

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI N-  
HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DAUN BIT (*Beta vulgaris* L.)  
TERHADAP BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

**TEST ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT,  
FRACTION N-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER BEET LEAF  
(*Beta vulgaris* L.) AGAINST *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*  
(MRSA)**

**SKRIPSI**



**Oleh :  
ANGGIT DIAN APRILIA  
4171003**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI N-  
HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DAUN BIT (*Beta vulgaris* L.)  
TERHADAP BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

**TEST ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT,  
FRACTION N-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER BEET LEAF  
(*Beta vulgaris* L.) AGAINST *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*  
(MRSA)**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana  
Farmasi (S.Farm) pada program Studi S1 Farmasi  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional di Surakarta**

**Oleh :**

**ANGGIT DIAN APRILIA**

**4171003**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA**

**2021**

# SKRIPSI

## SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DAUN BIT (*Beta vulgaris L.*) TERHADAP BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

TEST ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, FRACTION N-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER BEET LEAF (*Beta vulgaris L.*) AGAINST *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Oleh:

ANGGIT DIAN APRILIA

4171003

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada Tanggal : 8 September 2021

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Apt. Diah Pratimasari, M.Farm.

Ardy Prian Nirwana, S.Pd.Bio., M.Si.

Mengetahui  
Ketua Program Studi S1 Farmasi  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.sc.

### Tim Penguji

- |  |                 |    |
|--|-----------------|----|
| 1. Apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc | Ketua Penguji   | 1. |
| 2. Dr. Didik Wahyudi, M. Si.                 | Anggota penguji | 2. |
| 3. Apt. Diah Pratimasari, M.Farm.            | Anggota Penguji | 3. |
| 4. Ardy Prian Nirwana, S.Pd Bio., M.Si       | Anggota Penguji | 4. |

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Maka sesungguhnya beserta  
kesulitan ada kemudahan,  
sesungguhnya beserta kesulitan  
ada kemudahan  
(Al Insyirah : 5-6)*

*Manusia takkan tau kekuatan  
Maksimalnya sampai ia berada  
Dalam kondisi dimana ia dipaksa  
Kuat untuk bertahan-  
Merry Riana*

Dengan kerendahan hati dan suka cita karya ini saya persembahkan kepada : Allah SWT yang telah memberi nikmat-Nya, kedua orang tua dan keluarga yang selalu memotivasi dan mendukung saya. Dosen pembimbing yang senantiasa selalu sabar dalam membimbing saya dengan sepenuh hati dan bersedia meluangkan waktunya. Sahabat dan teman-teman saya yang bersedia membantu serta memberi saya semangat selama proses pengerjaan skripsi Dewi, Faththur, Fitriana, Hana, Agnes, Risyad dan Ahmad serta teman-teman seperjuangan S1 Farmasi, dan mereka yang dulu pernah meremehkan kedua orang tua saya.

## HALAMAN PERNYATAAN

### HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 30 Agustus 2021

Peneliti



(Anggit Dian Aprilia)

## PRAKATA

Puji syukur kepada tuhan yang Maha Pengasih dan Penyayang atas segala karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)” sebagai salah satu syarat menyandang gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Apt. Lusia Murtisiwi, S.Farm., M.Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. Apt. Diah Pratimasari, M.Farm., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat, serta bantuan dalam penyelesaian skripsi.
3. Ardy Prian Nirwana, S.Pd.Bio., M.Si., selaku pembimbing pendamping yang selalu memberikan motivasi, pengarahan, bimbingan nasehat serta teladan selama penyelesaian skripsi.
4. Apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc. selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Dr. Didik Wahyudi, M. Si., selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
6. Kedua orang tua dan keluarga yang selalu mendoakan, memberikan nasehat dan memberikan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang memberikan bantuan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian.

8. Staf dan karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Bagian Kimia Farmasi STIKES Nasional, Bagian Obat Tradisional Farmasi STIKES Nasional dan Bagian Mikrobiologi Farmasi STIKES Nasional.
9. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kata sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 30 Agustus 2021

Penulis

Anggit Dian Aprilia

## DAFTAR ISI

<b>SKRIPSI</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>INTISARI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
A. Daun Bit ( <i>Beta vulgaris</i> L.).....	5
1. Klasifikasi Bit .....	5
2. Morfologi daun bit .....	5
3. Kandungan kimia pada daun bit.....	6
4. Manfaat buah bit .....	9
B. METODE PENYARIAN .....	10
1. Ekstraksi.....	10
2. Maserasi .....	10
3. Fraksinasi .....	11
C. ANTIBAKTERI.....	12
1. Antibakteri .....	12
2. Mekanisme kerja antibakteri .....	12
3. Metode pengujian aktivitas antibakteri .....	14
4. Klasifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
5. Morfologi bakteri <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) .....	17
D. Landasan Teori.....	18
E. Hipotesis .....	19
F. Kerangka Konseptual.....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>21</b>

A. Desain Penelitian .....	21
B. Alat dan Bahan.....	21
1. Bahan .....	21
2. Alat.....	21
C. Variabel Penelitian.....	22
1. Klasifikasi variabel utama.....	22
D. Definisi operasional .....	23
E. Jalannya Penelitian.....	24
1. Determinasi.....	24
2. Pembuatan serbuk .....	24
3. Pembuatan ekstrak etanol.....	25
4. Pengujian kandungan kimia .....	25
5. Fraksinasi .....	27
6. Sterilisasi.....	27
7. Peremajaan bakteri.....	28
8. Pembuatan suspensi .....	28
9. Uji sensitivitas antibiotik .....	28
10. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi disc cakram.....	29
F. Analisis Data.....	29
G. Alur penelitian .....	30
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
A. Determinasi Tanaman .....	31
B. Preparasi sampel .....	31
C. Skrining Fitokimia .....	34
D. Pengujian sensitivitas antibiotik.....	40
E. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat dan air ....	41
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>46</b>
A. Kesimpulan .....	46
B. Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Buah Bit .....	5
Gambar 2. MRSA ( <i>Methicili-Resistant Staphylococcus aureus</i> ).....	16
Gambar 3. Koloni MRSA pada media blood agar, Na miring dan MSA .....	18
Gambar 4. Kerangka konsep penelitian .....	20
Gambar 5. Alur penelitian .....	30
Gambar 6. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl .....	36
Gambar 7. Reaksi uji alkaloid dengan pereaksi dragendroff .....	37
Gambar 8. Reaksi uji alkaloid dengan pereaksi wagner .....	38
Gambar 9. Reaksi steroid dengan pereaksi Lieberman-Burchard.....	39
Gambar 10. Reaksi uji saponin .....	40

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komponen kimia daun bit.....	6
Tabel 2. Kategori respon hambatan pertumbuhan berdasarkan diameter zona hambat.....	13
Tabel 3. Standar uji sensibilitas antibiotik .....	28
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak dan fraksi daun bit .....	34
Tabel 5. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun bit .....	35
Tabel 6. Hasil uji sensitivitas antibiotik.....	41
Tabel 7. Diameter zona hambat radikal ekstrak dan fraksi daun bit.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman .....	53
Lampiran 2. Pembuatan simplisia dan penetapan kadar <i>moisture content</i> ...	54
Lampiran 3. Ekstrak dan fraksinasi.....	55
Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi.....	56
Lampiran 5. Uji fitomkimia ekstrak dan fraksi daun bit.....	57
Lampiran 6. Perhitungan larutan sampel .....	60
Lampiran 7. Surat uji identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
Lampiran 8. Surat uji identifikasi (MRSA).....	65
Lampiran 9. Hasil uji sensitivitas antibiotik .....	66
Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun bit .....	67
Lampiran 11. Komposisi media .....	69

## INTISARI

Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan salah satu strain resistan bakteri *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap antibiotik jenis metisilin, penisilin, kotrimoksazol, rifampisin, kloramfenikol dan gentamisin. Resistensi MRSA terhadap antibiotik golongan beta-laktam dikarenakan adanya perubahan pada *penicillin-binding protein 2a* (PBP2a). Berdasarkan informasi tersebut perlunya dilakukan penemuan pengobatan alternatif dengan memanfaatkan senyawa aktif pada tanaman yaitu daun bit.

Daun bit diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% selanjutnya, ekstrak difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Ekstrak dan fraksi yang dihasilkan kemudian dilakukan uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 125ppm, dan 62,5ppm terhadap bakteri MRSA. Diameter zona hambat yang didapat kemudian dianalisis secara deskriptif dengan CLSI 2020.

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 125ppm, dan 62,5ppm dengan rata-rata range zona hambat 15,06 mm-7,26 mm. Fraksi air memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1000ppm, 500ppm, 250ppm, dan 125 ppm dengan rata-rata zona hambat 11,40 mm-6,90 mm, sedangkan pada konsentrasi 62,5ppm tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Fraksi N-heksan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hasil perbandingan dengan kontrol positif yaitu ciprofloxacin menurut CLSI antara ekstrak dan fraksi dari daun bit memiliki aktivitas yang tidak setara dengan kontrol positif ciprofloxacin yang memiliki zona hambat 17,4 mm.

**Kata kunci** : daun bit, ekstrak, fraksi antibakteri

## ABSTRACT

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the resistant strains of *Staphylococcus aureus* bacteria that are resistant to antibiotics such as methicillin, penicillin, cotrimoxazole, rifampin, chloramphenicol and gentamicin. MRSA resistance to beta-lactam antibiotics is due to changes in penicillin-binding protein 2a (PBP2a). Based on this information, it is necessary to find alternative medicine by utilizing active compounds in plants, namely beet leaves.

Beet leaves were extracted using the maceration method with 96% ethanol, then the extract was fractionated using n-hexane, ethyl acetate and water as solvents. The resulting extracts and fractions were then tested for antibacterial using the disc diffusion method with concentrations of 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 125ppm, and 62.5ppm against MRSA bacteria. The diameter of the inhibition zone obtained was then analyzed descriptively with CLSI 2020.

Ethanol extract and ethyl acetate fraction had antibacterial activity at concentrations of 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 125ppm, and 62.5ppm with an average range of inhibition zone 15.06 mm-7.26 mm. The water fraction had antibacterial activity at concentrations of 1000ppm, 500ppm, 250ppm, and 125 ppm with an average inhibition zone of 11.40 mm-6.90 mm, while at a concentration of 62.5 ppm it did not show any antibacterial activity. N-hexane fraction did not show any antibacterial activity, The results of the comparison with the positive control, namely ciprofloxacin according to the CLSI, between the extract and the fraction of beetroot leaf extract had an activity that was not equivalent to the positive control ciprofoxacin which has a zone inhibition 17,4 mm.

Keywords: beet leaf, extract, fraction, antibacterial.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia. Data informasi profil kesehatan Indonesia tahun 2017 dari kemenkes RI, jumlah kasus diare seluruh Indonesia sekitar 7 juta kasus. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan diare (Kotler dan Sordilo, 2010). Argudin dkk (2010) menambahkan bahwa enterotoksin *Staphylococcus* merupakan penyebab utama keracunan makanan yang disertai diare. Pengobatan terhadap infeksi *S. aureus* sering dilakukan dengan terapi penisilin yang dinyatakan berhasil untuk mengatasi penyebarannya tetapi pada enam bulan penggunaan penisilin muncul strain resistensi penisilin. Sejauh ini yang paling banyak terjadi adalah resistensi terhadap metisilin, yaitu *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Zaunit dkk, 2019).

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah penyebab utama infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang diperoleh di rumah sakit yang berupa infeksi pasca tindakan operasi, infeksi saluran kemih sampai saluran pernafasan (Kemalaputri dkk, 2017). Penelitian lain menunjukkan bahwa MRSA resistant terhadap penisilin, kotrimoksazol, rifampisin, amoksisilin-klavimat, tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, gentamisin, tobramisin, sefotoksim dan oksasilin (Erlin dkk, 2020). Resistensi ini menyebabkan perlunya penemuan pengobatan alternatif. Pengobatan yang memungkinkan untuk mengatasi infeksi bakteri resisten antibiotik ini adalah dengan memanfaatkan senyawa aktif fitokimia. Banyak tanaman yang sudah terbukti secara ilmiah mempunyai aktivitas antimikroba (Nursidika dkk, 2014).

Antimikroba herbal dianggap efektif dan lebih sesuai karena efek sampingnya lebih sedikit. Senyawa-senyawa yang telah diteliti memiliki aktivitas antimikroba adalah terpenoid, flavonoid, fenol, alkaloid, saponin dan steroid. Mekanisme masing-masing metabolit sekunder sebagai antimikroba terletak pada struktur kimia di masing-masing senyawa. Bit adalah sumber potensial pigmen nitrogen larut air, yang disebut betalain, yang terdiri dari dua kelompok utama, betacyanins merah dan betaxanthins kuning. Selain warna merahnya, betalain memiliki beberapa aktivitas biologis yang diinginkan, termasuk sifat antioksidan, antiinflamasi, hepatoprotektif, antitumor dan antibakteri (Aleksandra dkk. 2011).

Penelitian sebelumnya dari aktivitas antimikroba ekstrak daun bit (*Beta vulgaris* L.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *K. pneumonia*, *S. thypi*, *S. aureus*, *B. subtilis* pada ekstrak kasar sebanyak 6 µl masing-masing membentuk zona hambat dengan range 4,0 mm sampai 9,0 mm dan pada 12 µL yaitu 9,0 mm sampai 19,0 mm. Fraksi kloroform daun bit memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat pada 6 µL yaitu 9,0mm sampai 12,0 mm dan pada 12 µL yaitu 10,0 mm sampai 15,0 mm. Fraksi n-heksana dan etil asetat dari daun bit tidak memberikan aktivitas anti bakteri baik pada 6 µL maupun 12 µL (Hussain dkk, 2011).

Berdasarkan informasi tersebut perlunya dilakukan penelitian ini untuk mengetahui potensi daun bit terhadap aktivitas bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Fraksinasi dilakukan dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya, fraksinasi dilakukan menggunakan *Bioassay Guided Fractination* yaitu metode yang dapat menghasilkan produk yang spesifik memiliki aktivitas yang dicari. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi adalah n-heksan dan etil asetat karena lebih aman dibanding kloroform dengan paparan jumlah per hari yang diperbolehkan dalam

Surat Edaran BPOM No.HK.04.02.42.421.12.17.1673 yaitu 2,9mg/kg untuk n-heksan dan 50mg/kg untuk etil asetat dan paparan per hari untuk kloroform yang diperbolehkan adalah 0,6mg/kg.

Uji antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sebagai skrining. Metode difusi dilakukan dengan mengamati terbentuk atau tidaknya zona hambat pertumbuhan bakteri pada sekeliling cakram yang bersifat antimikroba (Harmita, 2004).

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan air daun bit (*Beta vulgaris* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?
2. Apakah kemampuan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) penghambatannya setara dengan kontrol positif ciprofloxacin?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan air daun bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
2. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan kemampuan penghambatan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun bit (*Beta vulgaris* L.) dengan antibiotik ciprofloxacin terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

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

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam upaya pengembangan obat tradisional khususnya dalam bidang farmasi untuk pemanfaatan daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang berkhasiat sebagai antibakteri.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan melakukan analisis pada aktivitas antibakteri dari berbagai konsentrasi ekstrak dan fraksi daun bit (*Beta vulgaris*) terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### **B. Alat dan Bahan**

##### 1. Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah daun bit (*Beta vulgaris*) yang diambil dari Selo, Boyolali, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, aquades, DMSO 100%, etil asetat, n-heksana, Gram A (Kristal violet), Gram B (garam iodine), Gram C, Gram D (Safraninn), minyak emersi, HCl pekat, HCl 2N, pereaksi meyer, dragendrof, wagner, asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub>, ciprofloxacin 5µg.

Bakteri uji yang digunakan adalah Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang diperoleh dari Rumah Sakit Umum Daerah Surakarta.

Media yang digunakan adalah *Blood agar plate* (BAP), *Nutrient Agar*, *Muller Hinton Agar* (MHA), *Manitol salt agar* (MSA).

##### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini oven (Memmert), autoklaf, blender (Philips), cawan petri, corong kaca, deck glass,

rotary evaporator (IKA HB 10 basic), cakram disk (diameter  $\pm$  6mm), gelas ukur (Pyrex), bekker glass (Pyrex), jarum ose, kapas lidi steril, kaki tiga, labu Erlenmeyer (Pyrex), labu takar, mikroskop, objek glass, pembakar spirtus, pinset, pipet ukur 1 ml, rak tabung, penangas air, mikropipet, tabung reaksi, dan timbangan analitik (Ohaus Pioneer).

### C. Variabel Penelitian

#### 1. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 125ppm dan 62,5ppm ekstrak etanolik, fraksi metanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang diuji pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan metode uji difusi. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol daun buah bit secara maserasi, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan yang dilihat dari zona hambatnya.

Variabel terkendali adalah kemurnian bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), kondisi laboratorium meliputi inkasi, alat, bahan, dan bahan yang harus steril, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen yang dilakukan pada umur tanaman 3 bln, metode ekstraksi maserasi.

#### D. Definisi operasional

1. Daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) adalah daun hijau yang berumur 3 bln diambil dari tanaman bit yang ada di Selo, Cepogo Boyolali.
2. Ekstrak etanolik adalah hasil ekstraksi dari daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut 96%.
3. Fraksi n-heksan adalah fraksi dari ekstrak etanol 96% daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang difraksinasi dengan pelarut n-heksan sebagai pelarut nonpolar, kemudian dipekatkan dengan evaporator. Filtrat diuapkan diatas *waterbath* hingga didapat fraksi pekat n-heksan.
4. Fraksi etil asetat adalah fraksinasi residu n-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semipolar, kemudian dipekatkan dengan evaporator, filtrat diuapkan diatas *waterbath* hingga diperoleh fraksi pekat etil asetat.
5. Fraksi air adalah fraksinasi residu dari fraksi etil asetat menggunakan air sebagai pelarut polar, kemudian dipekatkan dengan evaporator, filtrat diuapkan diatas *waterbath* hingga didapat fraksi pekat air.
6. Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah bakteri gram positif yang didapat dari Rumah Sakit Umum Daerah Surakarta.
7. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah diameter zona radikal dimana bakteri tersebut tidak dapat tumbuh disekitar cakram yang ditandai dengan adanya daerah bening yang diukur dengan satuan millimeter. Hasil dilihat setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada

suhu 37°C, dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri ketika memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif DMSO 100%.

8. Zona radikal adalah zona dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya atau bakteri cenderung sensitif terhadap bahan uji.
9. Penghambatan ekstrak dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) dikatakan setara dengan kontrol positif ciprofloxacin jika penghambatan sampel memiliki zona hambat yang sama atau lebih besar dari ciprofloxacin.

## **E. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi**

Determinasi tanaman buah bit dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Malang.

### **2. Pembuatan serbuk**

Bahan yang digunakan adalah daun bit (*Beta vulgaris* L.) yang berumur 3 bulan dan masih segar, tidak terkena hama yang dikumpulkan dalam wadah bersih. Pembuatan serbuk daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yaitu dengan mengeringkan daun buah bit menggunakan oven pada suhu 40°C sampai kering atau sampai kadar kelembabannya <15%. setelah itu, diblender atau dihancurkan dan diayak dengan ayakan no. 40 sehingga didapat serbuk daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang memiliki derajat kehalusan relatif homogen. Hasil serbuk disimpan dalam wadah tertutup rapat.

### 3. Pembuatan ekstrak etanol

Ekstraksi daun bit dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 250 g serbuk dimasukkan ke dalam wadah dan direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL (1:8). Rendaman ditutup dan dibiarkan selama 4 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 4 hari, rendaman disaring sehingga menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Residu 1 yang ada kemudian direndam lagi dengan etanol 96% sebanyak 1000 mL. Rendaman kemudian ditutup dan dibiarkan selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 2 hari rendaman disaring sehingga menghasilkan filtrat 2 dan residu 2. Filtrat 1 dan filtrat 2 dicampurkan menjadi satu. Campuran filtrat lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tekanan 15-20 psi sampai tidak terdapat tetesan pelarut. Ekstrak diuapkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang telah dihasilkan disimpan dalam wadah tertutup dan disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan untuk pengujian agar mengurangi fotodegradasi senyawa fitokimia akibat paparan cahaya (Aryahidayani, 2020).

### 4. Pengujian kandungan kimia

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun bit (*Beta vulgaris* L.). identifikasi senyawa flavonoid, fenol, alkaloid dan tanin dibuktikan di Laboratorium Obat Tradisional STIKES Nasional Surakarta.

#### a. Identifikasi flavonoid

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl Pekat lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif flavonoid (flavon, kalkon dan auron).

b. Identifikasi alkaloid

2 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi paditetesi dengan 5 mL HCl 2 N dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 mL. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi Dragendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga.

c. Identifikasi tannin

1 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 3-4 tetes, jika berwarna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tanin pirogalol

d. Identifikasi triterpen dan steroid

2 gram ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 mL etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna merah atau

kuning berarti positif terpenoid. Apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid.

#### 5. **Fraksinasi**

Ekstrak kental daun bit 20gram dilarutkan dalam air panas 75ml, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksan 75ml dengan ekstraksi cair-cair sampai fraksi n-heksan berwarna jernih. Fraksi n-heksan merupakan filtrat yang terletak diatas, sedangkan fraksi air merupakan filtrat yang terletak dibawah. Fraksi n-heksan dan air dipisahkan. Fraksi n-heksan yang didapat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 °C dan diuapkan dengan *waterbath* sampai pekat lalu ditimbang.

Residu kemudian difraksinasi kembali menggunakan etil asetat 75ml dilakukan sampai fraksi etil asetat berwarna jernih. Fraksi etil asetat akan berada diatas sedangkan fraksi air akan berada dibawah. Kemudian hasil fraksi etil asetat dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40 °C dan diuapkan dengan *waterbath* sampai pekat lalu ditimbang.

#### 6. **Sterilisasi**

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam praktikum harus dalam keadaan steril. Cawan petri, pipet tabung reaksi, labu erlenmeyer, beaker glass, dan gelas ukur disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 150-170°C selama 30-60 menit. Alat penanam bakteri (ose) disterilkan dengan pemanasan api langsung, yaitu dengan melewati ose beberapa kali pada lampu spiritus. Medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-30 menit.

## 7. Peremajaan bakteri

Peremajaan dilakukan dengan bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) diambil satu ose dari biakan murni, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menghapuskan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C

## 8. Pembuatan suspensi

Suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil suatu biakan murni bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) diambil dari biakan murni pada media kurnang lebih 1 ose dan membuat suspensi dalam tabung berisi NaCl 0,9% yang kekeruhannya menyesuaikan standart MC Farland 0,5.

## 9. Uji sensitivitas antibiotik

Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan difusi cakram. Uji ini bertujuan untuk memastikan bahwa antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif sensitif menghambat pertumbuhan bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Cakram antibiotik yang digunakan ciprofloxacin 5µg dan kloramfenikol 30µg. bakteri digoreskan pada *nutrient agar* (NA), kertas cakram yang berisi antibiotik diletakkan di atas NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dan hasil dianalisis dengan *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI).

**Tabel 3. Standar uji sensitibilitas antibiotik**

Antibiotik	Ukuran	Intepretasi Sensibilitas (mm)		
		Sensitif	Intermediet	Resistant
Chloramphenicol	30µg	≥18	13-17	≤12
ciprofloxacin	5µg	≥21	16-20	≤15

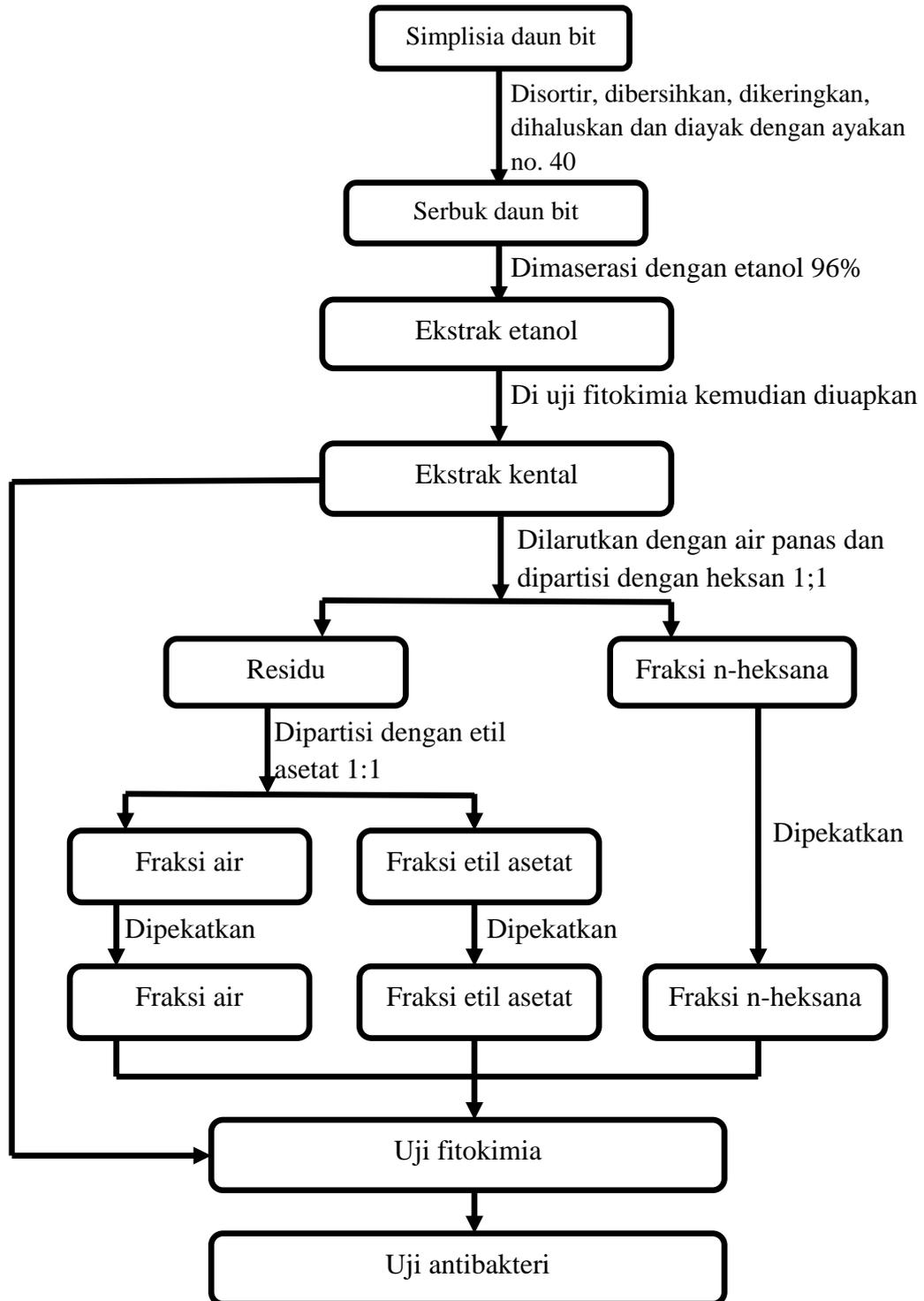
## 10. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi disc cakram

Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam media NA, diratakan hingga homogen. Metode perataan dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Media tersebut terdapat 6 cakram dengan jarak yang sama. Setiap cakram ditetesi sebanyak 20  $\mu$ l ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan DMSO 100% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi ekstrak dan fraksi tiap petri dengan konsentrasi 1000ppm, 500ppm 250ppm, 125ppm, dan 62,5ppm ditambah DMSO sampai dengan 5 ml. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar disk yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar *disk* menandakan bahwa kandungan daun bit memiliki daya hambat terhadap *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

### F. Analisis Data

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun buah bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan menggunakan metode difusi cakram disc yang dinyatakan dengan diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekeliling cakram. Diameter zona hambat dianalisis secara deskriptif menggunakan *Clinic and Laboratory Standars Institute* (CLSI, 2020) berdasarkan konsentrasi terendah yang dibandingkan dengan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 100% dan kontrol positif yaitu ciprofloxacin.

### G. Alur penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
2. Penghambatan ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air tidak setara dengan kontrol positif yaitu ciprofloksasin.

#### B. Saran

1. Berdasarkan hasil dari penelitian ini ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi air mampu menghambat aktivitas bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), sehingga kedepannya dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa apa yang mampu menghambat aktivitas *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
2. Penelitian selanjutnya dapat melakukan pengujian antibakteri dengan bakteri lain untuk mengembangkan potensi dari daun bit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes.G. 2007. Teknologi Bahan Alam, Bandung, ITB Press.
- Aini, N. (2016) *Penentuan Kadar Alkaloid*. Universitas Jember, Jember.
- Aleksandra S. Velicanski\*. Dragoljub D. Cvetkovic. Sinisa L. Markov. Jelena J. Vulic dan Sonja M. Djilas. 2011. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Beta vulgaris* L. POMACE EXTRACT. Serbia. APTEFF, 42, 1-288 (2011) DOI: 10.2298/APT1142263V.
- Arifin, B. and Ibrahim, S. (2018) 'Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid', *Jurnal Zarah*, 6(1), pp. 21–29.
- Bhattacharya, S., & Sil, P. C. (2018). Role of plant-derived polyphenols in reducing oxidative stress-mediated diabetic complications. *Reactive Oxygen Species*, 5(13), 15-34. doi: 10.20455/ros.2018.811.
- Clifford T, Howatson G, West DJ, Stevenson EJ (2015) The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients* 7:2801–2822. doi: 10.3390/nu7042801.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disk plate method of microbiological antibiotic assay. *American Society for Microbiology*, 4(22)
- Depkes RI, 1995. *Materia Medika*. Jilid VI ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi Amalia Krishna, 2013, Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, *Jurnal Saint Veteriner* ISSN 0126-0421.
- Dwiatun, I., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, dan Fraksi Air Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) Terhadap DPPH [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Dwijoseputro. (1990). Dasar-dasar mikrobiologi (Ed. ke-11). Jakarta: Djambtan.
- Ergina, Siti Nuryanti, dan Indarini Dwi P., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol, *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 157-170
- Guenther, E. (1987).Minyak Atsiri jilid I (Terjemahan). Jakarta : UI Press. Hal. 44-484.
- Gunawan and Hendra, D. (2018) 'Penurunan Senyawa Saponin pada Gel Lidah Buaya', *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), pp. 41–44.

- Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., & Setyawati, S. M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1-4.
- Halim SS. Pengaruh Jus Beet (*Beta vulgaris* L.) terhadap Tekanan Darah. Skripsi. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Marantha. 2011.
- Harborne, J., 1987. *Metode Fitokimia*. II ed. Bandung: ITB Bandung.
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya, *Majalah Kefarmasian*
- Haryati, N., Saleh, C. and -, E. (2015) ‘Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*’, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), pp. 35–40.
- Heymann D.L. 2009. *Encyclopedia of Microbiology Thirid Edition*. San diego. State university san diego.
- [https://www.who.int/medicines/publications/traditional/trm\\_strategy14\\_23/e/](https://www.who.int/medicines/publications/traditional/trm_strategy14_23/e/)  
[https://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/21/applications/s6\\_ae\\_d\\_antibiotics\\_appendix5\\_dysentery.pdf](https://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/21/applications/s6_ae_d_antibiotics_appendix5_dysentery.pdf).
- Hussain Zahid, Pir Mohammad, Sajid Khan Sadozal, Khalid Mohammed Khan, Yasmin Nawaz, dan Shahnaz Perveen. 2011. Extraction of anti-pneumonia fractions from the leaves of sugar beets *Beta vulgaris*. Pakistan. *Journal of Pharmacy Research*.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2008). *Medical microbiology*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick & Adelberg, 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. 2 ed. Jakarta: EGC.
- Kasminah ,2016, Aktivitas Antioksidan Rumput Laut (*Halymenia durvillaei*) dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar, dan Polar, *Skripsi*, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya
- Kemalaputri Dian Wahyu, Siti Nur Jannah, Anto Budiharjo, 2017, Deteksi *Mrsa (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus)* Pada Pasien Rumah Sakit Dengan Metode Maldi-Tof Ms Dan Multiplex Pcr, *Jurnal Biologi* Volume 6 No 4 hal. 51-61.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017). Pusat Data dan Informasi. Profil Kesehatan Indonesia 2017.
- La, Jawa Oriana E., Repining Tiyas S., dan Agustina Nila Y., 2020, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), *Indonesian Journal of Pharmacy anda Natural Product*, 3(1), 48
- Lona, A. T., 2018. *Uji* Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium*

myrtifolium Walp.) Terhadap Bakteri [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Malangngi, L., Sangi, M. and Paendong, J. (2012) 'Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)', *Jurnal MIPA*, 1(1), p. 5. doi: 10.35799/jm.1.1.2012.423.

Malasari Nur, RTM Sutamihardja, Amry Syawaalz, 2017, Uji Sifat Fisika-Kimia Dan Identifikasi Fenil Etil Alkohol Minyak Atsiri Bunga Mawar Hasil Ekstraksi Pelarut, *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa* Vol. 7, No.2, Juli 2017, 91 – 103.

Maraie, N. K., Thukaa Z., Abdul J., Anas T.A., dan Hassan Janabi, 2014, Phytochemical Study of the Iraqi *Beta vulgaris* Leaves and Its Clinical Applications for the Treatment of Different Dermatological Disease, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 5–19

Marjoni, R., 2016, *Dasar-Dasar Fitokimia*, Trans Info Medika, Jakarta

Marliana, Dewi S., Venty Suryanti, dan Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Schium edule* Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi*, 3(1),29

Mubarak, Fhahri, Sartini, dan Dia Purnawati, 2018, Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*, 5(3), 77

Munawwarah, L., Ramadhan, A. M. dan Ardana, M., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sapat (*Mitragyna speciosa* Korth.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Prosiding Seminar Kefarmasian ke-4*, 20–21

National Center of Biotechnology (NCBI), 2020, *Toxonomy Beta vulgaris*. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>., diakses 7 Desember 2020)

Nayak, S., Muna R., Shreemathi S.M., Govind P.G., Sartaj S.W., Kumari S.P., dan Kapil G. 2016. Antibiotics to cure or harm:concept of antibiotic resistance among health professional students in Nepal. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 5(12): 2512-2517.

Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S. dan Nocianitri, K. A., 2019, Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2)

Noorhamdani, AS. 2016. Infeksi Bakteri MRSA Pada Kulit. *Skin Infection: Its Must Know Disease*, 228-234.

Nursidika, P., Saptarini, O. dan Rafiqua, N., 2014, Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L) pada Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, *Majalah Kedokteran Bandung*, 46(2), 94–99.

- Paramesti, N. N., 2014. Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. S. C. (1988). Dasar-dasar mikrobiologi (Edisi ke-2).
- Pratiwi, R. H., 2017, Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik, *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Puslitbangkes. Riset kesehatan dasar 2013. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013.
- Ramadhani, S., 2018. Uji Aktivitas Aantibakteri Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Air dari Ekstrak Metanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Romas, A., Devi Usdiana Rosyidah, dan Muhammad Azwar Aziz, 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara In Vitro, *University Research Colloquium 2015*, 127–132
- Saifuddin, A., Rahayu, V. & Teruna, H., 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Santosa, I. & Sulistiawati, E., 2014. Ekstraksi Abu Kayu dengan Pelarut Air Menggunakan Sistem Bertahap Banyak Beraliran Silang. *Chemica*, 1(1).
- Schick, Y, K., dan Horizon Hamilton. 2008. *Beets Beta Vulgaris*. [http://academics.hamilton.edu/foodforthought/our\\_research\\_files/beet.pdf](http://academics.hamilton.edu/foodforthought/our_research_files/beet.pdf). (diakses pada tanggal 2 november 2020).
- Selby A. Makanan berkhasiat. Jakarta : Erlangga; 2005.hlm. 34.
- Sembiring, B., 2007. Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. *Warta Puslitbangbun*, 13(12).
- Sogandi, Fadhli Gunarto, 2020, Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypt*, *ASPIRATOR*, 12(1), 2020, pp. 27 – 36, DOI 10.22435/asp.v12i1.1288.
- Sunarjono, H. 2013. Bertanam 36 jenis sayuran, Jakarta : Penebar swadaya.
- Taira J, Tsuchida E, Katoh MC, Uehara M, Ogi T (2015) Antioxidant capacity of betacyanins as radical scavengers for peroxy radical and nitric oxide. *Food Chem* 166:531–536. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.102.
- Tarakanita, Sari N. D., Trisnu Satriadi, Ahmad Jauhari, 2019, Potensi Keberadaan Fitokimia Kamalaka (*Phyllanthus emblica*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh, *Jurnal Sylva Scientae*, 2(4), 649

- Tyasningsih, W., Ratih, R., Erni, R.S.I., Suryanie., Hasutji, E.N., Sri, C., dan Didik, H. 2010. Buku Ajar Penyakit Infeksius I. Airlangga University Press: Surabaya.
- World Health Organization. 2005. Guidelines for the Control of shigellosis, Including Epidemics Due to (*Shigella dysenteriae*) type 1. Switzerland: WHO Press.
- World Health Organization. 2014. WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023. Tersedia online di:
- World Health Organization. 2016. Dysentery (*Shigellosis*): Current WHO Guidelines and the WHO Essential Medicine List for Children. Tersedia online di:
- Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bowlus RD, Somero GN. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. Science. 1982;217 (1):1214–22
- Zaunit Muthia Miranda, Fuji Astuti Febriana, Amri Bakhtiar, 2019, Pengendalian *Staphylococcus Aureus* Dan Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Ramuan Obat Diare Masyarakat Maek, *JURNAL METAMORFOSA* 6 (1): 14-18 DOI : 10.24843/metamorfosa.v06.i01.p03.