

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN PETAI

(*Parkia speciosa*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*



KARYA TULIS ILMIAH

OLEH

ANNISSA

NIM. 2182035

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2021

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN PETAI
(*Parkia speciosa*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

**INHIBITION TEST OF THE ETHANOL EXTRACT OF PETAI
LEAVES (*Parkia speciosa*) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa*
BACTERIA**



KARYA TULIS ILMIAH

**DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN JENJANG
PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

OLEH

ANNISSA

NIM. 2182035

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL

SURAKARTA

2021

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN PETAI
(*Parkia speciosa*) TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

Disusunoleh:

ANNISSA

NIM. 2182035

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

Pada tanggal 03 Maret 2021

Tim Penguji:

Didik Wahyudi, M.Si (Ketua)

Ardy Prian Nirwana, M.Si (Anggota)

Aulia Nur Rahmawati, M.Si (Anggota)

Mengetahui,
Pembimbing utama

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

Menyetujui,
Ketua Program Studi

apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

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

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan/atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar pada Program Studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan 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, 03 Maret 2021



Annissa

NIM. 2182035

MOTTO

"TEMAN YANG BAIK ADALAH DIRI KITA SENDIRI"

(Annissa, 2021)

"FOKUSLAH PADA TUJUAN UTAMA MU" (Annissa, 2021)

**"SETIAP MEMULAI TUGAS ATAU PEKERJAAN APAPUN JANGAN
LUPA BERDOA" (Annissa, 2021)**

PERSEMBAHAN

Untuk Bapak Kadiyono dan Ibu Darmani tercinta yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat yang tiada henti.

Untuk teman-teman ku yang selalu memberi dukungan dan doa.

Untuk partner kerja ku Rossa terimakasih atas doa, semangat, dan dukungan dalam segala hal.

Rekan-rekan mahasiswa Reguler B'18 terimakasih untuk suka duka karena sudah menemani serta membantuku dan memberikan semangat untukku.

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia dan hidayah-Nya sehingga kami dapat menyusun dan menyelesaikan makalah dengan baik dan lancar tanpa halangan suatu apapun. Penulis telah dapat menyelesaikan dan menyusun Karya Tulis Ilmiah dengan judul “ Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Petai (*Parkia speciosa*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*”. Karya Tulis Ilmiah ini termasuk salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Diploma III Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Berdasarkan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penulis mendapat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT atas segala kenikmatan dan kemudahan yang telah diberikan.
2. Hartono, S.Si, M.Si., Apt selaku Direktur Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
3. Dwi Saryanti, M.Sc., Apt selaku Ketua Prodi D3 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
4. Aulia Nur Rahmawati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dengan cerman, memberikan masukan-masukan dan inspiratif yang sangat berguna untuk karya tulis ini.

5. Didik Wahyudi, M.Si selaku ketua penguji yang telah memberikan berbagai pengarahan dan masukan yang berguna untuk karya tulis ini.
6. Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku dewan penguji yang telah memberikan berbagai pengarahan dan masukan yang berguna untuk karya tulis ini.
7. Susi Rahmawati, A.Md selaku pendamping pengambilan data penelitian yang telah memberikan berbagai pengarahan serta membantu menemani selama penelitian di Laboratorium.
8. Bapak Bowo, Bapak Veri, dan Bapak Petrus, Ibu Wina yang setia menemani dan membantu peminjaman alat praktikum hingga selesai.
9. Semua dosen dan asisten dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Meskipun saya telah berusaha semaksimal mungkin dalam penyusunan proposal ini tetapi saya sadar bahwa proposal ini masih jauh dari kesempurnaan dan mempunyai banyak kekurangan. Oleh sebab itu, saya sebagai penyusun mengharap kritik, saran dan masukan dari semua pihak yang bersifat membangun, agar saya lebih baik lagi.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Surakarta, 19 Februari 2021

Penyusun

DAFTAR ISI

COVER.....	i
HALAMAN SAMPUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KTI.....	v
MOTTO.....	vi
PERSEMBAHAN.....	vii
PRAKATA.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TUJUAN PUSTAKA.....	5
A. Landasan Teori.....	5
1. Morfologi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2. Morfologi petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	7
3. Manfaat tanaman petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	10
4. Kandungan Senyawa Kimia.....	11
B. Antibakteri.....	13
C. Ekstraksi.....	14
D. Uji Antibakteri.....	15

E. Penelitian Sebelumnya.....	16
F. Kerangka Pikir.....	17
G. Hipotesis.....	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Desain Penelitian.....	19
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
C. Instrumen Penelitian.....	19
1. Alat.....	19
2. Bahan.....	20
D. Populasi dan sampel.....	21
E. Basar sampel.....	21
F. Identifikasi Variabel Penelitian.....	22
G. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	23
H. Alur Penelitian.....	24
1. Cara Kerja.....	25
a. Pembuatan ekstrak etanol daun petai.....	25
b. Skrinning fitokimia.....	25
c. Pembuatan stok variabel konsentrasi ekstrak.....	26
d. Pembuatan Suspensi Bakteri.....	27
e. Pembuatan stok bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
f. Konfirmasi isolat bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
1. Pengecatan Gram media BHI.....	28
2. Inokulasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media MC.....	29
3. Uji Biokimia.....	29
g. Hasil uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
h. Pemurnian bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
i. Sterilisasi alat.....	33
j. Pembuatan media.....	33
k. Uji daya hambat ekstrak etanol daun petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	33
I. Analisis Data Penelitian.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
A. Penyiapan Sampel.....	36
B. Ekstraksi Sampel.....	37
C. Skrinning Fitokimia.....	40
D. Karakteristik Bakteri.....	44
E. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
A. KESIMPULAN.....	55
B. SARAN.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Gambar 2. Daun Petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	9
Gambar 3. Kerangka Pikir.....	17
Gambar 4. Alur Penelitian.....	24
Gambar 5. Ekstrak Etanol Daun Petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	39
Gambar 6. Hasil Hasil Uji flavonoid.....	42
Gambar 7. Hasil uji saponin.....	43
Gambar 8. Hasil uji steroid.....	43
Gambar 9. Hasil identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Gambar 10 . Uji deret lengkap dan uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
Tabel 2. Hasil Randemen Ekstrak Etanol Daun Petai.....	40
Tabel 3. Hasil Skrinning Fitokimia.....	41
Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat.....	50
Tabel 5. Interpretasi Diameter Zona Hambat Ciprofoxacin.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses Sortasi.....	59
Lampiran 2. Proses Pencucian.....	59
Lampiran 3. Proses Pengeringan.....	59
Lampiran 4. Proses Penghalusan.....	59
Lampiran 5. Penimbangan Serbuk.....	60
Lampiran 6. Proses Maserasi.....	60
Lampiran 7. Pemekatan Menggunakan <i>Rotary Evapoator</i>	60
Lampiran 8. Penguapan dengan menggunakan <i>water bath</i> listrik.....	60
Lampiran 9. Hasil inokulasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
Lampiran 10. Pembuatan Konsentrasi 100%.....	61
Lampiran 11. Pembuatan Konsentrasi 75%.....	61
Lampiran 12. Pembuatan Konsentrasi 50%.....	61
Lampiran 13. Pembuatan Konsentrasi 25%.....	62
Lampiran 14. Gambar Replikasi 1.....	62
Lampiran 15 Gambar Replikasi 2.....	62
Lampiran 16. Gambar Replikasi 3.....	62
Lampiran 17. Gambar Replikasi 4.....	63
Lampiran 18. Surat Keterangan Determinasi.....	64

INTISARI

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL 96% DAUN PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :

ANNISSA

NIM.2182035

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang mampu beradaptasi dengan kondisi oksigen dan nutrisi yang rendah. *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menginfeksi paru-paru, sehingga bakteri ini juga dapat menjadi koinfeksi pada virus Covid-19. Dalam tanaman petai (*Parkia speciosa*) memiliki kandungan senyawa fenol. Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100% yang selanjutnya akan digunakan untuk uji antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia speciosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan mengetahui konsentrasi 100% ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) yang menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen. Metode yang digunakan yaitu Kirby & bauer yang menggunakan blank disk yang dicelupkan kedalam ekstrak dan media Nutrient Agar. Hasil yang didapat dari penelitian ini dari kontrol positif menggunakan antibiotik Ciprofloxacin dari 4 kali replikasi didapatkan rata-rata 28,9 mm, dan untuk 4 varian konsentrasi tidak menunjukkan adanya zona hambat. Kesimpulannya yaitu Ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia speciosa*) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada konsentrasi 100% ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia speciosa*) tidak dapat menghasilkan zona hambat begitu juga pada varian konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

Kata kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, daun petai (*Parkia speciosa*), Ciprofloxacin, Kirby & bauer, fenol.

ABSTRACT

INHIBITION TEST OF THE ETHANOL 96% EXTRACT OF PETAI LEAVES (*Parkia speciosa*) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* BACTERIA

By :

Annissa

NIM.2182035

Pseudomonas aeruginosa is a bacterium that is able to adapt to low oxygen and nutrient conditions. *Pseudomonas aeruginosa* can also infect the lungs, so these bacteria can also be co-infected with the Covid-19 virus. In petai plants (*Parkia speciosa*) contains phenolic compounds. In this study using extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% which will then be used for antibacterial testing. The purpose of this determination was to determine the ability of 96% ethanol extract of petai leaves (*Parkia speciosa*) in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria and to determine the concentration of 100% ethanol extract of petai leaves (*Parkia speciosa*) which produced the greatest inhibition zone on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. This research uses experimental research type. The method used is Kirby & bauer which uses a blank disk dipped in the extract and Nutrient Agar media. The results obtained from this study from a positive control using the antibiotic Ciprofloxacin from 4 replications obtained an average of 28.9 mm, and for 4 variants the concentration did not show any inhibition zones. The conclusion is that 96% ethanol extract of petai leaves (*Parkia spciosa*) is not able to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. At a concentration of 100% ethanol extract 96% petai leaves (*Parkia spciosa*) could not produce an inhibition zone as well as in the concentration variants of 25%, 50%, and 75%.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, petai leaves (*Parkia speciosa*), Ciprofloxacin, Kirby & bauer, phenol.

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia terutama pada usus dan kulit. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis bakteri Gram negatif yang terdapat pada tubuh manusia yang bersifat patogen yang dapat menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan tubuh dalam keadaan tidak normal misalnya saat membran mukosa dan kulit terbuka karena adanya kerusakan jaringan langsung. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang mampu beradaptasi dengan kondisi oksigen dan nutrisi yang rendah. *Pseudomonas aeruginosa* ini juga dapat tumbuh dalam rentang suhu 4-42°C. *Pseudomonas aeruginosa* ini dapat tumbuh pada peralatan medis dan bagian lain di rumah sakit, sehingga mudah menginfeksi pasien dengan penurunan imunitas (Ayu dan Sukrama, 2019). Selain itu, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menginfeksi paru-paru, sehingga bakteri ini juga dapat menjadi koinfeksi pada virus Covid-19. Menurut (Saxena *et al.*, 2015), dari 270 sampel penderita infeksi saluran napas akut, 202 sampel (74,8%) menunjukkan pertumbuhan bakteri yang signifikan, dan 68 sampel lainnya (25,1%) menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri atau terdapat kontaminasi.

Penelitian tersebut menunjukkan ISPA yang diakibatkan oleh infeksi bakteri tunggal ditunjukkan pada 194 pasien (72,0%), sedangkan 8 pasien (3,0%) lainnya terinfeksi lebih dari satu jenis bakteri. Bakteri tunggal terbanyak diisolasi antara lain, *Pseudomonas aeruginosa* (29,6%), *Moraxella catarrhalis* (11,9%), dan *Streptococcus pneumonia* (10,3%).

Beberapa jenis antibiotik yang resisten terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu Ciprofloxacin, Levofloxacin, Ofloxacin, dan Gatifloxacin (CLSI, 2019). Bakteri gram negatif salah satunya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* peka terhadap antibiotik golongan Sefalosforin (Sefotaksim, Seftazidim dan Seftriakson) generasi ketiga. Spektrum antibakterinya yang luas ini dapat menyebabkan superinfeksi dengan bakteri atau jamur yang resisten (IONI,2014). Dan ada beberapa obat herbal yang dapat mengatasi penghambatan aktivitas dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* salah satunya adalah tanaman petai (*Parkia speciosa*). Tanaman ini berasal dari suku polong-polongan (Fabaceae), anak-suku petai-petaian (Mimosoidae).

Petai dapat ditemukan di wilayah tropis. Petai banyak ditemukan di Malaysia, Indonesia, Filipina dan Thailand. Biji petai biasanya dapat dikonsumsi dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan peradangan, edema, gagal hati, penyakit ginjal dan cacangan.

Petai (*Parkia speciosa*) dikategorikan di dalam tanaman obat tradisional. Berdasarkan skrining fitokimia petai, diketahui adanya suatu senyawa aktif dalam biji petai, hampir semua bagian tanaman menunjukkan

adanya senyawa fenol. Menurut penelitian sebelumnya dari (Kurniawati,2014) ekstrak daun petai berpotensi sebagai antioksidan yang sangat tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian dengan judul “Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Petai (*Parkia speciosa*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*”

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ?
2. Apakah konsentrasi 100% ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) dapat menghasilkan zona hambat paling besar diantara varian konsentrasi 25%, 50% dan 75% ?

C. Tujuan Penulisan

1. Mengetahui kemampuan ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia speciosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Mengetahui konsentrasi 100% ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) yang menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi masyarakat :
 - a. Untuk memberikan informasi bahwa ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) dapat berpotensi sebagai penghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
 - b. Ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) juga mempunyai manfaat sebagai antibakteri.
2. Manfaat bagi peneliti :
 - a. Menambah wawasan dan mampu menerapkan,
 - b. Sumber informasi terhadap uji daya hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada daun petai.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang di lakukan yaitu jenis penelitian eksperimental deskriptif zona hambat ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

B. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Laboratorium Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta pada bulan November 2020 sampai Januari 2021.

C. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah ohse lurus dan ohse bulat steril, kapas lidi steril, oven, cawan petri, blender, spatula, kertas

saring, tabung reaksi, jangka sorong, spidol, cawan porselen, inkubator, timbangan analitik, lampu bunsen, *object glass*, *deck glass*, mikroskop, batang pengduk, *rotary evaporator*, ayakan *mesh*, *beaker glass*, betol flakon, gunting, autoklaf.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun petai (*Parkia speciosa*), bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, cat Gram (A,B,C,D), Reagen Mayer, Dragen droff, antibiotik Ciprofloxacin 5 µg, DMSO 10%, NA miring, NA plate, larutan standart Neflometer Mc Farland 0,5, NaCl 0,9% steril, *blankdisk*, aquadest, HCl 2N, NaOH, serbuk magnesium (Mg) dan HCl pekat, Minyak emersi, alkohol, alkohol mikroskop, etanol 96%, H₂SO₄2N, FeCl₃ 1%, media Klinger Iron Agar (KIA), media Sulfit Indol Motility (SIM), UREA, CITRAT, media *Methyl Red* (MR), *Voges Proskauer* (VP), *Phenyl Alanin Diaminase* (PAD), Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manitol, media fermentasi karbohidrat. Reagen uji biokimia : indikator *phenol red*, reagen Erlich/Kovac, reagen *Methyl Red*, reagen Barried, reagen KOH 40%, FeCl₃ 10%, media MC/ENDO, media BHI.

D. Populasi dan sampel

1. Populasi sampel

Populasi penelitian ini adalah daun petai (*Parkia speciosa*) yang didapatkan dari Jumapolo, Kabupaten Karanganyar.

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian yaitu ekstrak daun petai (*Parkia speciosa*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

E. Besar sampel

Sampel penelitian ini adalah daun petai (*Parkia speciosa*) 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.

Jadi $(t-1)(r-1) \geq 15$

T = jumlah perlakuan

R = replikasi

Perhitungan :

$(6-1)(r-1) \geq 15$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 20 : 5$$

$$r = 4$$

F. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ekstrak daun petai (*Parkia speciosa*).

2. Variabel terikat.

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu diameter zona hambat yang berwarna bening ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian.

1. Variabel bebas.

Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 25%, 50%, 75%, dan 100% ekstrak daun petai (*Parkia speciosa*) dengan kriteria yang digunakan dengan daun yang berwarna hijau, saat daun matang, belum terlalu tua, sehat, dan *tidak* berpenyakit. Daun petai diperoleh dari Ngawen, Karang bangun, Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia.

2. Variabel terikat

Penelitian ini ditentukan oleh zona bening yang terbentuk dalam satuan (mm) ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang di peroleh dari Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

3. Kontrol Positif

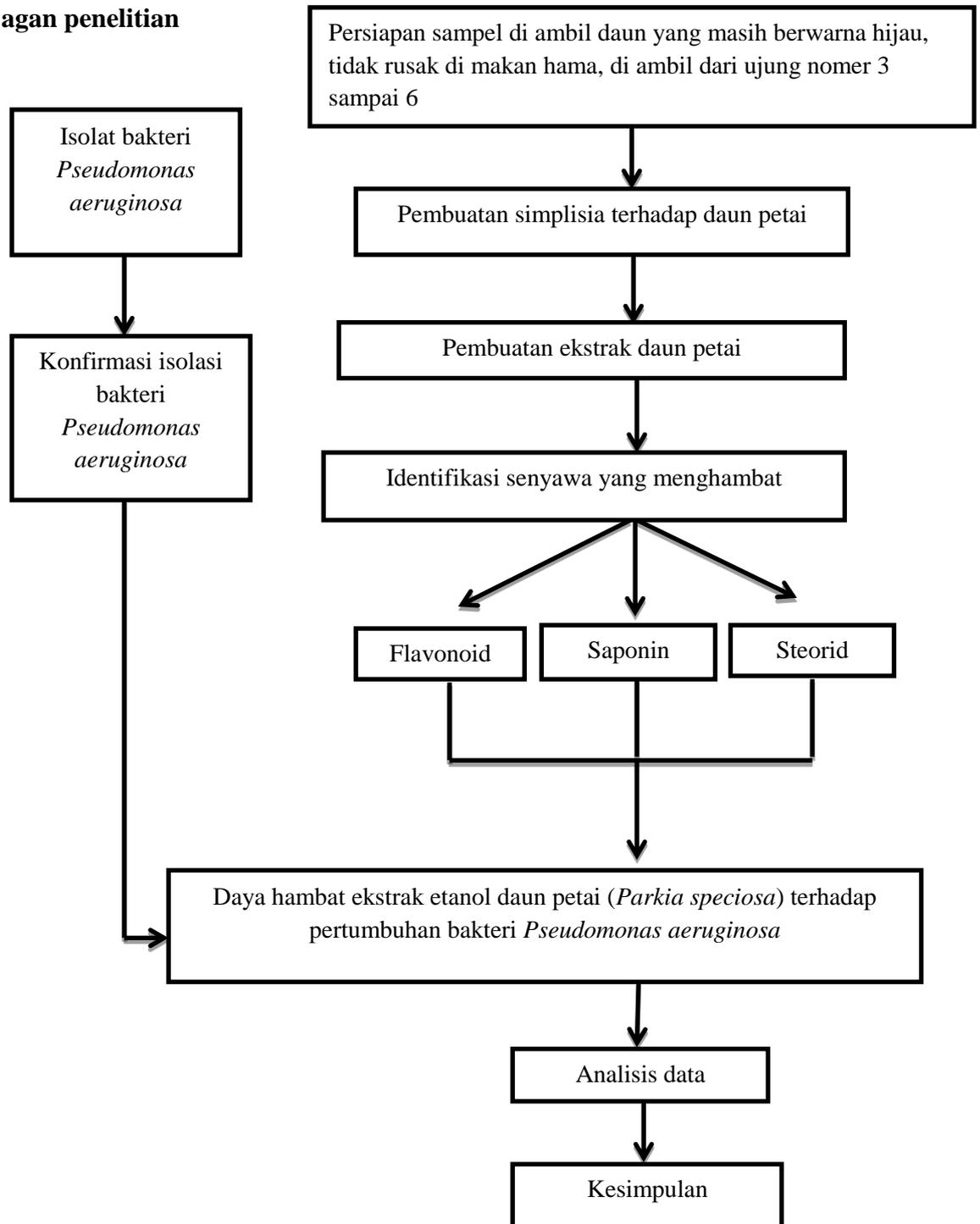
Kontrol positif yang digunakan untuk mengetahui resisten atau tidaknya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap obat antibiotik Ciprofloksasin.

4. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan yaitu menggunakan DMSO.

H. Alur Penelitian

Bagan penelitian



Gambar 4. Alur penelitian

1. Cara kerja

a. Pembuatan ekstrak etanol daun petai

Sebanyak 500 g serbuk daun petai ditimbang. Kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 10:75 lalu dimaserasi dengan 3,75 liter etanol 96% selama 2-5 hari, terlindung dari sinar matahari langsung, dan berada dalam suhu ruang dengan beberapa kali pengadukan. Proses maserasi setelah selesai selama 5 hari, kemudian disaring dengan kalin flanel dan kertas saring. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* listrik pada suhu 40°C-60°C sehingga dihasilkan ekstrak kental daun petai. (Nugraheni,2019)

b. Skrinning fitokimia

1. Flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 ml dipanaskan, kemudia ditambahkan dengan etanol. Ke dalam larutan ditambahkan dengan serbuk magnesium dan ditambahkan HCL. (Eva, 2014)

2. Saponin

Ekstrak ditambahkan dengan 10 ml air panas kemudian didinginkan, kocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit. (Eva, 2014)

3. Steroid

Sebanyak 5 ml sampel dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian ditambah dengan 2 ml kloroform lalu diaduk. Kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat. Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya steroid. (Sri, 2016).

c. Pembuatan stok variabel konsentrasi ekstrak

Penelitian menggunakan ekstrak etanol dain petai (*Parkia speciosa*). Stok konsentrasi yang akan divariasikan pelarut DMSO, serta kontrol negatif menggunakan (DMSO).

Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol :

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

Keterangan :

V1 = Volume awal sebelum pengenceran

V2 = Volume setelah pengenceran

C1 = Konsentrasi sebelum pengenceran

C2 = Konsentrasi setelah pengenceran.

Perhitungan ekstrak untuk pembuatan larutan uji :

1. Konsentrasi 100%

5 gram ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

2. Konsentrasi 75%

Dari konsentrasi 100% di pipet sebanyak 3,75 ml ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

3. Konsentrasi 50%

Dari konsentrasi 75% di pipet sebanyak 3,33 ml ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

4. Konsentrasi 25%

Dari konsentrasi 50% dipipet sebanyak 2,5 ml ekstrak kental diencerkan dengan DMSO sampai 5 ml dalam labu ukur 5 ml.

5. Kontrol negatif menggunakan DMSO

6. Kontrol positif menggunakan obat antibiotik *Ciprofloxacin*.

d. Pembuatan suspensi bakteri

Langkah awal yang harus dilakukan adalah mengambil biakan bakteri dan dilarutkan dalam larutan salin (0,9% NaCl) secara aseptik. Tingkat kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standard 0,5 Mc Farland secara visual. Suspensi bakteri ini yang selanjutnya digunakan untuk uji

aktivitas, dan harus digunakan tidak lebih dari 30 menit setelah pembuatan.

e. Pembuatan Stok Bakteri

Siapkan media BHI dan diinokulasi suspensi bakteri ke media BHI menggunakan ohse bulat secara aseptis. Kemudian homogenkan media BHI yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

f. Konfirmasi isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

1. Pengecatan Gram media BHI

Pada *object glass* bersih kering dan bebas lemak disiapkan. Sampel diambil 1-2 ohse secara aseptis dari media BHI, kemudian ratakan pada *object glass*. *Object glass* dikeringkan dengan cara dianginkan dan difiksasi di atas nyala api bunsen. *Object glass* dikering anginkan. *Object glass* kering digenangi dengan cairan cat Gram A selama 2-5 menit, buang sisa cat. *Object glass* tanpa harus dibilas langsung digenangi dengan cat Gram B selama 30-40 detik, cuci dengan air mengalir, lakukan decolorisasi dengan cat Gram C sampai luntur. *Object glass* dicuci dengan air mengalir, genani dengan cat Gram D selama 2 menit. Buang sisa cat, cuci dengan air mengalir, kering anginkan. Periksa di bawah mikroskop dengan lensa *objectif* 100x dengan ditambahkan minyak emersi 1 tetes.

2. Inokulasi *Pseudomonas aeruginosa* pada media MC (*Mac Conkey*)

Sampel media BHI diinokulasikan pada media MC (*Mac Conkey*) secara goresan menggunakan ohse bulat secara aseptis, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Amati koloni yang tumbuh pada media MC dan pengecatan. Inokulasikan 1 koloni yang terpisah dalam media deret lengkap dan gula-gula menggunakan ohse lurus dan ohse bulat secara aseptis, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati hasil uji biokimia dan fermentasi karbohidrat.

3. Uji biokimia

1) KIA

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Amati adanya pembentukan :

a. Fermentasi

Fermentasi asam/asam hasil positif ditandai dengan media berwarna kuning, sedangkan untuk alkali/ basa hasil positif ditandai dengan media tetap berwarna merah.

b. Gas

Hasil positif ditandai dengan adanya bagian yang kosong pada bagian media atau media terangkat ke atas.

c. H₂S

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna orange ke warna hitam pada media.

1) SIM

a. Indol

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah ditambahkan 5 tetes reagen ferlich/kovac.

b. Motil

Hasil positif jika terdapat pertumbuhan yang menyebar disekitar tusukan atau pada permukaan media atau media menjadi keruh.

c. H₂S

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna orange ke warna hitam pada media.

2) UREA

Uji positif media Urea berwarna merah dan uji negatif media berwarna kuning

3) CITRAT

Uji positif media Citrat berwarna biru, uji negatif media berwarna hijau

4) MR (*Metyl Red*)

Media MR ditambahkan 5 tetes reagen *metyl red*. Uji positif terbentuk warna merah, uji negatif terbentuk warna kuning.

5) VP (Voges Proskauer)

Media VP ditambahkan 5 tetes KOH 40% dan 5 tetes reagen Barrit. Uji positif terbentuk warna merah, uji negatif terbentuk warna kuning.

6) PAD (*Phenialine Deaminase*)

Tujuannya adalah untuk mengetahui adanya diaminasi fenilalanin. Cara mengujinya yaitu media ditambahkan HCL 0,1N sampai tepat berwarna kuning kemudian ditambah FeCl_3 10%. Uji positif terbentuk warna hijau, uji negatif terbentuk warna kuning.

7) Fermentasi Karbohidrat

Isolat diinokulasikan ke dalam media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif gula-gula ditandai dengan media dari warna biru menjadi warna kuning dan positif gas ditandai dengan kosongnya tabung durham.

g. Hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa***Tabel 1. Hasil uji biokimia (Nugraheni,2019)**

Karakteristik	Hasil
KIA :	
- Fermentasi	AL/AL
- H ₂ S	-
- GAS	-
SIM :	
- Indol	-
- Motil	-
- H ₂ S	-
UREA	-
CITRAT	+
MR	-
VP	-
PAD	-
Fermentasi Karbohidrat :	
- Glukosa	-
- Manitol	-
- Laktosa	-
- Sukrosa	-

h. Pemurnian bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di media BHI diambil sebanyak 1 (satu) ohse lalu diinokulasikan ke dalam media agar miring NA yang telah membeku secara aseptis dengan meletakkan ohse lurus yang ada biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ke dasar kemiringan media agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag.

i. Sterilisasi alat

Alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Dicuci bersih menggunakan sabun dan dikeringkan, untuk alat gelas di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset, jarum, dan ohse disterilkan dengan cara pemijaran dengan melewati pada api bunsen yang menyala selama 20 menit.

j. Pembuatan media

Media *Nutrien Agar* (NA) dibuat dengan cara timbang media *Nutrien Agar* (NA) 2,8 gr dan larutkan dalam 100 ml akuades kemudian panaskan di atas hotplate hingga homogen, kemudian sterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah sterilisasi, media dapat dituang secara aseptis pada cawan petri steril untuk penggunaan. Sebelum menuang media, tunggu hingga suam-suam kuku ($\pm 40^\circ\text{C}$) lalu dibiarkan pada suhu ruang hingga media memadat dengan sempurna (Siti, 2018).

k. Uji daya hambat ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*)

Metode pengujian daya hambat antibakteri menggunakan metode *Kirby & bauer*. Pengujian ini menggunakan media *Nutrien Agar*. Bagian belakang cawan petri dibagi menjadi enam dan diberi tanda menggunakan spidol. Selanjutnya inokulum dengan kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri yang sudah setara dengan *Neflometer Mc. Farland* 0,5 diinokulasikan secara perataan pada media NA *plate* dan diinkubasi pada

suhu 37°C selama 15 menit. *Blank disk* direndam dalam larutan ekstrak daun petai pada masing-masing konsentrasi selama 1 menit, kemudian diletakkan di atas media *Nutrien Agar (NA) plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening disekitar kertas cakram menunjukkan hasil uji positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Diameter zona bening atau radikal yaitu daerah disekitar *disk* di mana sama sekali tidak di temukan adanya pertumbuhan bakteri, kemudian di ukur menggunakan jangka sorong.

I. Analisis Data Penelitian

Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dianalisis menggunakan metode diskriptif yaitu melihat perbandingan masing-masing cakram uji yang mengandung kontrol negatif dan masing-masing seri konsentrasi ekstrak etanol daun petai (*Parkia speciosa*) yang berbeda dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia spciosa*) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Pada konsentrasi 100% ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia spciosa*) tidak dapat menghasilkan zona hambat begitu juga pada varian konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi uji daya hambat ekstrak etanol 96% daun petai (*Parkia speciosa*) dengan menggunakan seri konsentrasi yang berbeda dan dengan metode yang berbeda dan terhadap bakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Andhika D.A., Noor E.S., Suciati, 2017, Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*, *Jurnal Farmasi*, Vol. 4 No. 1, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.

Di akses pada tanggal 29 September 2020.

Angelina R., Elfa K.P.Agnes E.N., Alvin C., Devi L., Warsono E., Kiyat., 2018, Potensi Ekstrak Kulit Petai (*Parkia speciosa*) Sebagai Sumber Antioksidan, *Laporan Penelitian*, Fakultas Ilmu Hayati Universitas Surya Tangerang

Aprilliani, I, P., Felix, Feliatra., Nursyirwani, 2019, Karakteristik Genotip Bakteri *Pseudomonas sp* yang Diisolasi Dari Perairan Laut Dumai, *Jurnal Ilmiah*, Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru.

Aswin P.S., Dwi F., Hendrayana, 2019, Prevalensi Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* Yang Memiliki Gen Lasi Dan Lasr Di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Tahun 2013 – 2016, *E-JURNAL MEDIKA*, VOL. 8 NO.6, Universitas Udayana. Di akses pada tanggal 23 September 2020.

Ayu M.P.D., Sukrama, 2019, Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan Pola Kepekaannya Terhadap Antibiotik Di Intensive Care Unit (ICU) RSUP Sanglah Pada Bulan November 2014 – Januari 2015, *E-JURNAL MEDIKA*, VOL. 8 NO.4, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Di akses pada tanggal 23 September 2020.

Baehaki, A, C., Maggy T.S., Nurheni.S.P, Tati.N, 2008, Purifikasi Dan Karakterisasi Protease Dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Penelitian*, FakultasPertanian Universitas Sriwijaya.

Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)., 2019.

Deposit photos, 2018. Di akses pada tanggal 23 September 2020.

Devi S, Tuty M., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inrmis Linn*) Pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal penelitian*, ISSN:2598-2095.

Dr. Drs I Made Oka Adi Parwata, M.Si., 2016, Antioksidan, *Laporan Penelitian*, Universitas Udayana.

- Dwi S.S.B., 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Petai (*Parkia Speciosa*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Aktivitas Enzim Glutation Peroksidase Pada Tikus Diabetes, *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta
- IONI : 5.1.2 Sefalosporin dan Antibiotik Beta-laktam Lainnya 1 (2) <http://pionas.pom.go.id/ioni/bab-5-infeksi/51-antibakteri/512-sefalosporin-dan-antibiotik-beta-laktam-lainnya/5121>
- Diakses pada tanggal 28 September 2020
- Juarnida, Metode-ekstraksi 1 (2) https://kupdf.net/download/metode-ekstraksi_59eb18fe08bbc53208e65f66_pdf#
- diakses pada tanggal 29 September 2020
- Metta M., 2015, Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, *skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Darma Yogyakarta
- Mukhriani., 2014, Ekastraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7 (2) : 361-367
- Nafi'ah, R., Ety, H., Neneng, C, T., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Daun Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal penelitian*, JHHS (Journal of Holistic and Health Sciences) Vol. 1, N o.2.
- Ngajow, M., Harvey, R.A., dan Champe C, C., 2001, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometika pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro, *Jurnal MIPA Unstrat Online*, 2(2): 128-132.
- Putri N., 2019, Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Laporan penelitian*, Fakultas Farmasi STIKES Nasional, Sukoharjo.
- Prambudi R., Reni Z., 2013, Uji Kepekaan Antibiotik Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Sepsis Neonatorum, *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
- Pratiwi, S, T., 2008, *Mikrobiologi farmasi*, Erlangga, Jakarta.
- Rahmadian, C, A., Ismail., Mahdi Abrar., Erina., Rastina., Yudha Fahrimal, 2018, Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas sp* Pada Ikan Sin Di Tempat Pelelangan Ikan Labuhan Haji Aceh Selatan, *JUMVET E-ISSN:2540-9492*.

- Razak, A., Djamal, A., dan Revilla, G., 2013, Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In vitro, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1): 5-8.
- R. Subekti P., Hartuningsih-M, Sudarmono, Andria A, 2016, Potensi Antibakteri ekstrak daun *Lasianthus* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Jamu Indonesia* 2016 1 (3):6-11, Pusat Konservasi Kebun Raya Bogor.
- Ruth H.B., Robiyanto, Eka K.U. 2016, Potensi Ekstrak Etanol Daun Petai (*Parkia speciosa Hassk.*) Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Pada Plasma Tikus yang Mengalami Stres Oksidatif, *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Siti Juariah, Wulan P.S., 2018, Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp., *Jurnal Kesehatan*, ISSN 2338-4921, Universitas Abdurrab. Di akses pada tanggal 29 September 2020.
- Sulistiyawati, D., Mulyani, S., 2009, Uji Aktifitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans*, *Jurnal Penelitian Kesehatan Masyarakat*, 1(1).
- Verawaty., 2018, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Petai (*Parkia speciosa Hassk.*) dengan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhidrazil), *Jurnal Penelitian*, ISSN : 1979-9292, Akademi Farmasi Prayoga Padang. Di akses pada tanggal 17 September 2020.
- Yohanna E.L.G., Erly., Elmatris Sy., 2017, Pola Resistensi Bakteri Aerob pada Ulkus Diabetik Terhadap Beberapa Antibiotika di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2011-2013, *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.
- Yoyon S., Farid S., 2011, Identifikasi Dan Karakteristik Bakteri *Pseudomonas* Pada Tanah Yang Terindikasi Terkontaminasi Logam, *Jurnal Penelitian*, ISSN:2089-0877.