

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH  
ANGGUR MERAH (*Vitisvinifera L*) PADA BAKTERI  
*Klebsiellapneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH**

**OLEH  
ANGGUN MAWARNI  
NIM. 2181006**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH  
ANGGUR MERAH (*Vitis vinifera L*) PADA BAKTERI *Klebsiella  
pneumoniae***

**ANTIBACTERIAL TEST OF THE ETHANOL 96% EXTRACT  
OF RED GRAPES (*Vitis vinifera L*) ON THE BACTERIA  
*Klebsiella pneumoniae***



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

**OLEH  
ANGGUN MAWARNI  
NIM. 2181006**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SUKOHARJO  
2021**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH ANGGUR MERAH (*Vitis vinifera L*) PADA BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***

Disusun Oleh :  
**ANGGUN MAWARNI**  
**2181006**

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

Pada tanggal 3 Maret 2021

**Tim Penguji :**

Yusianti S, M.pd

(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  
DHI Farmasi**

apt. Dwi Saryanti, M.Sc.

### PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan  
judul

#### **UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH ANGGUR MERAH (Vitis vinifera L) PADA 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 turunan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar di lingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi ataupun Instansi maupun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka. Apabila terdapat bukti ataupun duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 18 Februari 2021



Anggun Mawarni

NIM. 2181006

## **MOTTO**

**I CAN DO ALL THINGS THROUGH CHRIST WHO STRENGTHENS  
ME**

Philippians 4 : 13

Kalian boleh menyerah, kalian boleh tidak bisa melakukannya, tidak pun tidak masalah. Kamu boleh menjadi aneh. Biarkan saja orang mengatakan apa tentangmu. Itulah diriku. Memangnyanya kenapa ? tidak ada yang bisa merubahku.

Lee Taeyong

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucapkan Puji dan Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa. Sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan baik. Karya sederhana ini penulis persembahkan untuk :

1. Tuhan Yesus Kristus yang begitu baik kepada penulis. Atas rahmat penerangan Roh kudus dan kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini.
2. Bunda Maria yang begitu baik yang selalu jadi tempat pulang bagi penulis, yang tidak pernah lelah mendengarkan segala cerita dan doa yang penulis panjatkan selama ini.
3. Untuk diri sendiri, terimakasih karena telah mau berjuang sampai detik ini. Jatuh dan gagal berkali-kali tapi tetap bangkit dan berjuang untuk menyelesaikan tanggung jawab ini.
4. Bapak, ibu dan mamas yang selalu memberi dukungan, motivasi, perhatian kasih sayang dan doa kepada penulis.
5. Untuk Lee Taeyong(bubu) terimakasih karena sudah berkali-kali membantu penulis menjadi pribadi yang lebih kuat, menemani dan mendukung penulis selama ini dan ayo setelah ini mari bertemu.
6. Keluarga SM stan, especially NCT, EXO terimakasih sudah membantu penulis untuk tetap bersyukur, tersenyum dan tertawa selama ini.

7. Teman-teman fangirl yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih sudah menemani hari-hari penulis selama ini, tanpa kalian mungkin penulis tidak bisa boros
8. Teman-teman D3 farmasi angkatan 2018, terimakasih untuk dukungan dan cerita dibalik semua proses ini.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak. Semoga Tuhan Yang Maha Kasih membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Surakarta, februari 2021

Penulis

## **PRAKATA**

Dengan penuh rasa syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala anugerah serta kehendaknya penulis dapat menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan menyelesaikan program Diploma III Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang berjudul “ UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH ANGGUR MERAH (*Vitis vinifera* L) PADA BAKTERI *Klebsiella pneumoniae*”

Penulis sangat berterimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan. Penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis Ilmiah ini bukanlah sesuatu hal yang mudah, sehingga membutuhkan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Hartono, M.Si., Apt selaku Ketua STIKES Nasional Surakarta.
2. Aulia Nur Rahmawati, M.Si. selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah dan penguji, yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis.
3. Yusianti S, M.Pd selaku ketua penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan dan saran.
4. Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku dewan penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan dan saran.



5. Bapak dan ibu dosen serta asisten dosen STIKES Nasional yang telah memberikan ilmu pengetahuannya kepada penulis.
6. Alwina, A.Md selaku laboran STIKES Nasional yang selama ini telah membantu penulis dalam penelitian.
7. Pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat untuk menambah ilmu bagi semua pihak. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun agar Karya Tulis Ilmiah ini akan menjadi lebih baik lagi di penelitian yang selanjutnya.

Surakarta, 18 Februari 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                       |      |
|---------------------------------------|------|
| HALAMAN SAMPUL .....                  | i    |
| HALAMAN JUDUL .....                   | ii   |
| HALAMAN PERSETUJUAN.....              | iii  |
| LEMBAR PENGESAHAN .....               | iv   |
| PERNYATAAN KEASLIAN KTI .....         | v    |
| MOTTO .....                           | vi   |
| PERSEMBAHAN .....                     | vii  |
| PRAKATA.....                          | ix   |
| DAFTAR ISI.....                       | xi   |
| DAFTAR TABEL .....                    | xiii |
| DAFTAR GAMBAR .....                   | xiv  |
| BAB I PENDAHULUAN.....                | 1    |
| A. .Latar Belakang .....              | 1    |
| B. .Rumusan Masalah .....             | 3    |
| C. .Tujuan Penelitian.....            | 3    |
| D. .Manfaat Penelitian.....           | 4    |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....          | 5    |
| A. .Landasan Teori.....               | 5    |
| B. .Penelitian Sebelumnya .....       | 15   |
| C. .Kerangka Pikir .....              | 18   |
| D. .Hipotesis .....                   | 18   |
| BAB III METODE PENELITIAN.....        | 20   |
| A. .Desain Penelitian.....            | 20   |
| B. .Tempat Dan Waktu Penelitian ..... | 20   |
| C. .Populasi dan Sampel.....          | 20   |
| D. .Instrumen Penelitian.....         | 20   |
| 1. Alat .....                         | 20   |
| 2. Bahan.....                         | 21   |
| E. .Besaran Sampel.....               | 21   |

|  |    |
|--|----|
| F... Identifikasi Variabel Penelitian.....         | 22 |
| G.. Definisi Operasional Variabel Penelitian ..... | 23 |
| H.. Alur Penelitian .....                          | 24 |
| 1. Bagan.....                                      | 24 |
| 2. Cara Kerja.....                                 | 25 |
| I. Analisis Data Penelitian .....                  | 31 |
| J. Rencana Jadwal Penelitian .....                 | 33 |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                | 34 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabel 1.</b> Standar Kepekaan Zona Hambat Antibiotik Siprofloksasin ..... | 14 |
| <b>Tabel 2.</b> Rencana jadwal penelitian .....                              | 32 |
| <b>Tabel 3.</b> hasil rendemen .....   | 52 |
| <b>Tabel 4.</b> Hasil skrining fitokimia.....                                | 55 |
| <b>Tabel 5.</b> Hasil pengukuran daya hambat (zona radikal) .....            | 57 |
| <b>Tabel 6.</b> Hasil pengukuran daya hambat (zona iradikal) .....           | 58 |

## DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| <b>Gambar 1.</b> Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....                        | 5  |
| <b>Gambar 2.</b> Tanaman Anggur merah .....  | 10 |
| <b>Gambar 3.</b> Buah Anggur Merah .....   | 10 |
| <b>Gambar 4.</b> Kerangka Pikir .....  | 19 |
| <b>Gambar 5.</b> Bagan Penelitian .....  | 26 |
| <b>Gambar 6.</b> Ekstrak kental buah anggur merah .....                            | 52 |
| <b>Gambar 7.</b> Morfologi koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada media MC ..... | 53 |
| <b>Gambar 8.</b> Hasil pewarnaan gram <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....           | 53 |
| <b>Gambar 9.</b> Hasil uji biokimia.....   | 54 |
| <b>Gambar 10.</b> Hasil uji alkaloid.....  | 55 |
| <b>Gambar 11.</b> hasil uji flavonoid .....  | 55 |
| <b>Gambar 12.</b> Hasil uji triterpenoid .....                                     | 55 |

## INTISARI

Buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) merupakan salah satu tanaman yang mudah dijumpai di berbagai tempat. Buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L*). uji antibakteri ini menggunakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan menggunakan kontrol positifnya ciprofloksasin dan kontrol negatifnya DMSO dengan seri konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%. Hasil uji antibakteri ini menghasilkan dua zona, zona radikal dan iradikal. Zona radikal didapat dari konsentrasi 50% dengan daya hambat 8,75 mm dan konsentrasi 100% dengan daya hambat 11 mm. zona iradikal yang didapat dari konsentrasi 12,5% dengan daya hambat 1,25 mm. konsentrasi 25% dengan daya hambat 2 mm. konsentrasi 50% dengan daya hambat 3,25 mm. konsentrasi 100% dengan daya hambat 3,75 mm.

**Kata kunci :** buah anggur merah, flavonoid, uji antibakteri, siprofloksasin, *Klebsiella pneumoniae*

### **Abstrak**

Red grapes (*Vitis vinifera* L) is a plant that is easily found in various places. Red grapes (*Vitis vinifera* L) contain flavonoid compounds that function as antibacterials. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of 96% red grapes (*Vitis vinifera* L). This antibacterial test used *Klebsiella pneumoniae* bacteria and used ciprofloxacin positive control and DMSO negative control with a concentration series of 12.5%, 25%, 50%, 100%. The results of this antibacterial test produced two zones, the radical and irradiance zones. The radical zone is obtained from a concentration of 50% with an inhibition of 8.75 mm and a concentration of 100% with an inhibition of 11 mm. Iradical zone obtained from a concentration of 12.5% with an inhibition of 1.25 mm. concentration of 25% with 2 mm of inhibition. concentration of 50% with an inhibition of 3.25 mm. concentration of 100% with an inhibition of 3.75 mm.

**Key words:** red grapes, flavonoids, antibacterial test, ciprofloxacin, *Klebsiella pneumoniae*

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Kesehatan adalah keadaan sejahtera dari badan, jiwa dan sosial yang memungkinkan setiap orang hidup produktif secara sosial dan ekonomis, dimana saat ini tingkat kesehatan menghadapi tantangan yang sangat berat (Nurwidodo, 2006). Masalah kesehatan adalah masalah kompleks yang merupakan hasil dari berbagai masalah lingkungan yang bersifat alamiah atau buatan manusia. Datangnya penyakit merupakan hal tidak bisa ditolak ataupun dihindari (Foster, 2006).

Infeksi merupakan penyakit yang sering dijumpai masyarakat di seluruh dunia. Penyakit infeksi sering terjadi di negara beriklim tropis seperti Indonesia. Penyakit infeksi terjadi akibat bakteri, virus, parasite, dan jamur (Jawetz et al., 2013) yang masuk ke dalam tubuh inang mengadakan pertumbuhan atau replikasi (Pratiwi, 2008).

Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya *Klebsiella pneumoniae* (Jawetz et al., 2013). *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan penyakit pneumonia atau infeksi saluran pernafasan bawah. Pneumonia merupakan suatu kondisi inflamasi akut yang terjadi pada jaringan parenkim paru yang mengganggu jalannya pertukaran udara (Muscari, 2005).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri dari golongan *Enterobacteriaceae* yang banyak menginfeksi manusia, dan bersifat oportunistik yang ditemukan pada lapisan mukosa mamalia, terutama paru-paru. Bakteri



ini memiliki laju penyebaran yang sangat cepat dengan gejala berupa pendarahan dan penebalan lapisan mukosa organ (Fitri dkk., 2015).

Akhir-akhir ini, kasus positif Corona di Indonesia semakin meningkat. Infeksi COVID-19 dapat menimbulkan gejala ringan, sedang atau berat. Gejala klinis utama yang muncul yaitu demam (suhu  $>38^{\circ}\text{C}$ ), batuk dan kesulitan bernapas. Salah satu sindrom klinis yang dapat muncul jika terinfeksi corona virus adalah pneumonia ringan, gejala utama dapat muncul seperti demam, batuk, dan sesak. Dan kondisi paru-paru yang sudah terinfeksi oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan mengalami pneumonia akan lebih rentan terkena virus COVID-19. Hal tersebut menyebabkan dalam kasus COVID-19, *Klebsiella pneumoniae* sebagai koinfeksi bakteri, dalam pengaturannya pneumonia virus dikenal sebagai penyebab utama kematian (Guo, dkk, 2019).

Banyak penyakit infeksi yang belum bisa disembuhkan karena adanya resistensi terhadap obat sintesis maka dipilih alternatif lain untuk menyembuhkan penyakit. Salah satunya dengan menggunakan tanaman tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern (Sari, 2006).

Tanaman anggur merupakan salah satu tanaman yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri tersebut, karena memiliki kandungan senyawa seperti resveratrol, hidroksitirosol, kuersetin, dan asam fenolat (Papadopoulou et al., 2004), beberapa katekin, epikatekin (Jayaprakarsha et

al., 2003) serta alkaloid terpenoid. (Xie et al., 2010) menyatakan bahwa anggur juga mempunyai efek antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antiagning dan antimikroba. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenol yang dimiliki oleh setiap bagian tanaman anggur memiliki potensi sebagai antimikroba dengan sensitivitas yang berbeda (Vilya dkk., 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti melakukan penelitian untuk menguji antibakteri ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

#### **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) mampu menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*?
2. Pada konsentrasi berapakah ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) menghasilkan daya hambat yang sama dengan siprofloksasin?

#### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) yang mampu menghasilkan daya hambat yang sama dengan siprofloksasin

#### **D. Manfaat Penelitian**

##### 1. Manfaat Teoriti

Untuk memberikan pengetahuan kepada masyarakat bahwa ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) dapat berfungsi sebagai antibakteri pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

##### 2. Manfaat Praktis

Dapat digunakan masyarakat sebagai informasi tentang alternative lain dari penyakit yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae*.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Karya Tulis Ilmiah ini merupakan penelitian deskriptif eksperimental yang dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan menggunakan seri konsentrasi tertentu.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Tempat penelitian di laboratorium Mikrobiologi & Parasitologi, & Laboratorium Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, penelitian dilakukan pada bulan Januari 2021 sampai Februari 2021.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi penelitian adalah buah anggur Merah (*Vitis vinifera L.*) yang di dapatkan dari Desa Tlogo Kecamatan Prambanan, Klaten. Buah yang di ambil adalah buah yang sudah matang, segar dan diambil saat pagi hari.

##### **2. Sampel**

Sampel penelitian yaitu ekstrak etanol 96% buah Anggur Merah (*Vitis vinifera L.*) konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%.

#### D. Instrument Penelitian

##### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, nampan, blender(Miyako), oven, ayakan mesh no 40, neraca analitik (ohaus), bejana perendaman, batang pengaduk, *rotary evaporator*, waterbath, vortex, tabung reaksi, pipet ukur 1 ml, pipet ukur 10 ml, pipet mikro 1000, ohse bulat steril, ohse lurus steril, *object glass*, *deck glass*, lampu bunsen, mikroskop, kapas lidi steril, cawan petri, pinset steril, Erlenmeyer 250 ml(pyrex), incubator, autoclaf, botol flakon, gunting, spidol, penggaris, jangka sorong.

##### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah anggur merah, *Klebsiella pneumoniae*, etanol 96%, HCL, NaOH, serbuk magnesium, HCL pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25N, FeCl<sub>3</sub> 1%, reagen mayer, dragendroff, DMSO 10%, minyak imersi, alcohol mikroskop, NA miring, NA tegak, NA plate, larutan standar Neflometer Mcfarland 0,5, NaCl 0,9% steril, *blank disk*, aquadest steril, media KIA, media SIM, media UREA, media CITRAT, media MR, media VP, media PAD, media gula-gula (guloksa, maltose, manitol, laktosa, sakarosa). Indikator fenol red, reagen erlich/kovac, reagen methyl red, reagen barried, reagen KOH 40%, FeCl<sub>3</sub> 10%, HCL 0,1N, media BHI, media MC.

### E. Besar Sampel

Sampel penelitian ini adalah buah Anggur Merah (*Vitis vinifera L.*).  
penentuan jumlah replikasi sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer, yaitu  $(t-1)(r-1) \geq 15$ . Dimana T adalah perlakuan dan R adalah replikasi atau jumlah sampel.

$$\text{Jadi : } (t-1)(r-1) > 15$$

T = Jumlah Perlakuan

R = Replikasi

$$(6-1)(r-1) > 15$$

$$5(r-1) > 15$$

$$5r - 5 > 15$$

$$5r > 15 + 5$$

$$5r > 20$$

$$r > \frac{20}{5}$$

$$r > 4$$

Replikasi sebanyak 4 kali

### F. Identifikasi Variabel Penelitian

#### 1. Variabel bebas

Penelitian dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol 96% buah  
Anggur Merah (*Vitis vinifera L.*)

## 2. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah diameter zona hambat radikal ekstrak etanol 96% buah Anggur Merah (*Vitis vinifera L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) merupakan ekstrak kental yang dihasilkan dari proses ekstraksi buah anggur merah dengan metode maserasi basah yang menggunakan etanol 96% sebagai pelarut dengan variasi konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%.

Jenis variabel : .bebas

Jenis data : ordinal

2. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri gram negative yang berbentuk batang (basil) yang dapat menyebabkan penyakit gangguan pernafasan. Hasil uji biokimia *Klebsiella pneumoniae* positif pada media Citrat, MR, Urea, Glukosa, Manitol, Maltosa, Laktosa, Sakarosa.

3. Metode yang digunakan untuk mengetahui daya hambat adalah metode *Kirby Bauer* (difusi cakram). Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

Jenis variabel : terikat

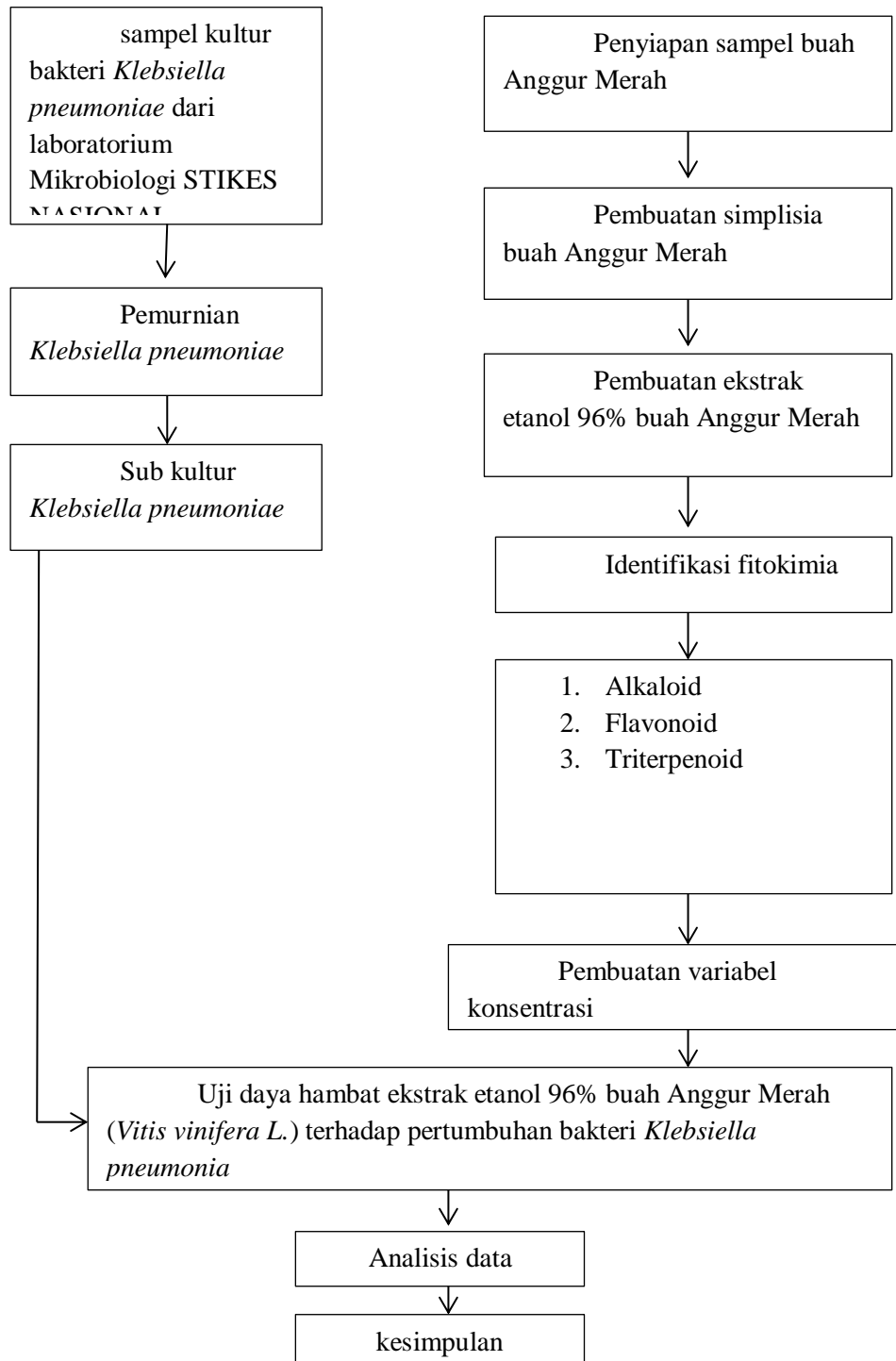
Jenis data : Numerik

4. Kontrol yang akan digunakan adalah kontrol positif serta kontrol negative. Kontrol positif menggunakan disk Siprofloksasin 5 $\mu$ g/disk sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%.
5. Zona hambat yang diukur merupakan zona bening yang muncul disekitar disk setelah penambahan ekstrak etanol 96% buah Anggur Merah.



## H. Alur Penelitian

### 1. Bagan penelitian



**Gambar 5. Bagan Penelitian**

## 2. Cara Kerja

### a. Pembuatan simplisia

Metode ekstraksi cara basah meliputi persiapan bahan, sortasi, penghancuran, penimbangan 600 gram, ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1 : 4 (Kristian et al., 2012). Selama 3 x 24 jam di dalam wadah tertutup, dengan tiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan sehingga semua senyawa organik memungkinkan akan tertarik pada pelarut yang digunakan. Kemudian, larutan ekstrak buah anggur merah disaring. Filtrate ekstrak buah anggur merah yang didapatkan lalu dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 70°C dengan kecepatan 100 rpm sampai didapatkan ekstrak kental (Ridha, 2014).

### b. Skiring Fitokimia

#### 1) Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 5 ml methanol 30%, kemudian dipanaskan selama 5 menit kemudian di saring, lalu lakukan filtrat ditambahkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lakukan pengamatan perubahan warna jika warna merah maka ekstrak positif mengansung flavonoid (Aryadi, 2014).

#### 2) Alkaloid

Masukkan ekstrak etanol buah anggur merah masing-masing 1 ml ke dalam 2 buah tabung reaksi, setelah itu, masing-masing tabung ditambahkan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N dan dikocok kuat. Pada tabung

pertama ditambahkan reagen wagner. Sampel kemudian diamati. Hasil positif ditandai dengan adanya endapan kecoklatan pada tabung (perubahan reagen wagner) (Munte dkk., 2015).

### 3) Triterpenoid

Sebanyak 2 ml larutan uji diuapkan dalam cawan penguap. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya terpenoid (Ma'aruf, 2019).

#### c. Pembuatan variabel konsentrasi

Stok konsentrasi ekstrak etanol 96% buah anggur merah (*Vitis vinifera L.*) yang akan divariasikan mulai konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100% dengan pelarut DMSO, serta control negatif menggunakan DMSO dan control positif menggunakan siprofloksasin.

#### d. Untuk pembuatan larutan stok uji

##### 1) Pembuatan konsentrasi 100%

Ditimbang 1 gram ekstrak kental buah anggur merah masukkan kedalam tabung reaksi dan kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volume 5ml.

## 2) Pembuatan konsentrasi 50%

Ditimbang 0,5 gram ekstrak kental buah anggur merah masukkan kedalam tabung reaksi dan kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volume 5 ml

## 3) Pembuatab konsentrasi 25%

Ditimbang 0,25 gram ekstrak kental buah anggur merah masukkan kedalam tabung reaksi dan kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volume 5 ml

## 4) Pembuatan konsentrasi 12,5%

Ditimbang 0,125 gram ekstrak kental buah anggur merah masukkan kedalam tabung reaksi dan kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volume 5 ml

## e. Pemurnian Bakteri

Biakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* satu ohse diinokulasikan kedalam media NA yang telah membeku secara terpisah dan aseptis dengan meletakkan jarum ohse yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag (metode streak) dan diinkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Afrani, 2011).

## f. Pewarnaan gram

Preparat disterilkan menggunakan 2 tetes aquades steril. Diambil isolate bakteri sebanyak 1 ohse kemudian digoreskan pada gelas benda dan difiksasi diatas api bunsen selama 5 detik, kemudian dipipet 1 tetes larutan krystal violet dan dibiarkan selama 1 menit kemudian dibilas

dengan aquades. Dipipet 1 tetes larutan iodum diatas preparat dan didiamkan selama 1 menit. Preparat dibilas dengan menggunakan 1 tetes alcohol 70%. Selanjutnya ditambahkan safranin dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades diatas preparat. Preparat dikeringkan (kertas serap) dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Warna ungu menunjukkan sel bakteri termasuk bakteri Gram positif dan warna merah muda menunjukkan sel bakteri termasuk gram negative (Sari, 2012).

g. Penanaman kultur pada media MC (*Mac concey*)

Inokulasikan biakan bakteri pada media MC menggunakan ohse bulat secara goresan. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

h. Uji Biokimia

1) Uji TSIA / KIA

Sebanyak 1 ohse isolate bakteri diinokulasikan ke dalam TSIA dengan cara menusuk tegak lurus pada bagian *butt* (tusuk) dan cara zig zag pada bagian *slant* (miring) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. amati adanya pembentukan :

- Acid/asam : (+) warna media berwarna kuning. Hal ini disebabkan media KIA mengandung karbohidrat yang akan difermentasi oleh bakteri membentuk suasana asam
- Alkali/basa : (+) ditandai dengan media berwarna tetap merah, karena karbohidrat pada media tidak terurai. Pembacaan adanya pembentukkan asam dan basa dengan cara mengamati

bagian yang miring terlebih dahulu, kemudian bagian yang tegak.

- Gas : (+) ditandai adanya bagian yang kosong pada media
- H<sub>2</sub>S : (+) ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media. Proses desimilasi asam amino yang mengandung belerang (Cystine & Methionin) oleh bakteri akan melepaskan H<sub>2</sub>S. untuk mengetahui adanya / terbentuknya H<sub>2</sub>S tersebut, pada medium ditambahkan garam-garam logam berat (Pb, Fe, Ni, Co, dsb). Adanya warna hitam pada medium menunjukkan adanya H<sub>2</sub>S.

## 2) Uji UREA

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasi secara zig zag pada permukaan agar miring media Urea dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negative ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008).

## 3) Uji SITRAT

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasikan secara zig zag pada permukaan agar miring media *Simmons Citrate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008).

#### 4) UJI MR-VP

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasi ke dalam media MR-VP dan dinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Setelah inkubasi selama 24 jam, media MR ditambahkan 3-4 tetes indikator *metil red*. Uji positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah, artinya terbentuk asam dan pada media VP ditambah 10 tetes barried dan 4 tetes KOH 40%, uji positif membentuk warna merah (Hadioetomo, 1993).

#### 5) Uji GULA-GULA

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung rekasi yang berisi medium fermentasi glukosa, manitol, laktosa, maltosa, sakarosa dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning dan apabila dalam tabung terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO<sub>2</sub>).

#### 6) UJI SIM

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. setelah inkubasi ditambahkan 10-12 tetes reagen kovac. Uji positif ditandai dengan terbentuknya lapisan berwarna merah dibagian atas biakan (Hadioetomo, 1993). Amati adanya pembentukkan :

- H<sub>2</sub>S : (+) ditandai terbentuk warna hitam pada media

- Motil : (+) jika terdapat pertumbuhan yang menyebar di sekitar tusukan / pada permukaan media atau media menjadi keruh
- Indol : (+) ditandai terbentuknya warna merah setelah ditambah 5 tetes reagen erlich/kovac.

#### 7) Uji PAD

Sebanyak 1 ohse isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media PAD dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. hasil positif ditandai dengan media berwarna hijau setelah ditambahkan HCl 0,1N sampai media berwarna kuning dan ditambahkan 5 tetes reagen FeCl<sub>3</sub> yang akan terbentuk warna hijau.

##### i. Kultur *Klebsiella pneumoniae*

Satu ohse bakteri *Klebsiella pneumoniae* inokulasikan ke media BHI (*Brain Heart Infuction*), kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Sulviana dkk., 2017).

##### j. Pembuatan Suspensi Bakteri

bakteri uji yang telah diinokulasikan diambil dengan kawat ohse steril lalu di suspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan strandar kekeruhan larutan Mc. Farland (Patrick., dkk, 2016).

##### k. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Anggur Merah

Tahapan awal yang dilakukan yakni kapas ulas steril dicelupkan ke dalam suspense bakteri uji, kemudian diputar beberapa kali dan ditekan ke dinding tabung di atas cairan untuk menghilangkan



inoculum yang berlebihan di kapas. Bakteri uji diinokulasikan pada permukaan media agar NA plate dengan cara mengulaskan kapas berisi suspensi bakteri tadi ke seluruh permukaan media.. Langkah terakhir adalah mengusap tepi-tepi agar, dan di inkubasi selama 15 menit. Kertas cakram berdiameter 6 mm yang steril direndam selama 10-15 menit di dalam ekstrak buah anggur merah masing-masing dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%. sebagai control positif yang digunakan siprofloksasin 5 µg/disk dan control negatif yang digunakan adalah DMSO 10%. Kertas cakram tersebut kemudian ditempatkan diatas permukaan media sesuai dengan posisi yang ditentukan. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Selanjutnya diamati zona hambat yang terbentuk dengan melihat zona bening di sekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri(Erika, 2014).

## **I. Analisis Data Penelitian**

Hasil penelitian uji antibakteri ekstrak buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* dianalisis menggunakan metode deskriptif yaitu melihat perbandingan pada masing-masing cakram uji yang mengandung control negative dan masing-masing seri konsentrasi ekstrak buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) yang berbeda dalam menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## J. Rencana Jadwal Penelitian

**Tabel 3. Rencana Jadwal Penelitian**

| Tahap        | Kegiatan                | Lamanya                |
|--------------|-------------------------|------------------------|
| Persiapan    | Seminar Proposal        | Desember 2020          |
|              | Studi Pustaka           | Desember 2020          |
|              | Pembelian Bahan Kimia   |                        |
|              | Optimasi Alat           |                        |
| Pelaksanaan  | Orientasi peneltian     | Januari 2021 – Febuari |
|              | Penelitian laboratorium | 2020                   |
|              | Pengumpulan data        |                        |
| Penyelesaian | Analisis data           | Februari 2021 – Maret  |
|              | Penyusunan laporan      | 2021                   |
|              | Ujian tertutup          |                        |

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 12,5% sebesar 6mm. konsentrasi 25% sebesar 6 mm. konsentrasi 50% sebesar 8,75 mm. konsentrasi 100% sebesar 11 mm.
2. Ekstrak etanol buah anggur merah (*Vitis vinifera L*) pada konsentrasi 100% dengan diameter 11 mm tidak dapat menghasilkan daya hambat yang sama dengan Ciprofloksasin yang diameter 31,75 mm.

#### B. Saran

Bagi penelitian selanjutnya :

1. Sebaiknya digunakan kultur bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang berusia 24 jam.
2. Banyaknya ekstrak yang dimasukkan ke dalam blank disk sebaiknya terukur dengan menggunakan mikropipet.
3. Buah anggur merah dapat dikonsumsi bagi masyarakat sebagai alternatif lain yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, R, 2011, *Aktivitas Antimikroba Madu dari Lebah Apis dorsata dan Apis Mellifera Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak
- Andayani, R, Chismirina, S, Kumalasari, I., 2014, *pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (averrhoa bilimbi) terhadap interaksi streptococcus sanguinis dan streptococcus mutans secara in vitro*, 6(2) : 678-744
- Angelina, M, Turnip, M, dan Khotimah, S., 2015, *uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (Ocimum Sanctum L) terhadap pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*, universitas Tanjungpura, Pontianak
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Assidqi, K, Tjahjaningsih, W, Sigit, S., 2012, *potensi ekstrak daun patikan kebo (euphorbia hirta) sebagai antibakteri terhadap aeromonas hydrophila secara in vitro*, J of marine and coastal science, 1(2):113-124
- Astawan, M, 2010, *Snack Kedelai Hambat Penuaan* <http://www.ebn.net.id> diakses pada tanggal 5 Juni 2015
- Brooks GF., Butel JS., Morse SA, 1995, *Mikrobiologi Kedokteran* Jawetz Melnick., Adelberg, ed, 20, Diterjemahkan oleh Edi Nugroho, 1996, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia

- Depkes RI, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Foster, G.M., dan Anderson, B.G., 2006, *Antropologi Kesehatan*, diterjemahkan oleh P.P. Suryadama dan M.F Swasono, Eds, Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Guo,L., Wei,D., Zhang,X., Wu,Y., Li,Q., Zhou,M., 2019, *Gambaran Klinis Sebelum Risiko Kematian Pada Pasien Dengan Pneumoniae Virus : Skor MuLBSTA. Depan. Mikrobiol :10*
- Hadioetomo, R, S., 1993, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium*, Penerbit Gramedia, Jakarta
- Harbone, J. B., 1987, *metode fitokimia*, edisi kedua, ITB, Bandung
- Harmita dan Radji, M., 2008, *kepekaan terhadap antibiotik*, buku ajar Analisis hayati, Eds 3, EGC, Jakarta
- Hudzicki, J, 2016, *Kirby baurer disk diffusion susceptibility test protocol*, American society for microbiology, 1-23
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Jayaprakasha, G.K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K., 2001, *Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro*, *Food Chemistry*, 73, 285-290
- Kristiana, H. D., Ariviani, S., dan Khasanah, L. U., *jurnal ilmu dan teknologi pangan ekstraksi pigmen antosianin Buah Senggani (Melastoma malabathricum Auct. Non Linn) dengan variasi pelarut*, universitas sebelas maret, Surakarta

- Kumowal, S, Fatimawali, Jayanto, I., 2019, *Uji aktivitas antibakteri nanopartikel ekstrak lengkuas putih (alpinia galangal L) terhadap bakteri Klebsiella pneumoniae*, FMIPA UNSRAT, Manado
- Lawlor DA, Morton SM, Nitsch D., 2005, *Association between childhood and adulthood socioeconomic position and pregnancy induced hypertension : result from the Aberdeen children of the 1950s cohort study*. *J. Epidemiol Community Health* 59:49
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E, 2011, *A photographic atlas for The Microbiology Laboratory*, Colorado : Morton Publishing Company
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono, 2005, *Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (Sechium edule Jacq. Swartz) dalam ekstrak etanol*, biofarmasi, 3(1):26-31
- Miranda A. J. Makalew., Nangoy., E., Wowor., P, M., 2016, *uji efek antibakteri air perasan daging buah nanas (Ananas Comosus L) terhadap bakteri Klebsiella pneumoniae*, vol 4, No 1
- Mukhraini, 2014, *ekstrasi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif*, jurnal kesehatan
- Muscari, M.E., 2005, *Panduan Belajar Keperawatan Pediatric*, EGC, Jakarta
- Mutschler, E., 1999, *Dinamika Obat : Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*, diterjemahkan oleh Widiyanto, M.B., Ranti, A.S., Edisi Kelima, Penerbit ITB, Bandung
- Mycek, M.J., 2001, *Farmakologi Ulasan Bergambar Ed.2*, Widya Medika, Jakarta

- Nadila, F, Soniawati, D., 2015, *Aktivitas Antibakteri Bubuk The Hijau Terhadap Bakteri Klebsiella pneumoniae* : 51
- Ngazizah, F.N.,E. Nuraeni, dan Aisyah, T, S., 2019, *potensi daun trembilungani (begonia hirtella link) sebagai antibakteri dan antifungi*, jurnal biosfera, 33(3):126-133
- Nurwidodo S, E., 2006, *Hubungan Antara Motivasi Dengan Remaja Dalam Menghindari Mengonsumsi Minuman Keras di Dusun Jati Desa Cepoko Kecamatan Ngrayun Kabupaten Ponogoro*, Skripsi, [stikes\\_smart@ymail.com](mailto:stikes_smart@ymail.com)
- Papadopoulou, C., Kalliopi, S., & Ioannis, G. R., 2004, *Potential Antimicrobial Activity of Red and white Wine Phenolic Extracts against Strains of Staphylococcus aureus, Escherichia coli, and Candida albicans*, *food Technol Biotechnol*, 43(1), 41-46
- Petrussa E., Enrico B., Marco Z., Carlo P., Alberto B., Sonia P., 2013, *Plant Flavonoids Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses*. *Int J. Mol.Sci*, 14: 14950-73
- Podschun R., Ullmann U., 1998, *Klebsiella spp, As nosocomial pathogens : Epidemiology, Toxonomy, Typing methods, and pathogenicity factors*. *Clinical Miicrobiology reviews*, Oct : p. 589-603
- Pratiwi,S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Rijayanti, R.P, 2014, *uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun manga bacang (mangifera feotida L) terhadap staphylococcus aureus secara in vitro*, skripsi, universitas Tanjungpura Pontianak
- Sacher, R, A., McPherson, R, A., 2004, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, 519, EGC, Jakarta

- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I Simbala., V.M.A. Makang, 2008, *Analisis fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara*, Che Prog, 1(1):47-53
- Sari, 2012, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah-Buahan di Riau*, Jurnal Mikrobiologi, Vol 1, No 1
- Sari, L.O.R.K., 2006, *Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanan*, Majalah Ilmu Kefarmasian, 3 (1), 01-07
- Setiadi, 2005, *Bertanam Anggur*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Soleha, T,U, Edwin, G, W, P., 2019, *Pola Resistensi Cephalosporin Generasi III Dan Meropenem pada Bakteri Klebsiella pneumoniae di Laboratorium Kesehatan Daerah Lampung Tahun 2017*, : 143
- Sudarsono, A, 2008, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara*, Institusi Pertanian Bogor, Bogor
- Sudjadi, 1998, *Metode Pemisahan*, fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, 167-177
- Syafriana, V., Hamida, F., Damayanti, R., Nanda, E, V., 2020. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur (Vitis vinifera L) terhadap streptococcus pyogenes*, Universitas Negeri Jakarta, Jakarta
- Wibawa., Indra, 2012, *Heat Exchanger*, Jurnal Teknik Kimia, Universitas Lampung, Lampung
- Winarti, S., dan Firdaus, A, 2008. *Stabilitas warna merah ekstrak bunga rosella untuk pewarna makanan dan minuman*, jurnal Teknologi Pertanian, Vol 11 (2):87-93
- Winarti, Sri., Firdaus, A., 2010, *Stabilitas Warna Merah Ekstrak Bunga Rosela Untuk Pewarna Makanan dan Minuman*, Universitas Pembangunan Nasional 'Veteran', Surabaya



- Xie, L., zhang, J., Wan, Y., Hu, D., 2010, *identification of Colletotrichum spp. Isolated from Strawberry in Zhejjang Province and Shanghai City, Cina, J. Zhejjang University-Science B (Biomed & Biotechol) 11 (1) : 61-70*
- Yuliandari, R., 2015, *Uji Aktivitas Antibiofilm Sari Buah Belimbing Wuluh Terhadap Biofilm Pseudomonas aeruginosa Secara In Vitro*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta
- Yusuf, A, 2009, *Analisis Risiko Agens Hayati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman*, Universitas Indonesia, Jakarta