Embriologi Hewan | 2023  |
| Asisten Praktikum Genetika         | 2024  |
| Asisten Praktikum Mikrobiologi     | 2024  |

## PENGALAMAN KERJA PRAKTIK

| JUDUL                                                                                                        | TEMPAT                                           | TAHUN |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------|
| Deteksi Cemaran Bakteri <i>Salmonella</i> sp. Pada Daging Ayam Broiler Dengan Menggunakan Metode Compact Dry | Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Semarang | 2024  |

## PENGALAMAN LOMBA KARYA ILMIAH/SEMINAR/PERTEMUAN ILMIAH

| JUDUL                                                                                                                                      | TEMPAT                 | TAHUN |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------|
| PKM : Spray Antifungi Berbahan Kunyit Dan Sirih Cina Untuk Mempercepat Penyembuhan Luka Pada Penyakit Kurap Kaki Akibat Jamur Dermatofisis | Universitas Diponegoro | 2023  |

Semarang, 12 Juni 2025

Lola Sagita Sinta Sari