

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DAUN BIT (*Beta vulgaris* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL

TEST FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, N-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION, AND WATER FRACTION BEET LEAF (*Beta vulgaris* L.) AGAINST *Escherichia coli* ESBL

SKRIPSI



Oleh:

**Dewi Anjaswati
4171010**

**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 *Escherichia coli* ESBL**

**TEST FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, N-
HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION, AND WATER
FRACTION BEE LEAF (*Beta vulgaris* L.) AGAINST *Escherichia coli* ESBL**

SKRIPSI

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

**Oleh:
Dewi Anjaswati
4171010**

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

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DAUN BIT (*Beta vulgaris L.*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ESBL

TEST FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, N-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE FRACTION, AND WATER FRACTION BEET LEAF (*Beta vulgaris L.*) AGAINST *Escherichia coli* ESBL

Oleh :

**DEWI ANJASWATI
4171010**

Dipertahankan di Hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada Tanggal : 13 September 2021

Pembimbing Utama

Apt. Diah Pratimasari, M Farm.

Pembimbing Pendamping

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 |
| 2 | Aulia Nur Rahmawati, M.Si | Anggota Penguji |
| 3 | Apt. Diah Pratimasari, M. Farm | Anggota Penguji |
| 4 | Ardy Prian Nirwana, S. Pd Bio., M.Si | Anggota Penguji |

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

*Sesungguhnya Allah tidak
akan merubah nasib suatu kaum kecuali
kaum itu sendiri yang merubahnya
(Ar Rad: 11)*

*Working Hard is
Important But There is
Something That Matters Even
More: Believing in Yourself –
J.K Rowling*

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 selalu sabar
membimbing saya dengan sepenuh hati dan bersedia meluangkan waktunya.
Sahabat dan teman-teman saya yang bersedia membantu saya selama proses
pengerjaan skripsi Riyan, Anggit, Hawa, Yolla, Fatur, Hana, Yogi, Yusuf, Mas
Jessa, Mas Aziz, tim mikrobiologi serta teman-seperjuangan S1 Farmasi, dan
mereka yang selalu bertanya kapan lulus?

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, 6 Agustus 2021

Peneliti



(Dewi Anjaswati)

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 *Escherichia coli* ESBL” sebagai salah satu syarat menyanggah gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih 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 dan teladan selama penyelesaian skripsi.
4. Apt. Novena Yety Lindawati, S.Farm., M.Sc., selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan.
5. Aulia Nur Rahmawati, 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, 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 kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 2 Agustus 2021

Penulis



Dewi Anjaswati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Bit (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	6
1. Sistematika Tanaman Bit (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	6
2. Morfologi Tumbuhan	6
3. Kandungan Kimia.....	7
4. Aktivitas Farmakologi	10

B. Metode Penyarian.....	11
1. Ekstraksi	11
2. Fraksinasi.....	12
3. Pelarut.....	12
C. Bakteri Uji.....	13
D. Resistensi Antibiotik	14
E. Aktivitas Antibakteri	15
1. Antibakteri.....	15
2. Mekanisme Antibakteri	16
3. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	18
4. Sterilisasi	18
F. Landasan Teori.....	19
G. Hipotesis.....	20
H. Kerangka Konsep Penelitian	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Desain Penelitian.....	22
B. Populasi Sampel.....	22
1. Populasi	22
2. Sampel	22
C. Variable Penelitian	22
D. Definisi Operasional.....	23
E. Alat dan Bahan.....	25
1. Bahan.....	25
2. Alat	25
F. Cara Kerja	26

1. Determinasi	26
2. Pembuatan Simplisia	26
3. Pembuatan Serbuk Simplisia.....	26
4. Pembuatan Ekstrak Etanol.....	26
5. Fraksinasi.....	27
6. Pengujian Kandungan Kimia.....	27
7. Sterilisasi	29
8. Pembuatan Suspensi Bakteri	29
9. Uji karakterisasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ESBL	30
10. Pengujian konfirmasi <i>Escherichia coli</i> ESBL	32
11. Uji sensitivitas antibiotik	33
12. Pengujian Aktivitas Antibakteri menggunakan metode difusi	33
G. Analisis Data	34
H. Alur Penelitian	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. Determinasi Tanaman	36
B. Preparasi sampel.....	36
C. Penapisan Fitokimia.....	40
D. Identifikasi Bakteri.....	48
1. Pewarnaan Gram	48
2. Identifikasi bakteri dengan uji biokimia.....	49
3. Identifikasi bakteri ESBL.....	53
4. Pengujian sensitivitas antibiotik.....	54
5. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun bit.....	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62

A. Kesimpulan	62
B. Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Bit Merah.....	7
Gambar 2. <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	13
Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian.....	21
Gambar 4. Standar Uji ESBL.....	32
Gambar 5. Alur penelitian.....	35
Gambar 6. Reaksi flavonoid dengan HCl dan logam Mg.....	42
Gambar 7. Reaksi alkaloid dengan pereaksi dragendrof.....	44
Gambar 8. Reaksi alkaloid dengan pereaksi wagner.....	44
Gambar 9. Reaksi triterpenoid dan steroid.....	46
Gambar 10. Reaksi saponin dalam air.....	47
Gambar 11. Reaksi tanin dengan $FeCl_3$	48
Gambar 12. Hasil pengamatan bakteri <i>E. coli</i> ESBL berbentuk batang merah pada perbesaran 100x.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Standar uji sensibilitas antibiotik.....	33
Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak dan fraksi daun bit.....	39
Tabel 3. Skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun bit.....	40
Tabel 4. Hasil uji biokimia <i>Escherichia coli</i> ESBL.....	50
Tabel 5. Hasil identifikasi bakteri ESBL.....	53
Tabel 6. Diameter zona hambat radikal ekstrak dan fraksi daun bit.....	55
Tabel 7. Uji normalitas.....	57
Tabel 8. Uji homogenitas.....	58
Tabel 9. Uji Kruskal Wallis.....	59
Tabel 10. Hasil signifikansi uji Mann Whitney.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman.....	71
Lampiran 2. Pembuatan simplisia dan penetapan kadar air.....	72
Lampiran 3. Ekstraksi dan fraksinasi.....	73
Lampiran 4. Perhitungan rendemen.....	74
Lampiran 5. Uji fitokimia ekstrak dan fraksi daun bit6.....	75
Lampiran 6. Perhitungan larutan sampel.....	78
Lampiran 7. Hasil pewarnaan gram dan uji biokimia.....	80
Lampiran 8. Hasil uji ESBL dan uji sensitivitas antibiotik.....	82
Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun bit.....	84
Lampiran 10. Pengujian statistik menggunakan uji Mann Whitney.....	85
Lampiran 11. Komposisi media.....	99

DAFTAR SINGKATAN

ESBL	Extended Spectrum Beta Lactamase
MDRO	Multi Drug Resistant Organism
DNA	Asam Deoksiribonukleat
RNA	Asam Ribonukleat
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
PEP	Penicilline Binding Protein
PABA	Asam Para-aminobenzonik
NA	Nutrient Agar
MR	Methyl Red
VP	Voges Proskaver
KIA	Kligler Iron Agar
PAD	Phenylalanin Deaminase
DMSO	Dimetil Sulfoksida
SIM	Sulfide Indole Motility

INTISARI

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan timbulnya masalah resistensi. Salah satu kontribusi terhadap terjadinya resistensi adalah keberadaan bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta lactamase*). Berdasarkan hal tersebut maka perlunya penemuan pengobatan alternatif dengan memanfaatkan senyawa aktif pada tanaman yaitu daun bit.

Daun bit diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%. Ekstrak kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi yang dihasilkan kemudian dilakukan uji fitokimia dan uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100% terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL. Diameter zona hambat yang didapatkan selanjutnya dianalisis secara statistik.

Ekstrak dan fraksi etil asetat daun bit memiliki aktivitas antibakteri pada setiap konsentrasi. Fraksi air memiliki aktivitas pada konsentrasi 50%, dan 100%. Fraksi air pada konsentrasi 25% tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Fraksi n-heksan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada setiap konsentrasi. Hasil perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun bit dengan kontrol positif secara statistik menggunakan Uji Mann Whitney menunjukkan nilai asymp sig < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi daun bit terhadap kontrol positif. Namun, fraksi etil asetat 100% memiliki penghambatan yang setara dengan kloramfenikol yaitu 20,58 mm (≥ 18 mm) berdasarkan CLSI 2020.

Kata kunci: daun bit, ekstrak, fraksi, antibakteri

ABSTRACT

Inappropriate use of antibiotics can lead to resistance problems. One contribution to the occurrence of resistance is the presence of bacteria that produce ESBL (*Extended Spectrum Beta lactamase*). Based on this, it is necessary to find alternative medicine by utilizing active compounds in plants, namely beet leaves.

Beet leaves were extracted using maceration method with 96% ethanol. The extract was then fractionated using n-hexane, ethyl acetate, and water as solvent. The resulting extracts and fractions were then tested for phytochemical and antibacterial tests using the disc diffusion method with concentrations of 25%, 50%, and 100% against *Escherichia coli* ESBL bacteria. The diameter of the inhibition zone obtained was then analyzed statistically.

Beet leaf extract and ethyl acetate fraction had antibacterial activity at each concentration. The water fraction has activity at concentrations of 50%, and 100%. Water fraction at concentration 25% did not show any antibacterial activity. The n-hexane fraction did not show any antibacterial activity at any concentration. The results of the comparison of the antibacterial activity of the extract and the beet leaf fraction with a statistically positive control using the Mann Whitney test showed an asymp sig value <0.05 , which means that there was a significant difference in antibacterial activity between the extract and the beet leaf fraction against the positive control. However, the 100% ethyl acetate fraction had the same inhibition as chloramphenicol which was 20.58 mm (≥ 18 mm) based on the CLSI 2020.

Keyword: Beet leaves, extract, fraction, antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang terjadi bukan hanya di Indonesia tetapi di seluruh dunia. Penyakit infeksi dapat disebabkan karena iklim maupun bakteri patogen. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki iklim yang dapat menjadi penyebab timbulnya penyakit akibat infeksi bakteri (Nursidika *et al.*, 2014). Pengobatan terhadap infeksi bakteri adalah antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan masalah resistensi.

Timbulnya resistensi bakteri patogen terhadap berbagai antibiotik dapat menjadi ancaman serius terhadap kesehatan masyarakat karena akan semakin sedikit atau bahkan tidak ada antibiotik yang efektif untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut (Aminah, 2015). Keberadaan bakteri penghasil *extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL) menjadi salah satu kontribusi terhadap terjadinya infeksi *multidrug-resistant organism* (MDRO) yang resisten terhadap satu atau lebih golongan obat antimikroba. Saat ini, infeksi MDRO semakin meningkat dan semakin signifikan menjadi masalah pada kesehatan masyarakat (Nazmi *et al.*, 2017). Salah satu jenis bakteri yang telah dilaporkan terjadi resistensi adalah *Escherichia coli*. Antibiotik ampicillin dan cefixime *E. coli* bersifat resisten (Radji, 2011). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa

E. coli resisten terhadap Ceftriaxone, Levofloxacin, Doxycycline dan Ciprofloxacin (Sumampouw, 2018).

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 *et al.*, 2014). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif adalah daun bit (*Beta vulgaris* L.). Daun bit mengandung senyawa kimia antara lain glikosida, saponin, flavonoid, fenolik dan tanin pada ekstrak air dan metanol (Maraie *et al.*, 2014). Selain itu, penelitian ini juga sebagai bentuk pemanfaatan daun bit yang selama ini belum banyak dieksplorasi potensinya.

Daun bit (*Beta vulgaris* L.) telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *K. pneumonia*, *E. coli*, *S. thypi*, *S. aureus*, *B. subtilis* pada ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi kloroform dari daun bit terhadap bakteri *E. coli* yaitu pada 6 μ L dan 12 μ L membentuk zona hambat 8,0 mm dan 9,0 mm. Fraksi kloroform daun bit memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat pada 6 μ L dan 12 μ L masing-masing 10,0 mm dan 16,0 mm. Fraksi n-heksana dan etil asetat dari daun bit tidak memberikan aktivitas antibakteri baik pada 6 μ L maupun 12 μ L karena tidak terbentuk zona hambat (Hussain *et al.*, 2011). Berdasarkan laporan penelitian diatas, daun bit (*Beta vulgaris* L.) memiliki senyawa

yang berpotensi sebagai antibakteri yang dilaporkan pada bakteri *Escherichia coli*. Perlu dilakukan penelitian ini yaitu untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun bit terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL. Fraksinasi dilakukan dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan air. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Fraksinasi yang dilakukan dengan menggunakan *Bioassay Guided Fractination* yaitu metode yang dapat menghasilkan produk yang spesifik memiliki aktivitas yang dicari. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hussain, *et al* (2011) fraksi kloroform daun bit memiliki aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat pada 6 μ L dan 12 μ L masing-masing 10,0 mm dan 16,0 mm. Namun, pada penelitian ini pelarut kloroform diganti dengan etil asetat karena lebih aman berdasarkan Surat Edaran BPOM No. HK.04.02.42.421.12.17.1673 paparan per hari untuk etil asetat 50 mg/kg sedangkan, paparan per hari yang diperbolehkan untuk kloroform adalah 0,6 mg/kg.

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

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun bit (*Beta vulgaris* L.) berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL?
2. Apakah kemampuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) penghambatannya setara dengan kontrol positif kloramfenikol secara statistik menggunakan *software* SPSS?
3. Apakah kemampuan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) penghambatannya setara dengan kontrol positif kloramfenikol secara deskriptif berdasarkan CLSI 2020?

C. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun bit (*Beta vulgaris*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL.
2. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan kemampuan penghambatan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL secara statistik menggunakan *software* SPSS.
3. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan kemampuan penghambatan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL secara deskriptif berdasarkan CLSI 2020.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam upaya pengembangan obat tradisional khususnya dalam bidang farmasi dalam pemanfaatan daun 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* L.) terhadap *Escherichia coli* ESBL.

B. Populasi Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bit (*Beta vulgaris* L.) yang tumbuh di daerah Selo, Boyolali, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah daun bit (*Beta vulgaris* L.). Daun bit yang diambil secara acak berumur seragam yaitu 90 hari, memilih daun yang masih segar, tidak rusak dan bebas dari kotoran yang diperoleh dari Selo, Boyolali, Jawa Tengah.

C. Variable Penelitian

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100%, 50%, dan 25% ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat, air dari daun bit (*Beta vulgaris* L.) yang diuji pada bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan metode difusi.

2. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol daun bit secara maserasi, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air yang dilihat dari zona hambat.
3. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri *Escherichia coli* ESBL, kondisi laboratorium (meliputi inkubasi, alat, dan bahan yang harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, dan metode penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, metode ekstraksi maserasi.

D. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol adalah hasil ekstraksi dari daun bit (*Beta vulgaris*) yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental.
2. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan hasil fraksinasi terhadap ekstrak etanol daun bit (*Beta vulgaris* L.) menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan air, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Filtrat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh fraksi pekat.
3. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL 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% dan setara dengan kontrol positif kloramfenikol.

4. Zona irradikal menunjukkan pertumbuhan bakteri tidak terhambat seluruhnya, sehingga pada zona tersebut masih terdapat beberapa koloni bakteri yang dapat bertahan atau resisten.
5. Zona radikal adalah zona dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya atau bakteri cenderung sensitif terhadap bahan uji.
6. Penghambatan ekstrak dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) dikatakan setara dengan kontrol kloramfenikol secara statistik jika memiliki nilai sig lebih dari 0,05 yang artinya tidak memiliki perbedaan yang bermakna.
7. Penghambatan ekstrak dan fraksi-fraksi daun bit (*Beta vulgaris* L.) dikatakan setara dengan kontrol kloramfenikol secara deskriptif jika memiliki nilai zona hambat yang sama dalam zona hambat sensitif kloramfenikol (≥ 18 mm) berdasarkan CLSI 2020.

E. 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, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, chloramphenicol 30 µg, cefotaxim 30 µg, ceftazidime 30 µg, pereaksi indol, methyl red, α-naftol, dan KOH 40%

Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* ESBL yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional Surakarta. Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar*, BHI, SIM, MR-VP, Simmons Citrat, TSIA, dan *Muller Hinton Agar* (MHA), Mac Conkey, PAD, glukosa, maltosa, manitol, sukrosa, dan laktosa .

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 ± 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 (Acis BC 500).

F. Cara Kerja

1. Determinasi

Determinasi tanaman bit dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

2. Pembuatan Simplisia

Bahan yang digunakan adalah daun bit (*Beta vulgaris*) yang segar dan tidak terkena hama yang dikumpulkan dalam wadah bersih daun bit dicuci hingga bersih dikering anginkan sampai air berkurang. Kemudian, daun bit di oven pada suhu 40°C sampai kering. Setelah daun bit kering dilakukan uji penetapan kadar *moisture content*.

3. Pembuatan Serbuk Simplisia

Simplisia daun bit yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan *blender* dan diayak dengan ayakan no. 40. Proses pembuatan serbuk bertujuan agar luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut dapat diperluas sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

4. 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 (remaserasi) 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* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang telah dihasilkan disimpan dalam botol kaca gelap tertutup dan disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan untuk pengujian agar mengurangi fotodegradasi senyawa fitokimia akibat paparan cahaya (Aryahidayani, 2020).

5. Fraksinasi

Fraksi dari ekstrak etanol daun bit dilakukan dengan menimbang 10 g ekstrak kental daun bit ditambahkan dengan 75 ml pelarut air (air hangat) dan n-heksana dengan perbandingan 1:1 di dalam corong pisah, kemudian dikocok dan didiamkan hingga tepat memisah menjadi dua fase yaitu fraksi air dan n-heksan. Fraksi n-heksan berada diatas dan fraksi air di bawah. Fraksi n-heksan yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan fase air difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat dan fraksi air kemudian dipekatkan. Hitung rendemen (Astana, 2018).

6. Pengujian Kandungan Kimia

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun bit (*Beta vulgaris*). Uji fitokimia menurut (Muthmainnah, 2017) sebagai berikut

a. Identifikasi Flavonoid

Sampel ditambahkan beberapa tetes HCl pekat, kemudian ditambahkan serbuk Magnesium. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna kuning (Ikalinus *et al.*, 2015).

b. Identifikasi Alkaloid

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditetesi 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 Terpenoid dan Steroid

Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan kloroform, kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan adanya cincin berwarna jingga/ungu untuk triterpenoid dan steroid dengan warna hijau kebiruan (Hasibuan *et al.*, 2020).

d. Identifikasi Saponin

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang.

e. Identifikasi Tanin

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan dengan FeCl_3 10%. Jika warnanya menunjukkan hitam kehijauan maka mengandung tanin (La *et al.*, 2020).

7. 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.

8. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* ESBL dibiakkan terlebih dahulu pada media Nutrien Agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan kedalam larutan NaCl 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai

dengan standar 0,5 McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri 10^8 (CFU)/mL. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu : $10^5 - 10^8$ CFU/mL (Nor *et al.*, 2018).

9. Uji karakterisasi bakteri *Escherichia coli* ESBL

a. Pewarnaan gram

Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram dilakukan dengan pemberian kristal violet sebanyak 2 tetes dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Langkah selanjutnya yaitu pemberian lugol sebanyak 3 tetes dan didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquadest. Preparat kemudian dilunturkan dengan pemberian larutan alkohol sebanyak 3 tetes selama 20 detik. Preparat kembali dicuci dengan aquades dan diberi pewarna safranin selama 15 detik. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan kembali dengan aquadest. Selanjutnya morfologi sel dapat diamati dengan penambahan minyak imersi dan menggunakan mikroskop (Hamidah, 2019).

b. Uji Biokimia

Uji biokimia menurut Sari, *et al.*, (2019) sebagai berikut

1) Uji Indol

Satu ose biakan bakteri dari NA miring diinokulasikan ke dalam media, lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C , ditambahkan 0,2-0,3 ml pereaksi indol ke

dalam masing-masing tabung, kocok dan diamkan selama beberapa menit.

2) Uji Methyl-red

Satu ose biakan bakteri dari NA miring diinokulasikan ke dalam media MR-VP, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, ditambahkan 5 tetes methyl red, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit.

3) Uji Voges Proskauer

Satu ose dari biakan NA miring diinokulasikan ke dalam media MR-VP, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ditambahkan 3 tetes larutan alfa naftol dan 2 tetes larutan KOH 40%, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit.

4) Uji Sitrat

Satu ose dari biakan NA miring diinokulasikan ke dalam media Simmons Citrat, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

5) Uji KIA

Bakteri diinokulasi pada media KIA dengan cara ditusuk pada bagian dasar dan streak pada bidang miring, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam.

6) Gula-gula

Inokulasi ke dalam media glukosa, manitol, maltosa, sukrosa, dan laktosa, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

7) Uji PAD

Inokulasikan bakteri pada media PAD (*Phenylalanin Deaminase*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

10. Pengujian konfirmasi *Escherichia coli* ESBL

Konfirmasi ESBL pada bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL menggunakan metode difusi cakram berdasarkan panduan dari *Clinical and Laboratory Standar Institute (CLSI)* (CLSI, 2020). Cakram antibiotik yang digunakan adalah cefotaxim 30 µg dan ceftazidime 30 µg. Bakteri uji digoreskan pada media MHA, kertas cakram yang berisi antibiotik diletakkan di atas MHA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam.

Test	Criteria for Performance of ESBL Test	
Test method	Disk diffusion	Broth microdilution
Results	For <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , and <i>E. coli</i> : Cefpodoxime zone ≤ 17 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Aztreonam zone ≤ 27 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Ceftriaxone zone ≤ 25 mm For <i>P. mirabilis</i> : Cefpodoxime zone ≤ 22 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Zones above may indicate ESBL production.	Growth at or above the concentrations listed may indicate ESBL production (ie, for <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>K. oxytoca</i> , MIC ≥ 8 µg/mL for cefpodoxime or MIC ≥ 2 µg/mL for ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, or ceftriaxone; and for <i>P. mirabilis</i> , MIC ≥ 2 µg/mL for cefpodoxime, ceftazidime, or cefotaxime).

Gambar 4. Standar uji ESBL (CLSI, 2020)

11. Uji sensitivitas antibiotik

Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Uji ini bertujuan untuk memastikan bahwa antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif sensitif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL. Cakram antibiotik yang digunakan kloramfenikol 30 µg. 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 Standards Institute* (CLSI).

Tabel 1. Standar uji sensibilitas antibiotik

Antibiotik	Ukuran	Interpretasi Sensibilitas (mm)		
		Sensitif	Intermediet	Resisten
Chloramphenicol	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12

Keterangan: interpretasi zona hambat mengacu pada CLSI 2020

12. Pengujian Aktivitas Antibakteri menggunakan metode difusi

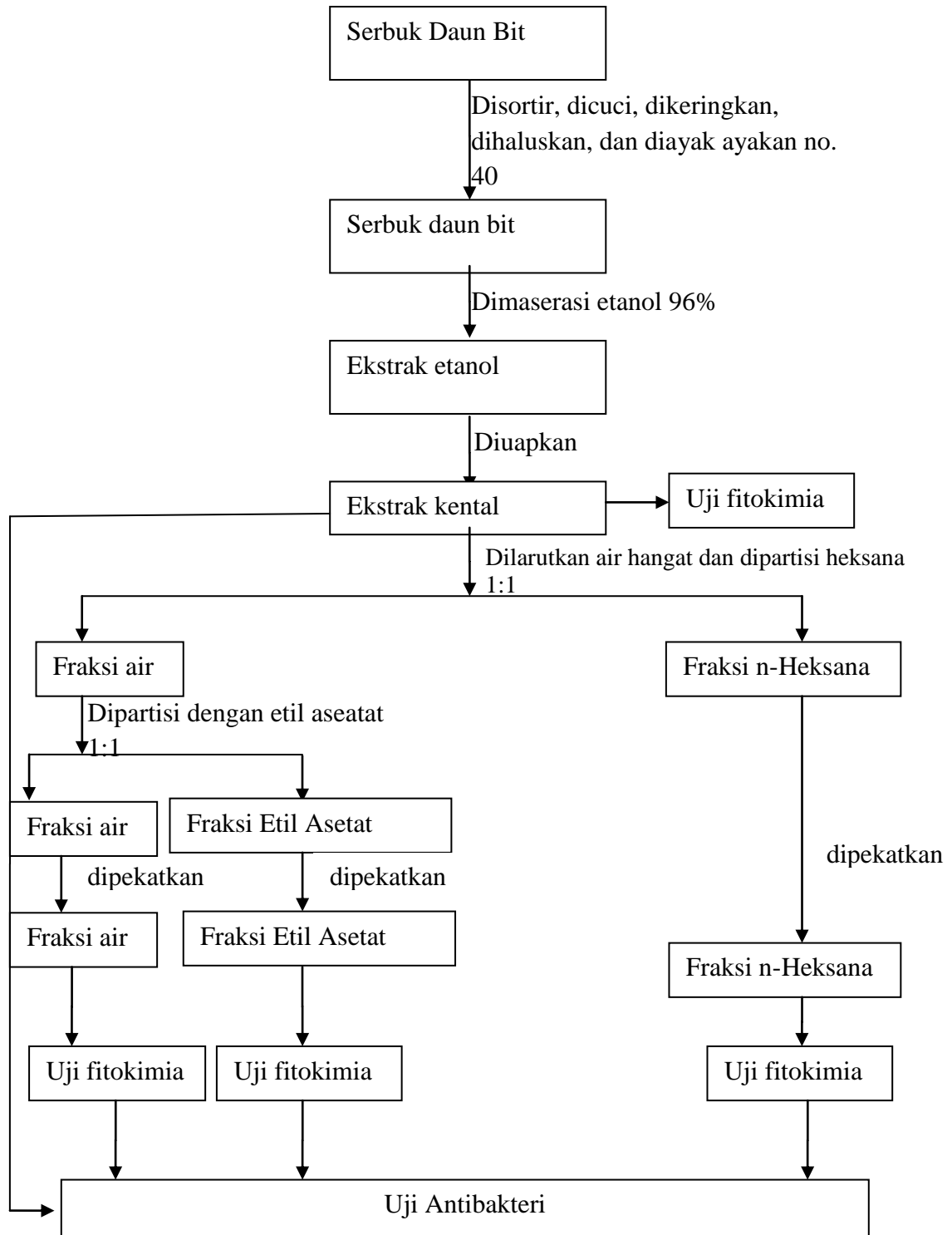
Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam media NA, diratakan hingga homogen. Metode perataan dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Media tersebut terdapat 6 cakram dengan jarak yang sama. Setiap cakram ditetesi sebanyak 30 µl ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO 100% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi ekstrak dan fraksi tiap petri dengan konsentrasi 25% atau ditimbang 0,25 gram ditambah DMSO sampai dengan 1 ml, konsentrasi 50% atau ditimbang 0,50

gram ditambah DMSO sampai dengan 1 ml, dan konsentrasi 100% ditimbang 1 gram ditambah DMSO sampai dengan 1 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 *Esherichia coli* ESBL. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh untuk membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun bit (*Beta vulgaris* L.) dengan kloramfenikol terhadap *Escherichia coli* ESBL dengan metode difusi, dalam penelitian ini menggunakan analisis statistik dengan *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* menggunakan *software* SPSS 22.

H. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat (25%, 50%, dan 100%) serta fraksi air (50% dan 100%) memiliki penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL sedangkan fraksi n-heksan (25%, 50%, dan 100%) dan fraksi air (25%) tidak memiliki penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL.
2. Penghambatan ekstrak dan fraksi-fraksi daun bit terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL tidak setara dengan penghambatan kontrol positif kloramfenikol secara statistic menggunakan uji Mann Whitney menunjukkan nilai $P < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan aktivitas antibakteri yang bermakna.
3. Penghambatan fraksi etil asetat 100% setara dengan penghambatan kontrol positif kloramfenikol secara deskriptif didapatkan diameter zona hambat 20,58 mm (≥ 18 mm).

B. Saran

1. Berdasarkan hasil penelitian fraksi dan ekstrak etanol daun bit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL dapat

dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan senyawa apa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL

2. Penelitian selanjutnya dapat melakukan pengujian antibakteri daun bit (*Beta vulgaris* L.) menggunakan jenis bakteri yang lain untuk mengembangkan potensi daun bit sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Nurul, 2016, Penentuan Kadar Alkaloid pada Ekstrak Daun Tanaman menggunakan Metode NIR dan Kemometrik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember.
- Aminah dan Jamilatu, 2015, *Multidrug Resistant Escherichia coli* pada Sumber Air Minum di Kota Tangerang, *Jurnal Medikes*, 3(2), 31-41
- Anastasia, Novia, 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Arifin, B. dan Ibrahim, S., 2018, Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29
- Aryahidayani, W., 2020, Aktivitas Bunga dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Varietas Bangkok dan California, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Astana, K. N., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Etil asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Resisten, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta
- Biondo, Franca B.P., Joana S. B., Erica O.B., Nilson Evelazio de S., Makoto M., Claudio Celestino de O., Marcela B., dan Jesui V. V., 2014, Evaluation of Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Leaves During Its Development Stages: A Chemical Composition Study., *Food Science and Technology*, 34(1), 6
- Clinical and Laboratory Institute, 2020, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 30th Edition*, USA
- 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
- Firdaus, T., 2014, Efektifitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

- Gunawan dan Hendra, D., 2018, Penurunan Senyawa Saponin pada Gel Lidah Buaya, *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), 41–44.
- Hamidah, M. N., 2019, Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Pedagang Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 182–184.
- Handayani, Selpida, Komar Ruslan W., dan Muhammad Insanu, 2017, Penapisan Fitokimia dan Karakteristik Simplisia Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* Alston), *JF FIK UINAM*, 5(3), 180
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya, *Majalah Kefarmasian*.
- Haryati, N., Saleh, C., dan Erwin, 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), 35–40.
- Hasibuan, Syukur A., Vicky Edrianto, dan Novandi Purba, 2020, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.), *Jurnal Farmasi*, 2(2), 47
- Hussain, Zahid, Pir Muhammad, Sajid Khan Sadozai, Khalid Muhammad Khan, Yasmin Nawas, dan P., 2011, Extraction of anti-pneumonia fractions from the leaves of sugar beets (*Beta vulgaris*), *Journal of Pharmacy Research*, 4(12), 4783-4785.
- Ikalinus, Robertino, Sri Hayati W., dan Ni Luh E. S., 2015, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Btang Kelor (*Moringa oleifera*), 4(1), 73
- Iskandar, Dodi, 2020, Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun *Uncaria tomentosa* Sebagai Bahan Utama dalam Pembuatan Teh, *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 12(2), 154-157
- Kasminah ,2016, Aktivitas Antioksidan Rumput Laut (*Halymenia durvillaei*) dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar, dan Polar, *Skripsi*, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya
- 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 and 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 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Malangngi, L., Sangi, M. dan Paendong, J., 2012, Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.), *Jurnal MIPA*, 1(1),

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 Dermacological Disease, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciencess*, 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

Muthmainnah, 2017, Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna, *Media Farmasi*, 14(1), 55–64.

Nazmi, M., Ngakan Made Ari Mahardik, dan Wani Devita Gunardi, 2017, Artikel Penelitian Kejadian Infeksi Saluran Kemih oleh Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Extended Spectrum Beta Lactamase: Studi Kasus di Rumah Sakit Swasta Periode 2012-2015, *J. Kedokt Meditek*, 23 (62)

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

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

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)
- Nor, T. A., Indriarini, D. dan Koamesah, S. M. J., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Terhadap Pertumbuhan Baketri *Escherichia coli* Secara In Vitro, *Cendana Medical Journal*, 15(3), 327–337.
- Normaliska, R., Sudarwanto, M. B. dan Latif, H., 2019, Pola Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor, *Acta Veterinaria Indonesiana*, 7(2), 42–48
- 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 Bakteri *Escherichia coli*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Pires, M. R., Henrique F. Costa, Abel G. M. F., dan Isabel M. F. A., 2007, Viscosity and Density of Water + Ethyl Acetat + Ethanol Mixtures at 298,15 and 318,15 K and Atmospheric Pressure, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 52 (4), 1240
- Pratiwi, R. H., 2017, Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik, *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Puspita, Irda, Nila Qurrotul A., Anita, Thomas S., dan Ary A., 2020, Uji Sensitivitas *Eschericchia coli* yang Diisolasi dari Air Sumur Galian Dekat *Septic Tank* Terhadap Ciprofloxacin, *National Conference for Ummah*, 6
- Putri, Santosa, H., N., Dewi N., Sinta L., Billyardi L., M. Effendi., dan Novik N., 2019, Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Tangkai Daun *Begonia multangula* Blume Terhadap *Prophyromonas gingivalis*, *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 7(1), 55
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. 1 ed. Denpasar. 1st edn*, EGC, Denpasar
- Rahayu, Afrianti S. dan Muhammad Hidayat G., 2017, Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *IJPST*, 4(2), 51-52
- 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
- Salem, Hesham dan Ebtihal Samir, 2018, Determination of Cefotaxime, Cefoperazone, Ceftazidime, and Cefadroxil Using Surface Plasmon Resonance Band of Silver Nanoparticles, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(3), 2
- Santosa, I. dan E. S., 2014, Ekstraksi Abu Kayu dengan Pelarut Air Menggunakan Sistem Bertahap Banyak Bealiran ilang, *Chemica*, 1(1), 33–39
- Sari, D. P., Rahmawati dan W, E. R. P., 2019, Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya, *Jurnal Labora Medika*, 3(1), 29–35.
- Sistryaningrum, T., 2017, Efektivitas Kumur Sari Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) Terhadap Jumlah *Streptococcus sp.* dalam Plak Gigi, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jember
- Sumampouw, O. J., 2018, Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado', *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(1)
- Sumampouw, J. O., 2019, Kandungan Bakteri Penyebab Diare (*Coliform*) pada Air Minum (Studi Kasus Pada Air Minum dari Depot Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Minahasa), *Journal PHWB*, 1(2), 8–13
- Sunarjono, Hendro, 2013, *Bertanam 36 Jenis Sayuran*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Sutomo, Mariatul K., Nurmaidah, dan Arnid, 2021, Identifikasi Potensi Senyawa Antioksidan dan Fraksi Etil Asetat Daun Mundar (*Garcinia forbesii* King) Asal Kalimantan Selatan, *Prosiding Seminar Nasional dan Lingkungan Lahan Basah*, 6(3)
- Tarakanita, Sari N. D., Trisnu Satriadi, Ahmad Jauhari, 2019, Potensi Keberadaan Fitokimia Kamalaka (*Phyllanthus emblica*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh, *Jurnal Sylva Scienteeae*, 2(4), 649
- Vijay, D. dan Thangaraj, N., 2019, Extraction of Betalains from Red Beetroot (*Beta vulgaris L.*) and to Evaluate its Antibacterial Potential Against Extended- Spectrum Betalactamases Producing Isolates, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(6)
- Waluyo, L., 2010, *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*, UMM Press, Malang

- Widiyaningsih, Mastuti dan Aldino Marcos de J., 2018, Isolasi *Escherichia coli* dari Urine Pasien Infeksi Saluran Kemih di Rumah Sakit Bhayangkara Kediri, *Al Kaunyah Journal of Biology*, 11(2), 99-108
- Widiyanto, A. N., 2009, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.