

**UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL  
DAUN SAWO KECIK(*Manilkara kauki*)  
TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH**

**OLEH  
ARDITYA PURWA FIRGANTARA  
NIM. 2172048**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL  
DAUN SAWO KECIK(*Manilkara kauki*)  
TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***

**ANTI BACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL  
EXTRACT SAWO KECIK (*Manilkara kauki*) LEAVES  
AGAINST *Klebsiella pneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH  
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN  
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH  
ARDITYA PURWA FIRGANTARA  
NIM. 2172048**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS AKTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SAWO  
KECIK (*Manilkara kauki*) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae*

DISUSUN OLEH :  
ARDITYA PURWA FIRGANTARA  
NIM. 2172048

Telah dipertahankan dihadapan Tim Pengujii  
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Pada tanggal 18 Februari 2020

Tim Pengujii

Didik Wahyudi, M.Si

(Ketua)

Ardy Prian Nirwana, M.Si

(Anggota)

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

(Anggota)

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

Mengetahui,

Ketua Program Studi

DIII Farmasi

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

## **PERNYATAAN KEASLIAN KTI**

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul:

### **UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SAWO KECIK (*Manilkara kauki*) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah di publikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar di lingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 2 Januari 2020



Arditya Purwa Firgantara

NIM. 2172048

## **MOTTO**

MAN JADDA WAJADDA  
( Siapa bersungguh – sungguh pasti berhasil )

MAN SHABARA ZHAFIRA  
( Siapa yang bersabar pasti beruntung )

MAN SARA ALA DARBI WASHALA  
( Siapa menapaki jalannya akan sampai tujuan )

## **PERSEMBAHAN**

Alhamdullilah. Segala puji syukur bagi Allah SWT, yang telah memberi rahmat dan hidayahnya kepada kita semua, serta dimudahkan segalanya dan meminta pertolongan pengampunan dan petunjuk kepadanya. Sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecik (*Manilkara Kauki*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*, yang saya persembahkan kepada :

1. Kedua orang tua saya yang senantiasa mendoakan, mensupport, dan memberikan dukungan masukan sepenuhnya kepada saya
2. Seluruh dosen, asisten dosen, dan laboran Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang membantu serta membimbing proses Karya Tulis Ilmiah saya sehingga dapat diselesaikan dengan lancar
3. Teman – teman D3 Farmasi Reguler A/B 2017 yang ikut membantu, memotivasi dan mensupport hingga akhir
4. Almamaterku Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

## **PRAKATA**

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya yang dilimpahkan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Hartono, M.Si., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
2. Bapak Iwan Setiawan, M.Sc., Apt selaku Ketua Prodi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
3. Ibu Devina Inggrid A, S.Si., M.Si selaku Ketua Karya Tulis Ilmiah Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
4. Ibu Aulia Nur Rahmawati, M.Si selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
5. Bapak Ardy Prian, M.Si selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
6. Bapak Didik Wahyudi, M.Si selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
7. Ibu Susi Rahmawati, A.Md selaku asisten dosen Karya Tulis Ilmiah Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
8. Bapak Very, A.Md selaku laboran Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta

9. Ibu Alwina, A.Md selaku laboran Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
10. Ibu Luluk, A.Md selaku laboran Kimia Analisis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
11. Bapak Wibowo, A.Md selaku laboran Teknologi Farmasi Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta
12. Ibu Pratiwi Maharani, A.Md selaku pengurus Karya Tulis Ilmiah Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
MOTTO .....	v
PERSEMBAHAN .....	vi
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI .....	xii
<i>ABSTRACT</i> .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Landasan Teori .....	5
1. Klebsiella pneumoniae .....	5
2. Sawo Kecik .....	9
3. Senyawa Sawo Kecik .....	11
4. Kandungan Sawo kecil .....	13
5. Ekstrak .....	13
6. Pengujian Potensi Senyawa.....	15
B. Kerangka Pikir.....	18
C. Hipotesis .....	19
BAB III METODE PENELITIAN .....	20
A. Desain Penelitian.....	20
B. Tempat Dan Waktu Penelitian.....	20
C. Instrumen Penelitian .....	21
1. Bahan .....	21
2. Alat .....	21
D. Identifikasi Variabel Penelitian .....	22
1. Variabel Bebas.....	22
2. Variabel Terikat .....	22
E. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	22
1. Variabel Bebas .....	22
2. Variabel Terikat .....	22
F. Alur Penelitian .....	23
1. Bagan Penelitian .....	23
2. Cara Kerja.....	24
G. Analisis Data Penelitian .....	33

G. Jadwal Rencana Penelitian.....	34
BAB IV HASIL PEMBAHASAN.....	35
A. Hasil .....	35
1. Karakterisasi <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	35
a.Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	35
b.Morfologi Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	36
c.Identifikasi dan Uji Biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	37
2. Pembuatan Ekstrak.....	42
a.Skrinning Fitokimia .....	43
1. Uji Flavonoid .....	44
2. Uji Alkaloid.....	45
3. Uji Saponin .....	46
4. Uji Tanin .....	47
3. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecik.....	47
B. Pembahasan .....	50
1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	50
2. Ekstrak Daun Sawo Kecik .....	51
3. Uji Fitokimia .....	52
4. Uji Daya Hambat.....	53
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
A. Kesimpulan .....	56
B. Saran .....	56
DAFTAR PUSTAKA .....	57
DAFTAR LAMPIRAN .....	61

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Zona kepekaan antibiotik Ciprofloxacin .....	27
<b>Tabel 2.</b> Karakterisasi <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	36
<b>Tabel 3.</b> Morfologi Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	37
<b>Tabel 4.</b> Uji Biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	42
<b>Tabel 5.</b> Uji Skrinning Fitokimia ekstrak etanol daun sawo kecil.....	44
<b>Tabel 6.</b> Hasil Uji antibakteri ekstrak etanol daun sawo kecil .....	51

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	5
<b>Gambar 2.</b> Tanaman Sawo Kecil ( <i>Manilkara kauki</i> ).....	9
<b>Gambar 3.</b> Bagan Kerangka Pikir.....	18
<b>Gambar 4.</b> Alur Penelitian.....	23
<b>Gambar 5.</b> Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i> Mikroskopis.....	36
<b>Gambar 6.</b> Morfologi Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	37
<b>Gambar 7.</b> Hasil Uji Biokimia TSIA/KIA.....	38
<b>Gambar 8.</b> Hasil Uji Biokimia SIM.....	38
<b>Gambar 9.</b> Hasil Uji Biokimia UREA .....	39
<b>Gambar 10.</b> Hasil Uji Biokimia Citrat.....	39
<b>Gambar 11.</b> Hasil Uji Biokimia MR.....	40
<b>Gambar 12.</b> Hasil Uji Biokimia VP.....	40
<b>Gambar 13.</b> Hasil Uji Biokimia PAD .....	41
<b>Gambar 14.</b> Hasil Uji Biokimia Gula-gula.....	41
<b>Gambar 15.</b> Ekstrak Daun Sawo Kecik ( <i>Manilkara kauki</i> ) .....	43
<b>Gambar 16.</b> Hasil Uji Fitokimia Flavonoid .....	45
<b>Gambar 17.</b> Hasil Uji Fitokimia Alkaloid .....	46
<b>Gambar 18.</b> Hasil Uji Fitokimia Saponin .....	46
<b>Gambar 19.</b> Hasil Uji Fitokimia Tanin .....	47
<b>Gambar 20.</b> Hasil Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecik .....	48
<b>Gambar 21.</b> Diagram Rata-rata Zona Hambat .....	49

## **DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1.</b> Pembuatan Media .....	61
<b>Lampiran 2.</b> Komposisi Reagen .....	65

## INTISARI

Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) merupakan tumbuhan berupa pohon yang dapat mencapai tinggi 30 m dan diameter batang lebih dari 100 cm, batangnya berbanir tebal dengan tinggi banir sampai 1,5 m, memiliki daun matang ditandai dengan berwarna hijau, penyebaran sawo kecik di Indonesia daerah penyebarannya adalah Sumatera bagian utara, Jawa, Madura, Kangean, Bali, Sulawesi, Maluku dan Sumbawa. Tanaman sawo kecik (*Manilkara kauki*) memiliki berbagai kandungan senyawa antara lain flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin. Tujuan dengan menggunakan bagian daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) yaitu untuk mengetahui daun mampu menghambat pertumbuhan antibakteri dengan ekstrak etanol 96% terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*, metode yang digunakan yaitu *Kirby Bauer* dengan kontrol positif Ciprofloxacin, kontrol negatif DMSO. Hasil penelitian yang didapatkan bahwa Ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat pada konsentrasi 100% sebesar 17,60 mm, konsentrasi 75% sebesar 16,50 mm, konsentrasi 50% sebesar 15,70 mm dan konsentrasi 25% sebesar 13,90 mm.

**Kata Kunci :** Sawo Kecik, Kirby Bauer, dan *Klebsiella pneumoniae*.

## ABSTRACT

Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) is a plant in the from of a tree that can reach a height of 30 meters and a trunk diameter of more than 100 cm, thick stem buttress with a height of 1,5 meters, has mature leaves marked with dark green. Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) brown spreading in Indonesia, the area of distribution is northern Sumatra, Java, Madura, Bali, Sulawesi, Maluku, and Sumbawa. Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) has a variety of compounds including flavonoids, saponins, alkaloids, and tannins. The purpose of using the Sawo Kecik (*Manilkara kauki*) leaf part is to out the leaves are able to inhibit the growth of antibacterial with 96% ethanol extract against *Klebsiella pneumoniae*, the method used is *Kirby Bauer* with positive control Ciprofloxacin, negative control DMSO. The result showed that extract of sapodilla leaves can inhibit bacterial growth with inhibitory zone at a concentration of 100% by 17,60 mm, a concentration of a 75% by 16,50 mm, a concentration of 50% by 15,70 mm and a concentration of a 25% by 13,90 mm.

**Keywords :** Sawo Kecik, Kirby Bauer, and *Klebsiella pneumoniae*.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki ciri bentuk batang (basil), non motil (tidak bergerak). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* juga berperan penting di rumah sakit karena dapat menyebabkan infeksi nosokomial juga abses hati piogenik, karena *Klebsiella pneumoniae* diobati dengan obat anti bakteri, namun pemberian secara terus menerus dapat menyebabkan resisten (Miranda dkk., 2016). Pada pengobatan abses hati piogenik apabila diberikan obat anti bakteri terus menerus dapat mengakibatkan resistensi, sehingga dapat diganti dengan bahan alam (Wenas, 2007).

Indonesia memiliki banyak keanekaragaman jenis tanaman yang berkhasiat dan kegunaan yang besar bagi manusia dalam hal pengobatan. Tanaman yang digunakan untuk bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui kebenaran kandungan dari tanaman tersebut. Penggunaan tanaman sebagai obat dapat terjamin kebenarannya apabila data yang didapatkan sesuai isi kandungan tanaman tersebut yang meyakinkan secara ilmiah (Widowati, 1997).

Tanaman sawo kecil (*Manilkara kauki*) merupakan jenis tanaman sawo dari famili Sapotaceae. Tanaman sawo kecil memiliki berbagai

manfaat sebagai obat tradisional antara lain obat diare, penurun panas, obat cacing dan sebagai antileprotik (Khare, 2007). Tanaman sawo kecik (*Manilkara kauki*) memiliki berbagai kandungan fitokimia. Fitokimia pada tanaman sawo kecik (*Manilkara kauki*) terdiri dari senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan alkaloid (Anisah, 2001).

Ekstrak daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) dapat digunakan sebagai anti bakteri karena terdapat kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, tanin (Chusnie & Lamb, 2005). Flavonoid merupakan senyawa metabolit yang berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri. Flavonoid juga dapat sebagai anti inflamasi dan anti alergi. Fungsi tersebut menyebabkan daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) berpotensi menghambat infeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae*. (Lipinski, 2011).

Pengobatan abses hati karena *Klebsiella pneumoniae* menggunakan antibiotik yang terus menerus menyebabkan resisten, maka perlu diganti dengan bahan alam yang memiliki antibakteri salah satunya daun sawo kecik( *Manilkara kauki*). Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat ditemukan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun sawo kecikmampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol daun sawo kecik yang memiliki potensi paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ?

## C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*)dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi paling besar ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) yang berpotensi menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## D. MANFAAT PENELITIAN

1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi dan pengetahuan tentang kemampuan daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) sebagai antibakteri.

## 2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) sebagai pengobatan alternatif antibakteri pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. DESAIN PENELITIAN**

Karya Tulis Ilmiah ini merupakan jenis penelitian eksperimental untuk mengetahui uji aktivitas ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96% dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%.

#### **B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN**

##### **1. Tempat Penelitian**

Pemilihan dan pengambilan sampel daun sawo kecil dilakukan di wilayah kelurahan Kertonatan, Kartasura, Sukoharjo. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional STIKES Nasional. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol daun sawo kecil dan uji aktivitas ekstrak etanol daun sawo kecil dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional.

##### **2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada tanggal November 2019 - Januari 2020.

## C. INSTRUMEN PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun sawo kecil, Bakteri *Klebsiella pneumoniae*, Etanol 96%, DMSO 10%, Cat gram A (*kristal violet*), Cat gram B (*iodine*), Cat gram C (*alkohol 70%*), Cat gram D (*safranin*), Media *Mac Conkey*, Media Na Plate, Media Na miring, Media BHI, Media TSIA, Media SIM, Media Urea, Media Citrat, Media MR, Media VP, Media PAD, Media gula- gula (*glukosa, maltosa, manitol, laktosa, sakarosa*), Reagen Kovac, Barried, KOH 40%, feCl<sub>3</sub> 10%, Methyl Red, NaCl 0,9% steril, Minyak emersi, Alkohol mikroskop, Blankdisk Ciprofloxacin, Standar Mc Farland 0,5.

### 2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa Alat Pelindung Diri (APD) yang terdiri dari sarung tangan, jas laboratorium, masker, pelindung rambut, sepatu, timbangan digital, tabung reaksi, oven, blender, beker glass 50 ml, beker glass 100 ml, jangka sorong, mikroskop, kompor, inkubator, ohse bulat, ohse lurus, batang lidi steril, petridisk, *object glass, evaporator rotary*, Flanel, Kertas saring, lampu bunsen, mangkok plastik, hot plate, *freezer*, labu ukur 5 ml, maserasi, *waterbath*.

## D. IDENTIFIKASI VARIABEL PENELITIAN

### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) dengan berbagai variasi konsentrasi.

### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah bentuk diameter zona hambat dari ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

## E. DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL PENELITIAN

### 1. Variabel Bebas

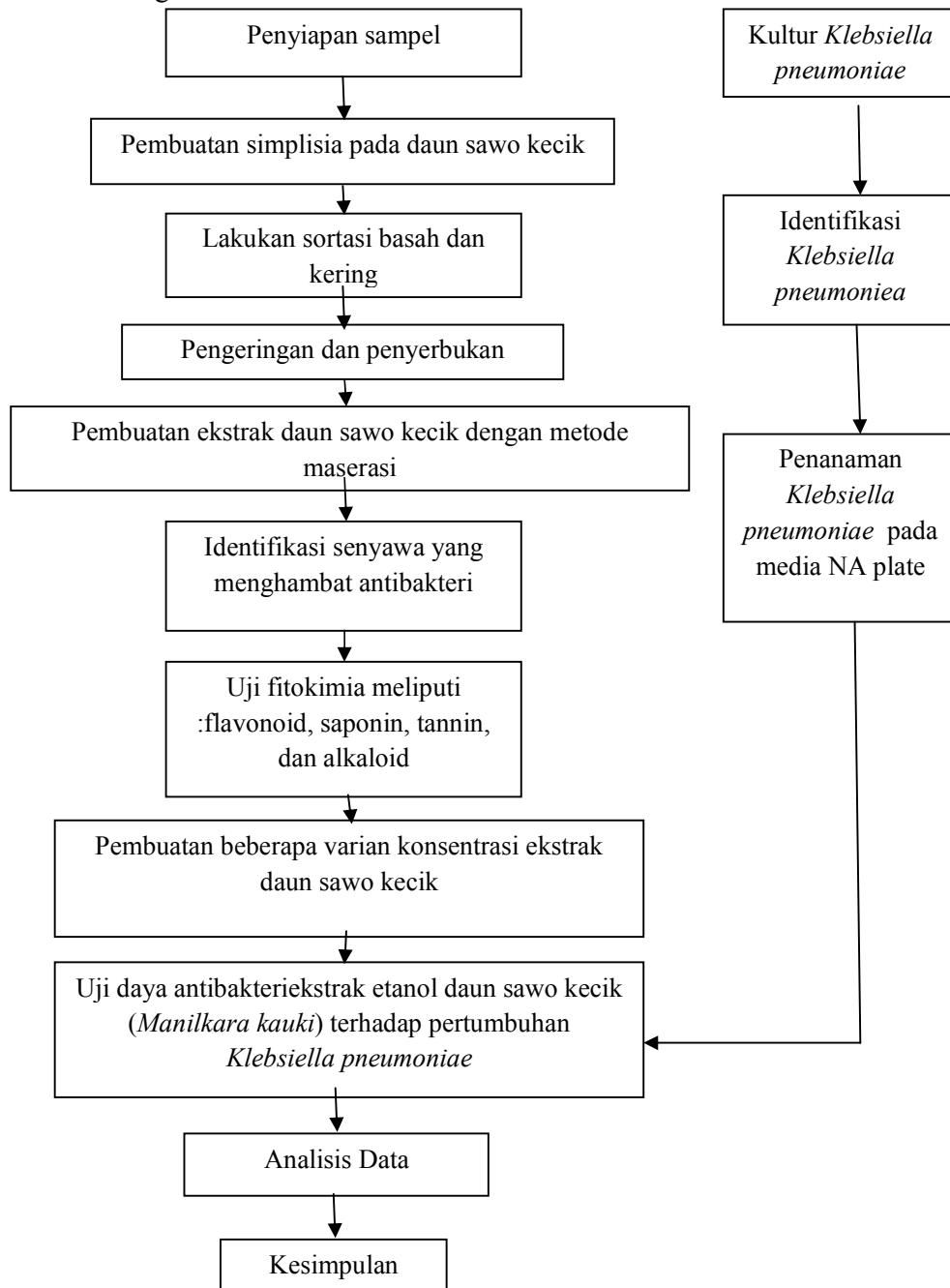
Pada variable bebas ini digunakan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) ini adalah 100%, 75%, 50%, 25% dengan kriteria daun yang berwarna hijau pekat, sehat dan tidak berpenyakit. Daun sawo kecil yang digunakan diperoleh dari desa Kalitan, Kertonatan, Kartasura, Sukoharjo.

### 2. Variabel Terikat

Pada penelitian variable terkait ini digunakan untuk menentukan terbentuknya zona radikal di sekitar disk dan diukur menggunakan alat jangka sorong dalam satuan (mm). Penelitian variable terikat ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional.

## F. ALUR PENELITIAN

### 1. Bagan Penelitian



**Gambar 4. Alur Penelitian**

## 2. Cara Kerja

### a. Penyiapan sampel ekstrak

Sampel yang digunakan penelitian ini adalah daun sawo kecil (*Manilkara kauki*), daun sawo kecil yang sudah matang dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir untuk menghilangkan benda asing atau kotoran yang menempel pada daun, kemudian ditiriskan, selanjutnya daun sawo kecil yang sudah ditiriskan masukkan ke dalam oven pada suhu 45°C sampai mengering ditandai dengan daun yang mudah hancur saat diremas. Daun sawo kecik yang sudah kering diserbus dengan cara diblender dan diayak dengan ayakan no. 40 langkah berikutnya yaitu maserasi.

Serbuk daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) yang sudah jadi kemudian ditimbang sebanyak 200 gram kemudian di rendam di dalam pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 bagian yaitu 2750 ml, tutup dan diamkan selama 5 hari pada suhu kamar kemudian lakukan pengocokan berulang, setelah 5 hari disaring dan diperoleh filtrat serta ampas. Ampas yang diperoleh dilarutkan dengan sisa pelarut 2,5 bagian kemudian didiamkan selama 2 hari dengan tetap dilakukan proses pengocokan. Hasil sampel setelah dua hari disaring dengan kain flanel hingga diperoleh maserat. Maserat yang diperoleh ditampung pada cawan porselen ditampung jadi satu dan kemudian diuapkan dengan rotary evaporator dengan

suhu 40°C pada kecepatan 200 rpm sampai diperoleh ekstrak kental (Rosidah dan Afiziah, 2012).

b. Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif, meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin

1) Uji flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak daun sawo kecil ditambah beberapa tetes HCl pekat kemudian ditambah bubuk Mg. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah (Ngajow dkk., 2013).

2) Uji alkaloid

Sebanyak 2 ml ekstrak daun sawo kecil ditambah 1-2 tetes reagen Mayer, jika terbentuk endapan putih menunjukan hasil positif, ditambahkan reagen Dragendorff terbentuk endapan jingga menandakan adanya senyawa alkaloid (Ngajow dkk., 2013).

3) Uji saponin

Sebanyak 2 ml ekstrak daun sawo kecil di tambah 1 aquades, kemudian kocok kuat kuat selama 10 menit. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya. Buih selama 5 menit (Ngajow dkk., 2013).

4) Uji tanin

Sebanyak 2 ml ekstrak daun sawo kecik di tambah 2-3 tetes gelatin .Adanya senyawa tanin ditandai dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Ngajow dkk., 2013).

c. Pembuatan larutan uji

Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun sawo kecik dalam beberapa varian konsentrasi antara lain 100%, 75%, 50% dan 25%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sawo kecik dengan cara :

- 1) 5 gram ekstrak etanol daun sawo kecik diencerkan dengan DMSO sebanyak 5 ml dalam labu ukur 5 ml untuk konsentrasi 100%,
- 2) 3,75 gram ekstrak etanol daun sawo kecik diencerkan dengan DMSO sebanyak 5 ml dalam labu ukur 5 ml untuk konsentrasi 75%,
- 3) 2,5 gram ekstrak etanol daun sawo kecik diencerkan dengan DMSO sebanyak 5 ml dalam labu ukur 5 ml untuk konsentrasi 50%,
- 4) 1,25 gram ekstrak etanol daun sawo kecik diencerkan dengan DMSO sebanyak 5 ml dalam labu ukur 5 ml untuk konsentrasi 25%.

d. Larutan kontrol positif dan negative

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% dan kontrol positif yang digunakan adalah disk Ciprofloxacin. Diameterzona kepekaan antibiotik Ciprofloxacin dinyatakan dalam millimeter(mm), menurut CLSI 2019:

**Tabel 1. Zona kepekaan antibiotik Ciprofloxacin (CLSI, 2019)**

**Ciprofloxacin**

Resisten	Intermediet	Sensitif
$\leq 21$	22-25	$\geq 26$

e. Persiapan sampel *Klebsiella pneumoniae*

1. Penyuburan bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Kultur murni *Klebsiella pneumoniae* diambil sebanyak 2 ohse menggunakan ohse bulat, lalu dimasukkan 3ml media BHI secara aseptis. Selanjutnya di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (A.J.Makalew, dkk 2016)

2. Pengecatan Gram

*Object glass* yang telah dibersihkan dengan alkohol terlebih dahulu dan difiksasi diatas nyala api bunsen sehingga kering dan bebas lemak. Diambil 1-2 tetes NaCl kemudian diletakan pada *object glass*. Sampel diambil 1-2 ohse secara aseptis dari media BHI dengan ohse bulat dan dicampurkan pada NaCl di *object glass*. *Object glass* dikering anginkan dan

difiksasi diatas nyala api bunsen. Selanjutnya dilakukan pengecatan bakteri.

Preparat yang sudah kering diberi cat gram A (*kristal violet*) dan tunggu satu menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir. Preparat diberi larutan cat gram B (*iodium*) dan tunggu 3 menit. Dicuci dengan air mengalir, kemudian decolorisasi preparat dengan gram C (*alkohol 70%*) hingga air yang menetes jernih. Preparat ditetesi cat gram D (*Safranin*) dan tunggu 1-2 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan penambahan minyak emersi (Sardiani., dkk 2015).

f. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dipastikan disterilkan terlebih dahulu. Kemudian dicuci dengan sabun yang mengandung bahan antisепtik kemudian dikeringkan. Alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan di dalam oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ohse dan pinset disterilkan dengan melakukannya di atas api Bunsen. (Miranda dkk., 2016).

g. Inokulasi pada media *Mac conkey*

Koloni diinokulasikan dari media *Mac conkey* ke media pengujian biokimia menggunakan koloni tunggal dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 30 derajat celcius. (Makalew,dkk 2016).

h. Uji biokimia

1. TSIA/KIA

Inokulasi ke dalam Na miring dengan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembacaan asam dan basa dengan cara mengamati bagian yang miring terlebih dahulu kemudian bagian yang tegak. Positif asam apabila media ditandai perubahan menjadi kuning dan positif basa apabila media ditandai perubahan menjadi merah.Gas positif ditandai dengan adanya bagian yang kosong pada media. Terbentuknya warna hitam pada media menandakan positif H<sub>2</sub>S. (Sylvina dkk., 2017).

2. SIM

Inokulasi ke dalam NA miring dengan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.Terbentuknya tanda warna hitam pada media menandakan positif H<sub>2</sub>S, terbentunya pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan / media terjadi perubahan keruh

menandakan positif Motil dan positif Indol ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah penambahan 5 tetes reagen Erlich/Kovac. (Ulfa dkk., 2016).

### 3. UREA

Inokulasi ke dalam media urea dengan ohse lurus sampai dasar media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya perubahan media menjadi merah menandakan positif UREA. (Ulfa dkk., 2016).

### 4. Citrat

Inokulasi ke dalam Na miring dengan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya perubahan warna menjadi biru pada media menandakan positif citrat. (Ulfa dkk., 2016).

### 5. MR/VP

Inokulasi ke dalam media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya perubahan warna menjadi merah setelah ditambahkan 10 tetes reagen Barried dan 4 tetes reagen KOH 40% dan ditunggu selama 10 menit pada media menandakan positif Acetoin (VP). Adanya perubahan warna menjadi merah setelah ditambahkan 5 tetes reagen *Methyl Red* ke dalam media dan ditunggu selama 10 menit menandakan positif asam (MR). (Ulfa dkk., 2016).

## 6. PAD

Inokulasi ke dalam media kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan terbentukan Phenyl pyruvat/deaminase Phenyl Alanin pada media selanjutnya ditambahkan HCl 0,1 N sampai media berwarna kuning. Ditetesi dengan FeCl<sub>3</sub> 10% 5 tetes. Phenyl alanin pada media akan dideaminasi oleh bakteri menjadi phenyl pyruvat yang akan bereaksi dengan FeCl<sub>3</sub> 10% sehingga positif ditandai terjadinya perubahan warna menjadi hijau.(Ulfa dkk., 2016).

## 7. Gula-gula

Inokulasi ke dalam media (Glukosa, Maltosa, Manitol, Laktosa, sakarosa) kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Gula-gula positif dengan ditandai media berwarna kuning. Karbohidrat atau gula yang terdapat pada media akan difermentasikan bakteri menjadi asam dan gas. Adanya indikator Phenyl Red akan mengubah media menjadi kuning. Gas positif ditandai dengan kosongnya tabung durham.(Shinta dkk., 2013).

### i. Inokulasi ke NA Miring

Sampel bakteri kemudian ditanam di media Na miring. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Makalew .,dkk, 2016).

j. Pembuatan suspensi bakteri

Larutan standar *McFarland* 0,5 ekuivalen dengan suspensi selbakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. *McFarland* 0,5 dibuat dari campuran Asam sulfat 1% sebanyak 9,95ml. Kekeruhan ini yang dipakai sebagai standar suspensi bakteri uji. Bakteri yang dikultur pada media NA miring diambil menggunakan ohse kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% inkubasi hingga kekeruhan sama dengan standar *McFarland* (Makalew, dkk 2016)

k. Uji daya antibakteri ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*)

Metode pengujian daya antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *Kirby-Bauer*. Media yang digunakan untuk penelitian ini adalah media NA Plate sebanyak tiga cawan petri, tiga buah disk Ciprofloxacin. Bagian belakang petri diberi tanda dengan spidol, kemudian di inoculasikan bakteri dari suspensi yang sudah setara dengan larutan standar *McFarland* 0,5 dengan menggunakan kapas lidi steril lalu digoreskan secara merata pada media NA Miring dan inkubasi pada suhu 37° selama 15 menit. Blank disk direndam dalam larutan ekstrak daun sawo kecik pada masing-masing konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% kemudian ditanam di permukaan media NA Plate. Cakram Ciprofloxacin ditanam di permukaan media NA Plat dengan

memperhatikan jarak yang sesuai. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening disekitar kertas cakram menunjukkan hasil positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Diameter zona bening yaitu disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona bening di sekitar *disk* dengan jangka sorong dan diklasifikasikan menurut sensifitasnya (Makalew., dkk 2016).

## G. ANALISIS DATA

Hasil yang diperoleh dari penelitian uji aktivitas ekstrak etanol daun sawo kecil (*Manilkara kauki*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* akan dianalisis dengan menggunakan microsoft excel untuk memperoleh grafik rata-rata perbandingan zona hambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **1) Kesimpulan**

- 1) Ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan membentuk zona radikal terbesar pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter 17,60 mm.
- 2) Ekstrak etanol daun sawo kecik (*Manilkara kauki*) konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*

#### **2) Saran**

- 1) Untuk penelitian lanjutan diharapkan pada saat menggunakan pelarut usahakan menggunakan pelarut yang baru atau tidak kontaminasi
- 2) Dilakukan untuk penelitian lanjutan dengan menggunakan metode lain yang belum pernah dilakukan supaya dapat mengetahui perbedaanya

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan, Jakarta, hal. 7.
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar & Iis Aisyah, Edisi IV, 607-608
- Anisah, L.N. 2001. *Zat ekstraktif kayu tanjung (Mimusops elengi Linn) dan Kayu Sawo kecil (Manilkara kauki Dubard) serta pengaruhnya terhadap rayap tanah (Coptotermes curvignathus) Holmgren dan jamur pelapuk Schizophyllum commune Fries*. Tesis tidak diterbitkan. Bogor :PPS IPB
- Anderson, K.F., Lonsway, D.R. & Rasheed, J.K., 2007. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*, 45, pp.2723-5.
- Calabria LM. 2008. The isolation and characterization of triterpene saponins from silphium and the shemosystematic and biological significance of saponins in the asteraceae. *ProQuest*.
- Chusnie,T.P.T., A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*.
- Crozier, A., Clifford, M.N., and Ashihara, H. 2006. *Plant Secondary Metabolites*. Blackwell Publishing.Oxford
- Desmiaty, Y.; Ratih H.; Dewi M.A.; Agustin R. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor Hassk.*) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia. *Ortocarpus*. 2008. 8, 106-109.
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: DepartemenKesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Diktorat Jendral POMDepkes RI. Jakarta.

- Ganiswara. 1995. Farmakologi dan Terapi, Edisi 4. UI press. Jakarta
- Harborne UA, Phillips DA. 1991. Release and modification of nod-gene-inducing flavonoids from alfalfa seeds. *Plant Physiol.* 95:804-807.
- Hawley TS, & Hawley RG. 2004. Flow cytometry protocols. Humana Press, Inc.
- Hawley, L. B. 2003. *Intisari Mikrobiologi Dan Penyakit Infeksi*. Diterjemahkan oleh Huriawati, H. Jakarta.
- Hagerman, A. E. Tannin Handbook. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University.2002.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. dan Adelberg, E. A. (2005).*Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta: Salemba Medika
- Jawetz E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg. 2007.*Mikrobiologi Kedokteran*. EGC Press. Jakarta. 513 hlm.
- Khare, C. P. 2007. *Indian Medicinal Plants*. New Delhi: Springer
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., & Kurniadi B. 2008.*Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Lipinski, B. 2011, Hydroxyl Radical and ItsScavengers in Health and Disease,Review Article, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 11:1-9.
- Makalew, M.A.J., Nangoy E., dan Wowor, P.M, 2016, Uji Efek Antibakteri Air Perasan Buah Nanas (Ananas comusus (L) merr) terhadap Bakteri Klebsiella pneumoniae, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, No 1, Januari-Juni 2016
- Marinova, G., bactharov, V. 2011. Evalution The Method Determination of The Free Radical Scavenging Activity By DPPH. *Jurnal of Agricurtural Science*.17 (N0.1). 11-12
- Miranda, A. J., Edward, N., dan Pemsi, M. W. 2016.Uji Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus L.Mer*) Terhadap *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal e-Biomedik* : Volume 4 (1).

- Ngajow, M., Jemmy, A. dan Vanda, S. K. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 2(2): 128-132
- Oktaviana, A.T.D., 2015, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Matoa (*Pometia pinnata J.R & G. Forst*) terhadap Penurunan Kadar Glucosa Pada Mencit Jantan (Mus musculer) yang Diberi Beban Glukosa, *Jurnal Farmasi ISSN*,1(1): 2548-6667
- Podschun & Ullmann, 1998. Klebsiella spp. As Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 10, pp.589-603
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 190-192, Jakarta, Erlangga.
- Sidiyasa, K. 1998. Mengenal flora langka sawokecik (Manilkara kauki (L.) Dubard). Info Hutan.No.106, Cetakan kedua, Pusat Penelitian Hutan, Bogor.
- Shinta, S.W., Wurlina., dan Budiarto, 2013, Kepekaan *Escherichia coli* dari susu kambing peranakan etawa terhadap antibiotik, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Soemarno, 2003. Genus Klebsiella. In *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 4
- Sulvina W.A., Nony, P., dan Rizal, M.R., 2017, Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Oprasi di RSUD Dr.Moewardi, Falkultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Surakarta
- Susanti, Ary, 2006. *Daya anti Bakteri E kstrak Etanol Daun beluntas (pluchea indica Less) Terhadap Escherichia coli secara in vitro*. Fakultas Ilmu Kedokteran Hewan Universitas Airlangga : Surabaya.
- Ulfah, A., Suarsini, Suarsini, E., dan Henie, M.I, 2016, Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat

Kabupaten Lombok Barat, *Proceeding Biology Education Conference* (ISSN:2528-5742), Vol 13(1) 2016: 793-799

Wenas, Nelly Tendean. 2007. *Abses Hati*. Dalam : Sudoyo,Aru W. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid I edisi IV. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Widowati.1997.*Tanaman Obat Untuk Diabetes Mellitus*.[http://toiusd.multiply.com/journal/item/39/diabetes\\_mellitus](http://toiusd.multiply.com/journal/item/39/diabetes_mellitus).

Wink, M. (2008). *Ecological Roles of Alkaloids*. Wink, M. (Eds.)*Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*,Wiley, Jerman: Wiley VCH Verlag GmbH& Co. KgaA.

Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh NoeronoSoenandi. Yogyakarta : Gajah Mada Universitas Press.