

**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK CANGKANG BIJI BUAH KADARA  
(*Caesalphia Bonduc*) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS* SECARA IN VITRO**

**Diajukan Kepada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah  
Mataram Sebagai Syarat Untuk Mencapai Gelar Ahli Madya Farmasi Pada  
Program Studi D3 Farmasi**



**Disusun Oleh:**

**ZAIFAN  
516020061**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM**

**2019**

**LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH**  
**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK CANGKANG BIJI BUAH KADARA**  
**(*Caesalphia Bonduc*) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS***  
***AUREUS* SECARA IN VITRO**

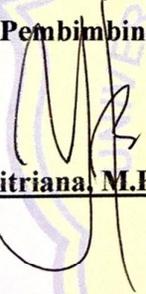
**Disusun Oleh:**

**ZAIFAN**  
**516020061**

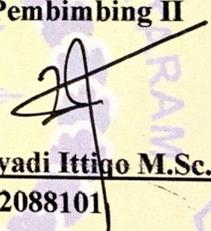
**Mataram, 22 Agustus 2019**

**Telah dipertahankan didepan penguji**  
**dan dinyatakan telah memenuhi syarat,**

**Pembimbing I**

  
**(Yuli Fitriana, M.Farm. Apt)**  
**NIDN.**

**Pembimbing II**

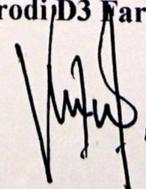
  
**(Dzun Haryadi Ittifo M.Sc. Farm., Apt)**  
**NIDN. 0822088101**

**Mengetahui,**

**Universitas Muhammadiyah Mataram**

**Fakultas Ilmu Kesehatan**

**Kaprodi D3 Farmasi**

  
**(Baiq Leny Nopitasari, M.Farm., Apt)**  
**NIDN. 0807119001**

**LEMBAR PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH**  
**UJI KUALITATIF DAN UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK CANGKANG**  
**BIJI BUAH KADARA (*Caesalphia Bonduc*) TERHADAP BAKTERI**  
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SECARA IN VITRO**

Disusun Oleh:

**ZAIFAN**  
**516020061**

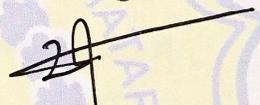
Mataram, 22 Agustus 2019

Telah dipertahankan didepan penguji  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat,

Pembimbing I

  
(Yuli Fitriana, M.Farm. Apt)  
NIDN.

Pembimbing II

  
(Dzun Harvadi Ittifo M.Sc. Farm., Apt)  
NIDN. 0822088101

Penguji

  
(Nurul Qiyaam, M, Farm, Klin., Apt)  
NIDN. 0827108401

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Mataram

  
(Nurul Qiyaam, M, Farm, Klin., Apt)  
NIDN. 0827108401

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Zaifan  
NIM : 516020061  
Program Studi : DIII-Farmasi  
Fakultas : Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantum dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Mataram, 21 Agustus 2019

Yang membuat pernyataan



Zaifan  
516020061

## MOTTO

**“ Orang berilmu lebih utama dari pada orang yang selalu berpuasa, sholat dan berjihad. Karena apabila mati orang mati berilmu, maka terdapatlah kekosongan dalam islam yang tidak dapat di tutup selain oleh penggantinya yaitu orang berilmu juga,”**

## PERSEMBAHAN

**Sembah sujud serta syukur kepada allah SWT. Kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang engkau berikan akhirnya Karya Tulis Ilmiah yang sederhana ini dapat terselesaikan.**

**Karya Tulis Ilmiah ini ku persembahkan kepada orang-orang yang sangat kukasihi dan kusayangi yaitu kedua orang tuaku (Bapak Jamaludin) dan (Ibu Salmah) yang telah memberikan kasih sayang, secara dukungan, ridho dan cinta kasih sayang tiada terhingga. kakakku (Dewi Anggriani, Supriadin dan Suharman) yang selalu menasehatiku dan memberiku dukungan, dan terikasih buat teman-temanku yang selalu memberikan motifasi, nasihat, dukungan yang selalu membuatku semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. (Sopian Adrian sosilo, Baharudin, Nur Maulidatul Zuhra, Mita Kurniawati dan Siti Mariyam Ulfa) dan sepupuku (Agam Saputra)**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK CANGKANG BIJI BUAH KADARA  
(*Caesalpinia Bonduc*) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS* SECARA IN VITRO**

**Zaifan, 2019**

**Pembimbing : (I) Yuli Fitriana (II) Dzun Haryadi ittiqo (III) Nurul Qiyaam**

**ABSTRAK**

Tanaman kadara (*Caesalpinia Bonduc*) banyak terdapat dipulau sumbawa. Khususnya daerah Bima dan Dompu. Masyarakat secara tradisional menggunakan kadara untuk menyembuhkan malaria, diabetes, batu ginjal. Hasil penelitian uji kualitatif menunjukkan adanya senyawa, tannin, flavonoid, saponin dan terpenoid. Cangkang biji buah kadara mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri seperti flavonoid, tannin, dan saponin, *Staphylococcus aureus* ialah bakteri Gram positif anaerob yang merupakan flora normal dalam mulut. Bakteri ini sering terisolasi sebagai penyebab seperti infeksi saluran kemih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat cangkang biji buah kadara (*Caesalpinia Bonduc*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Jenis penelitian ialah eksperimental dengan metode modifikasi Kirby-Bauer menggunakan sumuran. Sampel biji buah kadara diperoleh dari daerah desa Teke Kab. Bima yang kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Sebagai kontrol positif digunakan Ciprofloxacin. Hasil penelitian ini mendapatkan rata-rata zona ekstrak cangkang biji buah kadara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi ekstrak cangkang biji buah kadara 20% sebesar 0 mm, konsentrasi 40% sebesar 0 mm, konsentrasi 60% sebesar 18 mm, konsentrasi 80% sebesar 20 mm dan konsentrasi 100% sebesar 30 mm. sedangkan zona hambat Ciprofloxacin sebesar 30 mm. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak cangkang biji buah kadara memiliki potensi daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Konsentrasi 100% sebesar 30 mm.

**Kata kunci:** *Caesalpinia Bonduc*, *Staphylococcus aureus*, Daya Hambat

**INHIBITORY TEST OF the KADARA FRUIT SEED SHELL EXTRACT  
(Caesalpinia Bonduc) AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS  
BACTERIA IN VITRO**

**Zaifan, 2019**

**Preceptor : (I), Yuli Fitriana (II), Dzun Haryadi ittiqo (III) Nurul Qiyaam**

**ABSTRAK**

The Kadara plant (*Caesalpinia Bonduc*) is a lot of Sumbawa. Especially Bima and Dompu area. People traditionally use cadaras to cure malaria, diabetes, kidney stones. The results of qualitative test studies indicate the presence of compounds, tannins, flavonoids, saponins and terpenoids. The Kadara fruit shells contain various compounds of secondary metabolites that are antibacterial such as flavonoids, tannins, and alkaloids, *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive anaerobic bacteria which is a normal oral flora. These bacteria are often isolated as causes such as urinary tract infections. This study aims to determine the inhibitory power of Kadara fruit seeds (*Caesalpinia Bonduc*) to the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. This type of research is experimental with the Kirby-Bauer modification method of using the eastern. Samples of Kadara fruit seeds were obtained from the village area Teke Kab. Bima is then excommunicated by maceration method using ethanol 70%. As a positive control used Ciprofloxacin. The results of this study found that the average zone of the extract of the kadara fruit seed shells against *staphylococcus aureus* bacteri the concentration of the kadara 20% was 0 mm, concentration 40% was 0 mm, concentration 60% was 18 mm, concentration 80% was 20 mm and a concentration of 100% was 30 mm. While the Ciprofloxacin barrier zone is 30 mm. Results can be concluded that the seed meat extract of the Kadara fruit has the greatest potential of power to the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria Concentration of 100% was 21 mm.

**Keywords:** *Caesalpinia Bonduc*, *Staphylococcus aureus*, inhibitory

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. WB.

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul **“Uji Daya Hambat Ekstrak Cangkang Biji Buah Kadara (*Caesalpinia Bonduc*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro”** penulisan karya tulis ilmiah ini sebagai satu syarat kelulusan menjadi Tenaga Tehnik Kefarmasian di Universitas Muhammadiyah Mataram. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Nurul Qiyaam, M.Farm.Klin., Apt selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Mataram dan selaku penguji pertama yang telah memberikan arahan dan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Dzun Haryadi Ittiqo, M.sc., Apt selaku Wakil Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Muhammadiyah Mataram dan pembimbing kedua yang telah memberikan arahan dan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Baiq Leni Nopitasari, M.Farm., Apt selaku Ketua Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
4. Yuli Fitriana, M.Farm., Apt selaku pembimbing pertama yang telah memberikan masukan dan arahan pada pengujian Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Orang tua saya yang telah memberikan do'a dan kepercayaan kepada kami dan semua pihak yang telah membantu dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Semoga Allah SWT akan selalu meridhoi dan membalas semua bantuan yang telah diberikan kepada kami. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini terdapat banyak kekurangan dan kekhilafan yang dilakukan, untuk itu saya memohon maaf kepada

6. Semua pihak yang terkait. Dan saya menyadari pula bahwa penulisan karya tulis ilmiah ini tidak sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Saran yang membangun selalu diharapkan semoga penulisan karya tulis ilmiah ini memberi manfaat bagi kita semua. Aamiin

Mataram, Agustus 2019



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN .....	iv
MOTO DAN PERSEMBAHAN .....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Keaslian penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.1.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi dari <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
2.1.3 Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
2.1.4 Mekanisme infeksi dari <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.2 Tanaman Kadara ( <i>caesalpinia bonduc</i> ).....	12
2.2.1 Taksonomi Tumbuhan kadara ( <i>caesalpinia bonduc</i> ).....	12
2.2.2 Morfologi Tanaman Kadara.....	13
2.2.3 Habitat Alami Tanaman kadara .....	14
2.3 Kegunaan Biji Kadara di Masyarakat.....	15
2.4 Metabolit sekunder .....	15
2.5 Ekstrak Dan Ekstraksi .....	27
2.5.1 Ekstraksi Dengan Menggunakan Pelarut Cara Dingin.....	28
2.5.2 Ekstraksi Dengan Menggunakan Pelarut Cara Panas .....	33
2.6 Uji Kualitatif .....	39
2.6.1 Uji terhadap Alkaloid .....	40
2.6.2 Uji terhadap Saponin dan terpenoid .....	43
2.6.3 Uji Terhadap Flavonoid.....	44
2.6.4 Uji Terhadap Tannin .....	44
2.7 Metode Uji Penghambatan Bakteri .....	45
2.8 Kerangka Konsep .....	47

## **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Desain Penelitian.....	48
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	48
3.3 Variabel Penelitian .....	48
3.4 Definisi Operasional.....	48
3.5 Parameter pengamatan.....	49
3.5.1 Peralatan Penelitian.....	49
3.5.2 Bahan Penelitian.....	49
3.6 Pelaksanaan Penelitian .....	50
3.6.1 Pembuatan Ekstrak.....	50
3.7 Uji Kualitatif .....	51
3.8 Cara kerja pengujian ekstrak cangkang biji buah kadara dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
3.9 Analisa Data.....	54
3.10 Alur Penelitian .....	56

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Pengumpulan bahan .....	57
4.2 Pembuatan serbuk Cangkang biji buah kadara ( <i>caesalpiabonduc</i> ) .....	57
4.3 Ekstraksi .....	58
4.4 Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Cangkang Biji Buah Kadara ( <i>Caesalpnia Bonduc</i> ).....	60
4.5 Pengujian Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Cangkang Biji Buah Kadara ( <i>Caesalpnia Bonduc</i> ) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> Secara In Vitro.....	64
4.6 Analisis Data.....	68

## **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan.....	70
5.2 Saran .....	70

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	<i>Staphylococcus aureus</i> secara mikrokopis (Radji, 2011).....	8
Gambar 2.	Tanaman kadara (Asep Kusrahman, 2012).....	12
Gambar 3.	Bentuk daun Tanaman Tanaman kadara (Asep Kusrahman, 2012).....	13
Gambar 4.	Batang kadara (Asep Kusrahman, 2012).....	13
Gambar 5.	Bentuk buah kadara (Asep Kusrahman, 2012) .....	14
Gambar 6.	Alatmaserasi (Emi Hartati, 2016).....	29
Gambar 7.	Alat perkolasi (Emi Hartati, 2016).....	31
Gambar 8.	Alatrefluk (Emi Hartati, 2016).....	33
Gambar 9.	Alatsoklet (Emi Hartati, 2016).....	35
Gambar 10.	Alatinfudasi/dekok (Emi hartati, 2016).....	38
Gambar 11.	Kerangka konsep.....	47
Gambar 12.	Alur Penelitian .....	56
Gambar 13.	Hasil Penelitian .....	61
Gambar 14.	Reaksi Terbentuknya Senyawa Flavonoid (Fitriati, 2018).....	64



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen .....	58
Tabel 2. Hasil uji kualitatif ekstrak etanol Cangkang biji buah kadara.....	59
Tabel 3. Klasifikasi respon zona hambat bakteri.....	63
Tabel 4. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Cangkang Biji Buah Kadara ( <i>Caesalpinia Bonduca</i> ) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> Secara In Vitro .....	63
Tabel 5. Hasil uji krulkas-Wallis test konsentrasi ekstrak cangkang biji buah kadara ( <i>caesalpinia bonduca</i> ) <i>Kruskal Wallis Test</i> .....	67



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat ijin penelitian Laboratorium D3 Farmasi UMMAT
- Lampiran 2. Surat ijin penelitian Laboratorium Kesehatan Pengujian Kalibrasi Dan Penunjang Medis.
- Lampiran 3. Proses maserasi cangkang biji buah kadara (*Caesalpinia bonduc*).
- Lampiran 4. Perhitungan rendemen.
- Lampiran 5. Hasil uji kualitatif
- Lampiran 6. Pengenceran sampel dan penanaman bakteri staphylococcus aureus
- Lampiran 7. Daya hambat ekstrak cangkang biji buah kadara (*Caesalpinia bonduc*)
- Lampiran 8. Rumus Perhitungan Daya Hambat
- Lampiran 9. Uji Konsentrasi Ekstrak Cangkang Biji Buah Kadara Menggunakan Uji One Way Anova.



## DAFTAR SINGKATAN

Depkes RI	: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
Dmapp	: Dimetil Alil Pirofosfat
FPP	: Farnesil Pirofosfat
GPP	: Geranil Pirofosfat
GGPP	: Geranil-Geranil Pirofosfat
IPP	: Isopentenil Pirofosfat
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KBM	: Kadar Bakterisidal Minimum.
Lb	: Liberman-Burhard
Mg	: Magnesium
MHA	: Muller Hinton Agar
NTB	: Nusa Tenggara Barat
NTB	: Nusa Tenggara Barat
SPSS	: <i>Statistical Product And Service Solution</i>
UV	: Ultra Ungu



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara tropis yang kaya akan sumber daya alam terutama tumbuhan. Hutan yang terbentang di belasan ribu pulau yang ditumbuhi berbagai jenis flora dan fauna, yang kadang tidak dapat dijumpai di bagian bumi lainnya, dan merupakan salah satu negara *MegaBiodiversity* (kekayaan akan keanekaragaman hayati ekosistem, sumber daya genetika, dan spesies yang sangat berlimpah). Tidak kurang dari 47 jenis ekosistem alam yang khas sampai jumlah spesies tumbuhan berbunga yang sudah diketahui, sebanyak 11 % atau sekitar 30.000 jenis dari seluruh tumbuhan berbunga di dunia. Sayangnya, banyak jenis tumbuhan tertentu, mengalami kepunahan. Sampai saat ini, Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) serta tiga cabangnya baru mengoleksi 20% total jenis tumbuhan yang ada di Indonesia (Asep kusrahman, 2012 dalam Narto, 2011)

Masyarakat Indonesia memiliki tradisi penggunaan obat-obat tradisional yang berasal dari alam sebagai alternative untuk menyembuhkan penyakit. Cara penyajiannya salah satunya dengan merebusnya atau meletakkan simplisia yang sudah ditumbuk halus pada bagian tubuh yang sakit. Perkembangan obat tradisional semakin meningkat seiring dengan slogan “*back to nature*” sehingga banyak yang tertarik untuk meneliti khasanah tumbuhan negeri ini.

Kurangnya informasi ilmiah mengenai komponen-komponen kimia yang terdapat dalam tanaman untuk obat tradisional ini mengakibatkan nilai ekonomi dari tanaman-tanaman ini sangat rendah. Selain itu penggunaannya yang biasanya menggunakan dosis tidak tepat bisa mengakibatkan efek yang tidak diinginkan.

Nusa Tenggara Barat (NTB) adalah salah satu propinsi di Indonesia yang berada pada bagian tengah kepulauan Nusa Tenggara dengan luas area total 20153,15 km. Kondisi geografis dan keadaan wilayah NTB yang masih banyak hutan dimungkinkan banyak ditemukan berbagai jenis tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, baik digunakan secara langsung maupun diolah terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai obat. Salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat adalah kadara (*caesaphiniabonduc*).

Kadara (*caesaphinia bonduc*) banyak terdapat di daerah pulau Sumbawa khususnya daerah Bima dan Dompu. Masyarakat secara tradisional menggunakan biji kadara untuk menyembuhkan malaria, kencing manis (*Diabetes melitus*), batu ginjal. Menurut pengalaman masyarakat pengobatan menggunakan biji buah kadara mempunyai efek penyembuhan yang baik. Masyarakat mengkonsumsi buah kadara (*caesaphinia bonduc*) dengan cara digoreng tanpa menggunakan minyak sampai gosong lalu dipecahkan untuk diambil bijinya kemudian dikonsumsi secara langsung.

Untuk membuktikan data-data empiris tersebut perlu dilakukan uji secara ilmiah untuk mengidentifikasi senyawa yang berfungsi sebagai

penyembuh beberapa penyakit tersebut, atas dasar itu peneliti ingin melakukan penelitian uji kualitatif dan uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak cangkang biji buah kadara (*caesaphinia bonduc*) yang terdapat didaerah Bima NTB.

*Staphylococcus aureus* merupakan suatu bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7 – 1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok – kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu (20 – 25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu – abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Fischetti dkk, 2000).

Golongan kuinolon yaitu *ciprofloxacin* bersifat bakterisidal dan bekerja dengan menghambat DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*). Spektrum aktivitas antibakteri golongan ini meliputi bakteri gram negatife: *Enterobacteriaceae*, *p. aeruginosa*, dan *streptococcus*. KHM (Kadar Hambat Minimum) untuk berbagai mikroba ini umumnya adalah 2 $\mu\text{g/ml}$ . Mikroba lain yang juga sensitive ialah *Staphlococcus*, *N. gonor rheoeae*, *H. influenza*, dan klamida (Staf Pengajar Departemen Farmakologi, 2009).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa golongan apa yang terkandung dalam ekstrak etanol cangkang biji buahkadara (*caesalpnia bonduc*) ?
2. Apakah pada ekstrak cangkang biji buah kadara dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol cangkang biji buah kadara.
2. untuk mengetahui ekstrak cangkang biji buah kadara memiliki potensi sebagai Penghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian yang dilakukan diharapkan dapat diambil manfaat sebagai berikut :

1. Memberikan informasi tentang senyawa senyawa aktif apa yang terkandung dalam cangkang biji buah kadara.

2. Secara Teoritis

Manfaat teoritis dari penelitian ini adalah untuk mencegah terjadinya resistensi terhadap antibiotik, sehingga masyarakat bisa memanfaatkan tanaman daun kadara sebagai anti bakteri.

3. Bagi Peneliti

Diharapkan dapat sebagai perwujudan tri dharma perguruan tinggi, yaitu pendidikan, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat.

### 1.5 Keaslian Penelitian

Berdasarkan penelitian kusrahman asepdkk pada tahun 2012 yang berjudul ISOLASI, KARAKTERISASI SENYAWA AKTIF DAN UJI FARMAKA EKSTRAK BIJI KEBIUL (*CAESALPHNIABONDUC*) PADA MENCIT (*Mus musculus*) SERTA PENERAPANNYA DALAM PEMBELAJARAN KIMIA DI SMAN 1 BENGKULU SELATAN dengan metode eksperimental. Ekstraks biji kebiul mengandung Alkaloid, Flavonoid,

Saponin, Steroid dan Triterpenoid.. Isolat fraksi etil asetat berwarna kuning kecoklatan, seperti minyak, mengandung gugus – OH dengan serapan  $3010,31 \text{ cm}^{-1}$ , gugus C–H alifatik yang muncul pada bilangan gelombang  $2927,34 \text{ cm}^{-1}$ , ada cicin aromatis yang ditunjukkan dengan serapan  $3010,31 \text{ cm}^{-1}$ .

Berdasarkan penelitian Uyatmi yesi, dkk pada tahun 2016 yang berjudul PEMATAHAN DORMANSI BENIH KEBIUL (*CAESALPHINIA BONDUC*) DENGAN BERBAGAI METODE. Biji kebiul banyak digunakan oleh masyarakat Bengkulu Selatan sebagai obat untuk pengobatan berbagai penyakit seperti malaria, sakit kepala, kencing manis, batu ginjal dan batu empedu. Benih kebiul ini memiliki kulit yang tebal dan keras sehingga sulit untuk berkecambah. Ada berbagai cara perlakuan pendahuluan yang dapat dilakukan yaitu skrafikasi dan stratifikasi. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016–Januari 2016). Perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini diantaranya perendaman dalam air dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 0 jam, 5 jam, 10 jam, dan 15 jam. Perendaman dalam air panas dengan suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 5 jam, 10 jam, dan 15 jam. Stratifikasi hangat dengan kelembapan udara (RH) 100% dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 5 hari, 10 hari, dan 15 hari. Variabel yang diamati dalam penelitian ini daya kecambah, kecepatan berkecambah, muncul epikotil, tinggi tanaman, dan panjang akar. Hasil penelitian memberikan pengaruh nyata terhadap variabel daya kecambah, kecepatan berkecambah, muncul epikotil, dan tinggi tanaman. Metode perlakuan kulit benih (PD 11) menunjukkan metode terbaik, semua variabel yang diuji yaitu daya kecambah 100%, kecepatan berkecambah 1.43, muncul

epikotil sebesar 10%, tinggi tanaman sebesar 13.64 cm dan panjang akar 6.16 cm.

Berdasarkan penelitian Yuska dkk 2018 yang berjudul FRAKSINASI DAN SKRINING FRAKSI BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* (L) ROXB) DENGAN METODE KLT (KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS) Pengobatan penyakit dengan menggunakan tanaman obat tradisional telah dikenal masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu. Sebagian masyarakat lebih menyukai pengobatan dengan tumbuhan obat dari pada obat sintetis. Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat oleh masyarakat seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antifungi. Penelitian ini dilakukan secara fraksinasi untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat didalam kandungan fraksi dengan menggunakan beberapa pelarut. Metode pembuatan ekstrak dengan maserasi dan diuapkan dengan rotari evaporator lalu dilakukan fraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut berdasarkan kepolarannya yaitu polar (aquadest), non polar (n-heksan) dan semipolar (etil asetat), lalu dilakukan uji organoleptis, rendemen, kemudian dilakukan skrining fitokimia serta uji penegasan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil skrining fitokimia yang didapatkan pada fraksinasi aquadest dan n-heksan mengandung senyawa flavonoid dan fraksinasi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Sedangkan hasil ujipenegasan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada fraksi aquadest, n-heksan dan etil asetat didapatkan hasil positif yaitu flavonoid.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

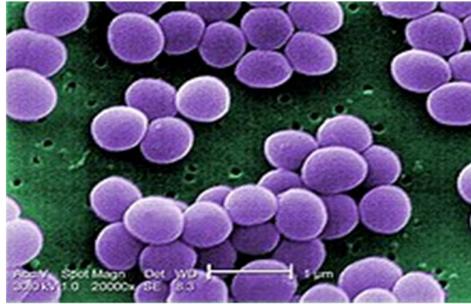
#### 2.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu mikroflora normal didalam rongga mulut. Bakteri ini bersifat pathogen yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit pada manusia, apabila dipengaruhi faktor predisposisi seperti perubahan kuantitas bakteri dan penurunan daya tahan tubuh *host* (Warbung dkk, 2011).

##### 2.1.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif. Apabila diamati dibawah mikroskop terlihat akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (Radji, 2011). Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Brooks dkk, 2005) :

Domain : Bacteria  
Kindom : Eubacteria  
Divisi : Firmicutes  
Class : Cocci  
Ordo : Bacillales  
Family : Staphylococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Brooks dkk, 2005).



Gambar 1. *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis (Radji, 2011)

Bakteri ini susunannya bergerombol dan tidak teratur seperti anggur. Koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning keemasan. Bakteri ini mudah tumbuh pada berbagai pembenihan pada media cair dan mempunyai metabolisme aktif, mampu memfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan bermacam – macam pigmen dari putih sampai kuning tua (Radji, 2011).

### 2.1.2 Morfologi dan Identifikasi dari *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan suatu bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7–1.2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20 – 25 °C). Koloni pada pembenihan padat berwarna abu – abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Fischetti dkk, 2000).

Salah satu ciri khas yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah

furunkel pada kulit dan impetigo pada anak – anak. *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai bakteri yang paling sering mengkontaminasi luka pasca bedah sehingga menimbulkan komplikasi dan bila terjadi bakteremia, infeksi dapat bermestastatis ke berbagai organ (Deleo dkk, 2009).

Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus* merupakan hasil intraksi berbagai protein permukaan bakteri dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang. Penentuan faktor virulen yang paling berperan sulit dilakukan karena demikian banyak dan beragam faktor virulen yang dimiliki *Staphylococcus aureus* (Deleo dkk, 2009).

### 2.1.3 Faktor Virulensi *Staphylococcus aureus*

Menurut (Jawetz dkk, 2007), menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berbiak dan melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin. Zat– zat tersebut adalah :

1. Eksotoksin, yaitu eksotoksin C yang dihasilkan *Staphylococcus aureus* seringkali dihubungkan dengan sindrom syok toksik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisystem organ dalam tubuh.
2. Lekosidin, yaitu suatu zat yang dapat larut dan mematikan sel darah putih dari berbagai spesies binatang yang berkontak. Lekosidin antigen tetapi tidak tahan panas dari pada eksotoksin.
3. Enterotoksin, merupakan suatu zat dapat larut yang dihasilkan oleh strain–strain tertentu *Staphylococcus* diantaranya *Staphylococcus*

*aureus*. Enterotoksin adalah suatu protein dengan berat molekul  $3,5 \times 10^4$ , yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit atau enzim – enzim usus dan termasuk salah satu dari enam tipe antigen. Sebagai penyebab keracunan makanan, enterotoksin dihasilkan bila *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan karbohidrat dan protein.

4. Koagulase dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*, yaitu suatu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis.
5. Katalase, yaitu enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus*.
6. Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin *Staphylococcus aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin dan delta hemolisin.
7. Zat-zat ekstraseluler lain, misalnya faktor penyebar, stafilokinase yang mengakibatkan fibrinolisa tetapi bekerja jauh lebih lambat daripada streptokinase proteinase, lipase dan  $\beta$ -laktamase; toksin eksofoliatif yang menyebabkan sindroma *scalded skin* di bawah pengaruh plasmid dan suatu toksin yang bertanggung jawab untuk sindrom syok toksik yang paling sering diemukan pada wanita yang menggunakan tampon pada saat haid.

#### 2.1.4 Mekanisme infeksi dari *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz dkk.(2007), mekanisme infeksi dari *Staphylococcus aureus* yaitu:

a. Perlekatan pada protein sel inang

Struktur sel *Staphylococcus aureus* memiliki protein permukaan yang membantu penempelan bakteri pada sel inang. Protein ini adalah laminin dan fibronektin yang membentuk matriks ekstraseluler pada permukaan epitel dan endotel. Selain itu, beberapa galur mempunyai ikatan protein fibrin atau fibrinogen yang mampu meningkatkan penempelan bakteri pada darah dan jaringan.

b. Invasi

Invasi *Staphylococcus aureus* terhadap jaringan inang melibatkan sejumlah besar kelompok protein ekstraseluler. Beberapa protein yang berperan penting dalam proses invasi *Staphylococcus aureus* adalah  $\alpha$ -toksin,  $\beta$ -toksin,  $\gamma$ -toksin,  $\delta$ -toksin, leukosidin, koagulase, stafilokinase, dan beberapa enzim seperti protease, lipase, DNAse, dan enzim pemodifikasi asam lemak.

c. Perlawanan terhadap ketahanan inang

*Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan mempertahankan diri terhadap mekanisme pertahanan inang. Beberapa faktor pertahanan diri yang dimiliki *Staphylococcus aureus* adalah sampai polisakarida, protein A, dan leukosidin.

d. Pelepasan beberapa jenis toksin

Pelepasan beberapa jenis toksin dari *Staphylococcus aureus* diantaranya adalah eksotoksin, superantigen, dan toksin eksfoliatin.

## 2.2 Tanaman Kadara (*caesalpinia bonduc*)

Tanaman kadara(*caesalpinia bonduc*) hidup di hutan yang lembab dengan tanah basah, terlindung oleh tanaman besar sehingga sinar matahari agak terhalang. Tekstur tanah lembut seperti tanah liat, tanaman ini banyak ditemukan diperbatasan hutan lindung dengan hutan tanaman rakyat daerah perkebunan tradisional penduduk di sekitar hutan(Asep kusrahman, 2012)

### 2.2.1 Taksonomi Tumbuhan kadara (*caesalpinia bonduc*)



Gambar 2. Tanaman kadara (Asep kusrahman, 2012)

Klasifikasi botani tanaman kadara (*caesalpinia bonduc*) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: <i>Caesalpinaceae</i>
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Spesies	: <i>Caesalpiniae Bonduc(L) Roxb</i>
Sumber	: (Asepkusrahman, 2012).

## 2.2.2 Morfologi Tanaman Kadara

### 1. Daun

Berbentuk oval, ujung tumpul pada tanaman muda dan ujung runcing pada tanaman tua, posisi daun sejajar memiliki tangkai daun, pertulangan daun.



Gambar 3. Bentuk daun Tanaman Kadara (Asep kusrahman, 2012)

### 2. Batang

Batang menjalar sepanjang batang dipenuhi dengan duri, warna kulit batang muda hijau sedang batang yang sudah tua berwarna coklat, merambat pada batang lain, panjangnya dapat mencapai puluhan meter.



Gambar 4. Batang kadara (Asep kusrahman, 2012)

### 3. Buah Kadara

Buah muda berwarna hijau dan jika tua berwarna coklat tua, buah dipenuhi dengan duri yang tajam. Dalam tiap buah terdapat 4 – 6 biji. Daging biji buah kadara berbentuk bulat, biji kadara muda berwarna hijau dengan kulit biji yang lunak sedangkan biji kadara tua memiliki berwarna abu-abu dan kulit biji yang sangat keras.



Gambar 5. Bentuk buah kadara (Asep kusrahman, 2012)

Daging biji kadara terasa pahit dan kelat. Pada saat biji telah matang maka kelopak akan pecah dan biji-biji akan terhambur keluar cukup jauh dari icangkangnya.

#### 2.2.3 Habitat Alami Tanaman kadara

(Asep kusrahman, 2012) Tanaman kadara (*caesalpinia bonduca*) hidup di hutan yang lembab dengan tanah basah, terlindung oleh tanaman besar sehingga sinar matahari agak terhalang. Tekstur tanah lembut seperti tanah liat, tanaman ini banyak ditemukan diperbatasan hutan lindung dengan hutan tanaman rakyat (daerah perkebunan tradisional penduduk di sekitar hutan).

### 2.3 Kegunaan Biji Kadara di Masyarakat

Masyarakat suku Mbojo di Kabupaten Bima dan Dompu telah lama menggunakan biji buah kadara untuk mengobati berbagai penyakit. Proses penggunaan biji kadara sebagai obat yaitu dengan di goreng tanpa menggunakan minyak dengan wajan tanah sampai gosong untuk mengambil daging bijinya kemudian dikonsumsi untuk obat.

Beberapa penyakit yang dapat diobati dengan serbuk biji kadara antara lain :

1. Penyakit malaria (menggigil)
2. Penyakit kencing manis (diabetes melitus)
3. Darah tinggi (hipertensi)
4. Kencing batu (sakit pinggang)

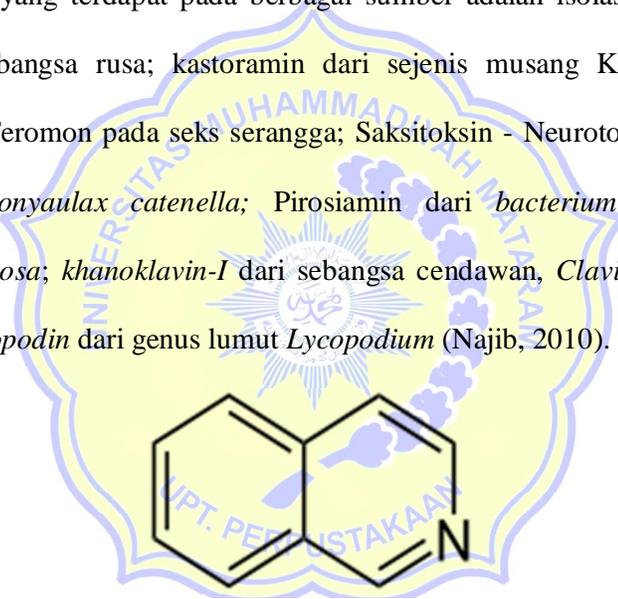
### 2.4 Metabolit sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan biokatifitas dan digunakan sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan tersebut atau lingkungan. Senyawa metabolit sekunder digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan, dan obat tradisional pada kehidupan sehari-hari (Meta,2011).

1. Senyawa alkaloid

Alkaloid adalah suatu senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen, biasanya bersifat basa dan sebagian

besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. (Lenny. 2006). Sebagian besar sumber alkaloid adalah pada tanaman berbunga, angiospermae (*Familia Leguminosae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Berberidaceae*) dan juga pada tumbuhan monokotil (*Familia Solanaceae dan Liliaceae*). Pada tahun-tahun berikutnya penemuan sejumlah besar alkaloid terdapat pada hewan, serangga, organisme laut, mikroorganisme dan tanaman rendah. Beberapa contoh yang terdapat pada berbagai sumber adalah isolasi muskopiridin dari sebangsa rusa; kastoramin dari sejenis musang Kanada; turunan Pirrol-Feromon pada seks serangga; Saksitoksin - Neurotoksik konstituen dari *Gonyaulax catenella*; Pirodiamin dari *bacterium Pseudomonas aeruginosa*; *khanoklavin-I* dari sebangsa cendawan, *Claviceps purpurea*; dan *likopodin* dari genus lumut *Lycopodium* (Najib, 2010).



Struktur alkaloid (Juliantina 2008)

Di dalam tanaman yang mengandung alkaloid, alkaloid mungkin terkonsentrasi pada jumlah yang tinggi pada bagian tanaman tertentu. Sebagai contoh reserpin terkonsentrasi pada akar (hingga dapat diisolasi) *Rauvolfia sp*; Quinin terdapat dalam kulit, tidak pada daun *Cinchona ledgeriana*; dan morfin terdapat pada getah atau latex *Papaver somniferum*. Pada bagian tanaman tertentu tidak mengandung alkaloid tetapi bagian

tanaman yang lain sangat kaya alkaloid. Namun ini tidak berarti bahwa alkaloid yang dibentuk dibagian tanaman tersebut. Sebagai contoh dalam species *Datura* dan *Nicotiana* dihasilkan dalam akar tetapi ditranslokasi cepat ke daun, selain itu alkaloid juga terdapat dalam biji (*Nux vomica*, *Areca catechu*), buah (*Piperis nigri*), daun (*Atropa belladonna*), akar dan rhizoma (*Atropa belladonna* dan *Euphorbia ipecacuanhae*) dan pada kulit batang (*Cinchona succirubra*). Fungsi alkaloid ini bermacam-macam diantaranya sebagai racun untuk melindungi tanaman dari serangga dan binatang. Sebagai hasil akhir dari reaksi detoksifikasi yang merupakan hasil metabolit akhir dari komponen yang membahayakan bagi tanaman, sebagai faktor pertumbuhan tanaman dan cadangan makanan. (Nadjib, 2010).

Sifat-Sifat Kimia, Beberapa sifat dari alkaloid yaitu :

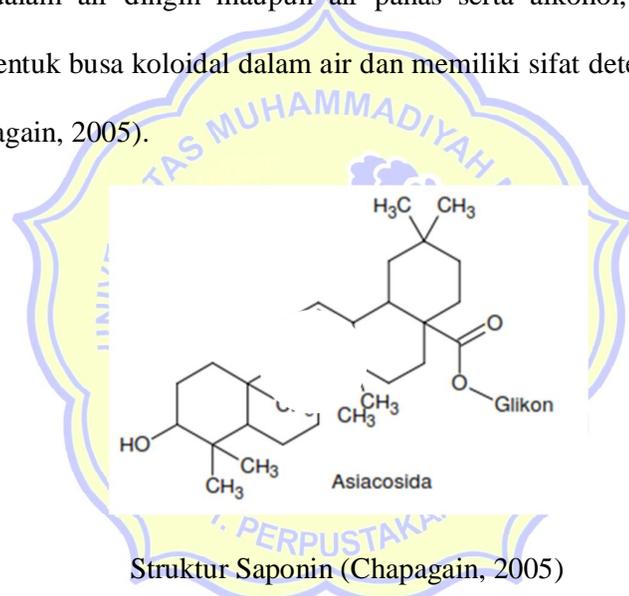
- 1) Mengandung atom nitrogen yang umumnya berasal dari asam amino.
- 2) Umumnya berupa kristal atau serbuk amorf.
- 3) Alkaloid yang berbentuk cair yaitu koinin, nikotin dan spartein.
- 4) Dalam tumbuhan berada dalam bentuk bebas, dalam bentuk N-oksida atau dalam bentuk garamnya.
- 5) Umumnya mempunyai rasa yang pahit.
- 6) Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air tetapi larut dalam kloroform, eter dan pelarut organik lainnya yang bersifat relatif nonpolar.
- 7) Alkaloid dalam bentuk garamnya mudah larut dalam air.

- 8) Alkaloid bebas bersifat basa karena adanya pasangan elektron bebas pada atomN-nya.
- 9) Alkaloid dapat membentuk endapan dengan bentuk iodida dari Hg, Au dan logam berat lainnya (dasar untuk identifikasi alkaloid) (Nadjib, 2010).

Kebanyakan alkaloid bersifat basa, sifat tersebut tergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron, sebagai contoh; gugus alkil, maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa. Senyawa trietilamin lebih basa dari pada dietilamin dan senyawa dietilamin lebih basa dari pada etilamin. Sebaliknya, bila gugus fungsional yang berdekatan bersifat menarik elektron (contoh; gugus karbonil), maka ketersediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan adalah alkaloid dapat bersifat netral atau bahkan sedikit asam. Contoh ; senyawa yang mengandung gugus amida. Kebiasaan alkaloid menyebabkan senyawa tersebut sangat mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen, hasil dari reaksi ini sering berupa N-oksida. Dekomposisi alkaloid selama atau setelah isolasi dapat menimbulkan berbagai persoalan jika anorganik (asam hidroklorida atau sulfat) sering mencegah dekomposisi. Itulah sebabnya dalam perdagangan alkaloid lazim berada dalam bentuk garamnya.

## 2. Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta memiliki bau menyengat. Saponin memiliki rasa mulai dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa non volatile dan sangat larut dalam air dingin maupun air panas serta alkohol, namun dapat membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Chapagain, 2005).



Struktur Saponin (Chapagain, 2005)

Saponin merupakan senyawa amphifilik dimana gugus gula (heksosa) pada saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam alkohol absolute, kloroform, eter, dan pelarut organik non polar lainnya. Sedangkan gugus sapogenin (steroid) pada saponin dapat larut dalam lemak dan membentuk emulsi dengan minyak dan resin (Lindeboom, 2005).

a. Sifat senyawa saponin ( Dlimartha, 2003)

- 1) Dapat menghemolisis darah sehingga berbahaya apabila disuntikan dalam aliran darah dalam tubuh karena saponin mampu berinteraksi dengan ikatan sterol membrane sel darah merah dengan membebaskan hemoglobin dari sel darah merah yang akan meningkatkan permeabilitas membrane plasma sehingga merusak sel-sel darah merah
- 2) Beracun bagi binatang berdarah dingin tetapi tidak beracun bagi manusia karena tidak diabsorpsi dari saluran pencernaan. Daya racun saponin akan hilang dengan sendirinya dalam waktu 2-3 hari dalam air dan akan berkurang daya racunya jika digunakan pada larutan berkadar garam rendah
- 3) Tahan terhadap pemanasan

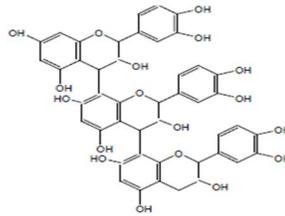
b. Golongan senyawa

Saponin merupakan metabolit sekunder dan termasuk golongan senyawa glikosida triterpenoid yang terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Triterpenoid merupakan tipe terpena yang terdiri dari 30 atom karbon. Triterpen merupakan kumpulan dari 5 unit karbon isoprene yang melalui jalur sitosol mevolonat untuk membentuk 30 atom karbon. Beberapa triterpen merupakan steroid dalam. Beberapa triterpenoid ditemukan sebagai saponin glikosida yang mengarah pada variasi molekul gula menjadi unit triterpen. Gula-gula tersebut dapat dipecah oleh bakteri

didalam usus. Beberapa diantaranya mengikuti aglikon (triterpen) untuk diserap kealiran darah dan masuk ke membran sel. Sifat-sifat triterpen yaitu tidak berwarna, berbentuk Kristal, titik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif

### 3. Tannin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam *angiospermae* terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kepolimer mantap yang tidak larut dalam air. Di dalam tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma. Pada kenyataannya, sebagian besar tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Kita menganggap salah satu fungsi utama tanin dalam tumbuhan ialah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin terkondensasi hampir terdapat semesta di dalam paku-pakuan dan gimnosperae, serta tersebar luas dalam *angiospermae*, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sebaliknya, tanin yang terhidrolisiskan penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Senyawa tanin tidak larut dalam pelarut non polar, seperti eter, klorofom, dan benzena tetapi larut dalam air, dioksan, aseton, dan alkohol serta sedikit larut dalam etil asetat (Harbrone, 1987)



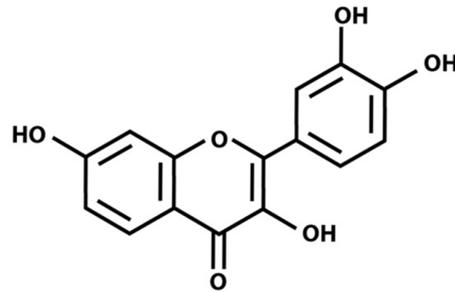
Struktur Tannin (Harborne,1987)

Nama lain untuk tanin terkondensasi adalah protoantosianidin karena bila direaksikan dengan asam panas beberapa ikatan karbon- karbon pegasus satuan terputus dan dibebaskanlah monomer antosianidin (Harbrone, 1987).

Identifikasi senyawa tanin dapat menggunakan larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % dan larutan gelatin. Larutan  $\text{FeCl}_3$  ditunjukkan dengan timbulnya warna biru tua atau hijau kehitaman sedangkan larutan gelatin ditunjukkan dengan adanya endapan putih. Hal tersebut menunjukkan adanya senyawa tanin (Harbrone, 1987).

#### 4. Terpenoid

Terpenoid (atau isoprenoid-nya), sebuah subclass dari prenylipids (terpene, prenylquinones, dan sterol), terpenoid mewakili kelompok tertua produk molekul kecil disintesis oleh tanaman dan merupakan produk alami yang paling banyak. Terpenoid merupakan hasil modifikasi dari terpen, dimana gugus-gugus metil diganti dengan atom oksigen atau dihilangkan. Beberapa ahli menggunakan istilah terpen yang mencakup pengertian lebih luas dari terpenoid (Leray;2011).



Struktur terpenoid (Jack, 2013)

Senyawa terpen telah lama dikenal, berhubungan dengan minyak-minyak essential yang termasuk dalam minyak esensial, resin, steroid dan karet. Terpen adalah hidrokarbon yang biasanya mengandung satu atau lebih C=C ikatan rangkap, sedangkan terpenoid adalah turunan terpen yang mengandung oksigen. Pada umumnya, terpen banyak digunakan untuk berbagai kepentingan praktis, khususnya dalam industri aroma dan rasa, serta dalam industri farmasi dan kimia (Leray;2011).

Terpen dan terpenoid banyak terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang mengandung banyak klorofil, merupakan hasil metabolit sekunder. Unit terpen yang paling sederhana adalah terdiri dari 5 atom karbon yang disebut isoprena. Terpen mengalami modifikasi sehingga membentuk derivat-derivatnya, variasi terpen ini disebabkan karena faktor-faktor ekologi yang memainkan peran yang menyebabkan terjadinya evolusi (Querison;1990). Terpen yang mempunyai lebih dari 25 atom karbon tersusun secara teratur dengan susunan kepala-ekor. Terpen yang mengandung 30 atom karbon atau lebih biasanya dibentuk oleh fusi dari dua lebih terpen prekursor seperti yang kepala-ke-ekor "aturan" tampaknya dilanggar. Terpen dapat didefinisikan sebagai kelompok

dengan struktur molekul mempunyai struktur dasar isopren (metilbuta-1,3 diena yang disebut hemipren yang memiliki 5 atom karbon).

a. Klasifikasi terpenoid

Klasifikasi terpenoid ditentukan dari unit isopren atau unit C- 5 penyusun senyawa tersebut. Secara umum biosintesa dari terpenoid dengan terjadinya 3 reaksi dasar (Lenny; 2006,) yaitu:

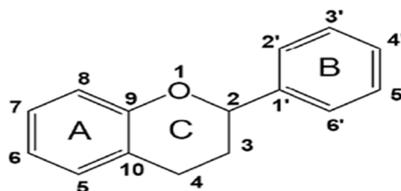
- 1) Pembentukan isopren aktif berasal dari asam asetat melalui asam mevalonat.
- 2) Penggabungan kepala dan ekor dua unit isopren akan membentuk mono-, seskui-, di-, sester- dan poli-terpenoid.
- 3) penggabungan dan ekor dari unit C-15 atau C-20 menghasilkan triterpenoid dan steroid.

Mekanisme dari tahap-tahap reaksi biosintesa terpenoid adalah asam asetat setelah diaktifkan oleh koenzim A melakukan kondensasi jenis Claisen menghasilkan asam asetoasetat. Senyawa yang dihasilkan ini dengan asetil koenzim A melakukan kondensasi jenis aldol menghasilkan rantai karbon bercabang sebagaimana ditemukan pada asam mevalinat. reaksi-reaksi berikutnya adalah fosforilasi, eliminasi asam fosfat dan dekarboksilasi menghasilkan Isopentenil pirofosfat (IPP) yang selanjutnya berisomerisasi menjadi Dimetil alil pirofosfat (DMAPP) oleh enzim isomerase. IPP sebagai unit isopren aktif bergabung secara kepala ke ekor dengan DMAPP dan penggabungan ini merupakan langkah pertama dari polimerisasi isopren untuk

menghasilkan terpenoid. Penggabungan ini terjadi karena serangan elektron dari ikatan rangkap IPP terhadap atom karbon dari DMAPP yang kekurangan elektron diikuti oleh penyingkiran ion pirofosfat yang menghasilkan Geranil pirofosfat (GPP) yaitu senyawa antara bagi semua senyawa monoterpenoid. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama menghasilkan Farnesil pirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa antara bagi semua senyawa seskuiterpenoid, senyawa diterpenoid diturunkan dari Geranil-Geranil Pirofosfat (GGPP) yang berasal dari kondensasi antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama.

#### 5. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak terdapat di alam. Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak merupakan sebagai pigmen tumbuhan. Flavonoid terdapat pada grup-grup dari unsur-unsur polifenol yang terdapat pada kebanyakan tumbuhan, biji, kulit buah atau kulit kayu, dan bunga. Sejumlah besar tumbuhan obat mengandung flavonoid. Flavonoid digolongkan berdasarkan struktur kimianya, menjadi flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, anthocyanidin, dan khalkon. (Budiman; 2010).



Struktur flavonoid (Robinson, 1995).

Flavonoid terutama senyawa yang mudah larut dalam air dan di ekstraksi dengan etanol 70 %. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi mudah dideteksi pada kromatografi atau dalam larutan (Harborne, 1987: 70 )

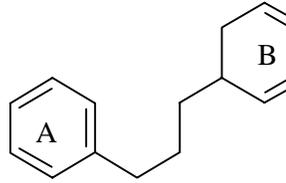
Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon, serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

#### a. Klasifikasi flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yengan terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning dalam tumbuh-tumbuhan.

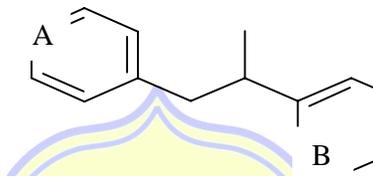
Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 16 atom karbon, dimana dua inti benzena (C6) terikat pada rantai propana (C3) sehingga mempunyai susunan C6 – C3 – C6. Susunan seperti ini menghasilkan tiga jenis struktur Flavonoid (Lenny ; 2006) yaitu :

## 1) Flavonoid atau 1,3-diarilpropana



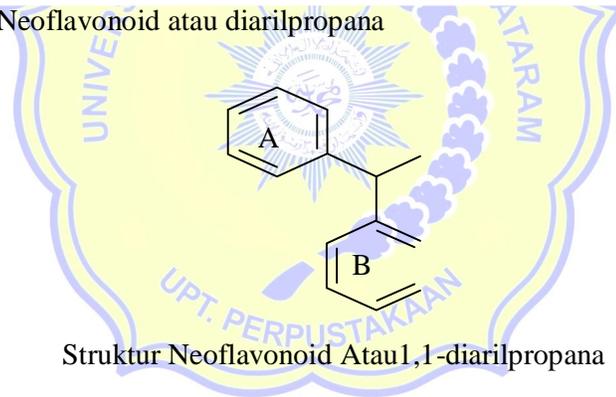
Struktur Flavonoid Atau 1,3-diarilpropana

## 2) Isoflavonoid atau 1,2 diartilpropana



Struktur Isoflavonoid Atau 1,2diartilpropana

## 3) Neoflavonoid atau diartilpropana



Struktur Neoflavonoid Atau 1,1-diarilpropana

## 2.5 Ekstrak Dan Ekstraksi

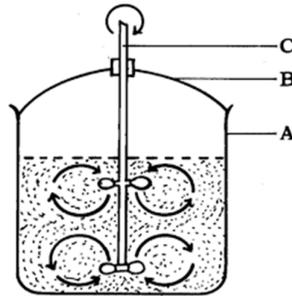
Ekstrak adalah sediaan kental yang di peroleh dengan mengekstrasi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut di uapkan dan massa atau serbuk yang tersisa di perlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah di tetapkan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan senyawa dari tumbuh-tumbuhan, hewan-hewan. Pada proses ekstraksi dapat digunakan sampel dalam keadaan segar atau yang telah dikeringkan tergantung pada sifat tumbuhan yang ingin di isolasi. Metode ekstraksi dibagi menjadi 3 cara yaitu: ekstraksi dengan menggunakan pelarut cara dingin, destilasi uap dan cara ekstrak lainnya meliputi ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonic serta ekstraksi energy listrik (Depkses RI, 2011)

### 2.5.1 Ekstraksi Dengan Menggunakan Pelarut Cara Dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi prinsip metode dengan pencapaian dilakukan pengadukan kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah di lakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Dalam proses maserasi (untuk ekstrak cairan), serbuk halus atau kasar dari tumbuhan obat yang kontak dengan pelarut yang disimpan dalam wadah tertutup yang kemudian dilakukan pengadukan pada periode waktu tertentu, sampai zat tertentu dapat terlarut. Metode ini paling cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Susanti, 2016)



Gambar 6. Alatmaserasi (Emi hartati, 2016)

Keterangan :

A : Bejana untuk maserasi berisi bahan yang sedang dimaserasi.

B: Tutup

C: Pengaduk yang digerakkan secara mekanik.

Prinsip kerja

Pelarut akan menembus kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan yang diluar sel, maka senyawa kimia yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesinambungan konsentrasi antara larutan didalam sel dan larutan diluar sel. Kecuali dinyatakan lain, dilakukan dengan merendam 10 bagian simplisia atau serbuk dengan derajat kehalusan tertentu, dimasukan kedalam bejana tambahkan pelarut sebanyak 70 bagian sebagai penyari, tutup dan biarkan 3-5 hari pada tempat yang terlindung cahaya. Diaduk berulang-ulang serta diperas, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga mendapatkan maserasi sebanyak 100 bagian, pindahkan kedalam bejana tertutup dan biarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2hari (Susanti, 2016).

### Prosedur Kerja

- 1) 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan kedalam bejana, lalu dituangi 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk.
- 2) Setelah 5 hari, sari diserakai, ampas diperas
- 3) Ampas ditambah cairan penyari secukupnya, diaduk dan diserakai, sampai diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian
- 4) Setelah itu, sari dipekatkan dengan cara diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 50°C hingga konsentrasi yang dikehendaki.

### Kelemahan dari metode maserasi adalah :

- 1) Proses penyarian tidak sempurna, karena zat aktifnya hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja.
- 2) Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari.
- 3) Penyariannya kurang sempurna (dapat terjadi kejenuhan cairan penyari sehingga kandungan kimia yang tersari terbatas).

### Kelebihan metode maserasi adalah :

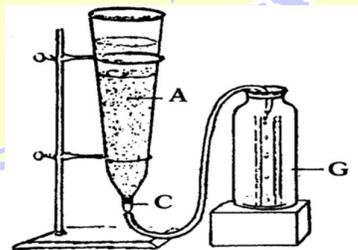
- 1) Alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam.
- 2) Biaya operasionalnya relatif rendah.
- 3) Prosesnya relatif hemat penyari.
- 4) Tanpa pemanasan.

Kelemahan dari metode maserasi adalah :

- 1) Proses penyarian tidak sempurna, karena zat aktifnya hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja.
- 2) Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari.
- 3) Penyariannya kurang sempurna (dapat terjadi kejenuhan cairan penyari sehingga kandungan kimia yang tersari terbatas).

## 2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak). Terus menerus sampai di peroleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000)



Gambar 7. Alat perkolasi (Emi hartati, 2016)

Keterangan :

A : Perkolator

C: Keran

G: Botol perkolat

### Prinsip

- 1) Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori.
- 2) Cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.
- 3) Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi oleh daya kapiler yang cenderung untuk menahan.

### Prosedur Kerja

Menurut Farmakope Indonesia, penyarian dengan metode perkolasi dilakukan sebagai berikut :

- 1) Membasahi 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari Dimasukkan kedalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam
- 2) Kemudian massa dipindahkan sedikit-demi sedikit kedalam perkolator sambil tiap kali ditekan-tekan hati-hati
- 3) Setelah itu, dituangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan penyari mulai menetes dan diatas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari.
- 4) Perkolator ditutup dan biarkan selama 24 jam
- 5) Selanjutnya, cairan dibiarkan menetes dengan kecepatan 1ml/menit

- 6) Tambahkan cairan penyari berulang-ulang secukupnya, hingga selalu terdapat selapis cairan penyari diatas simplisia, hingga jika 500 mg perkolat yang keluar terakhir diuapkan, tidak meninggalkan sisa.
- 7) Perkolat kemudian disuling atau diuapkan dengan tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga konsistensi yang dikehendaki.

Kelemahan metode

- 1) Cairan penyari lebih banyak.
- 2) Resiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka.

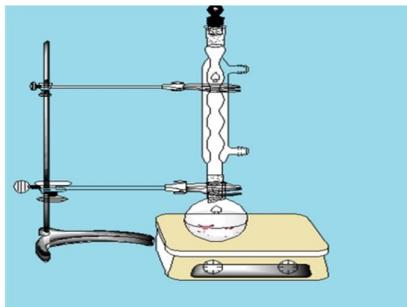
Kelebihan metode

- 1) Tidak terjadi kejenuhan
- 2) Pengaliran meningkatkan difusi (dengan dialiri cairan penyari sehingga zat seperti terdorong untuk keluar dari sel).

## 2.5.2 Ekstraksi Dengan Menggunakan Pelarut Cara Panas

### 1. Refluk

Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan (Emi hartati, 2016).



Gambar 8. Alatrefluk (Emi hartati, 2016)

### Prinsip kerja

Pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N<sub>2</sub> diberikan agar tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama pada senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya reaktif.

### Prosedur kerja

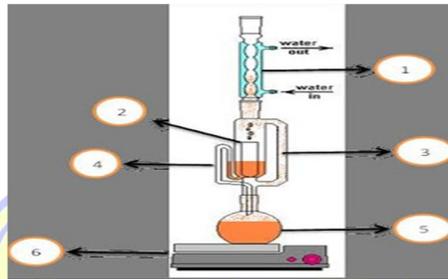
Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan.

### Kelemahan dan kelebihan

- 1) Kelemahannya yaitu butuh volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi operator.
- 2) Kelebihannya yaitu digunakan untuk mengekstraksi sampel yang memiliki tekstur kasar.

## 2. Soxhlet

Soxhletasi adalah proses untuk menghasilkan ekstrak cair yang dilanjutkan dengan proses penguapan. Pada cara ini pelarut dan simplisia ditempatkan secara terpisah. Soxhletasi digunakan untuk simplisia dengan khasiat yang relatif stabil dan tahan terhadap pemanasan (Emi hartati 2016).



Gambar 9. Alatsoklet (Emi hartati, 2016)

Keterangan :

- 1) Kondenser berfungsi sebagai pendingin, dan juga untuk mempercepat proses pengembunan.
- 2) Timbal berfungsi sebagai wadah untuk sampel yang ingin diambil.
- 3) Pipa F berfungsi sebagai jalannya uap, bagi pelarut yang menguap dari proses penguapan.
- 4) Sifon berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila pada sifon larutannya penuh kemudian jatuh kelabu alas bulat maka hal ini dinamakan satu siklus. Labu alas bulat berfungsi sebagai wadah sampel dan pelarutnya.
- 5) Labu dasar bulat penampung larutan Hot plate berfungsi sebagai pemanas larutan.

### Prinsip kerja

Penyarian secara terus-menerus sehingga penyarian lebih sempurna dengan memakai pelarut yang relatif sedikit. Jika penyarian telah selesai maka pelarutnya diuapkan dan sisanya adalah zat yang tersari. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah.

### Prosedur kerja

- 1) Serbuk kering yang akan diekstraksi, diletakkan dalam kantong sampel yang terletak pada alat ekstraksi (tabung sokhlet).
- 2) sokhlet yang berisi kantong sampel diletakkan diantara labu destilasi dan pendingin, disebelah bawah dipasang pemanas.
- 3) Pelarut ditambahkan melalui bagian atas alat sokhlet
- 4) Pemanas dihidupkan. Pelarut dalam labu didih menguap dan mencapai pendingin, berkondensasi dan menetes ke atas kantong sampel sampai mencapai tinggi tertentu / maksimal (sama tinggi dengan pipa kapiler)
- 5) Pelarut beserta zat yang tersari didalamnya akan turun ke labu didih melalui pipa kapiler
- 6) Pelarut beserta zat tersari pada labu didih akan menguap lagi dan peristiwa ini akan terjadi berulang-ulang sampai seluruh zat yang ada dalam sampel tersari sempurna (ditandai dengan pelarut yang
- 7) melewati pipa kapiler tidak berwarna dan dapat diperiksa dengan pereaksi yang cocok.

#### Kelemahan metode

- 1) Waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama, sehingga kebutuhan energinya tinggi, dan bahan terekstraksi yang terakumulasi dalam labu mengalami beban panas dalam waktu yang cukup lama.
- 2) Pemanasan berlebih terhadap kandungan kimia dalam serbuk, sehingga tidak cocok untuk zat kimia yang termolabil.
- 3) Jumlah bahan terbatas (30-50 gram).
- 4) Tidak bisa dengan penyari air (harus solvent organik), sebab titik didih air 100°C harus dengan pemanasan tinggi untuk menguapkannya.
- 5) Memerlukan energi listrik.

#### Kelebihan metode

- 1) Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat
- 2) Serbuk simplisia disari oleh penyari yang murni sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak. Penyari dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari.

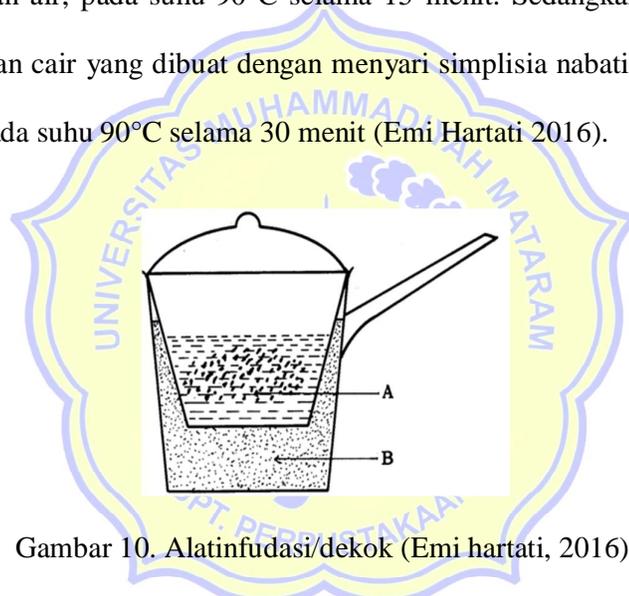
Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontiniu) pada temperatur yang lebih tinggi dari suhu kamar. Secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Emi hartati, 2016).

#### Keuntungan dari pemanasan

- 1) Kekentalan pelarut berkurang, sehingga dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan2 batas.

- 2) Daya melarutkan cairan penyari akan meningkat.
  - 3) Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan.
3. Infudasi / Dekok

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air, pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Sedangkan dekok adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati dengan pelarut air pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit (Emi Hartati 2016).



Gambar 10. Alatinfudasi/dekok (Emi hartati, 2016)

Keterangan :

A : Panci berisi bahan dan air

B : Tangas air

Prinsip kerja

Untuk melakukan proses infusa, maka kita harus mempersiapkan unit panci yang terdiri dari 2 buah panci yang saling bisa ditumpuk (panci-tim)

Panci yang diatas digunakan untuk menaruh bahan yang akan diekstraksi (tentu bersama pelarutnya, yaitu air, masing-masing dengan takaran tertentu), sementara panci bawah diisi air, maksudnya digunakan sebagai pemanas panci atas, sehingga panas yang diterima panci atas tidak langsung berhubungan.

Prosedur kerja

- 1) Membasahi baku / simplisia dengan air ekstra, biasanya dengan air 2x bobot bahan, untuk bunga 4x bobot bahan dan untuk karagen 10x bobot bahan.
- 2) Dipanaskan bahan dalam aquadest (10x bobot bahan + air ekstra) selama 15 menit pada suhu 90°C sampai 98°C.

Kelemahan dari metode Sari yang dihasilkan tidak stabil dan mudah tercemar oleh bakteri dankapang.

Kelebihan dari metode

- 1) Peralatan sederhana, mudah dipakai.
- 2) Biaya murah.
- 3) Dapat menyari simplisia dengan pelarut air dalam waktu singkat.

## 2.6 Uji Kualitatif

Analisa kualitatif merupakan suatu pemeriksaan atau analisis kimia yang bertujuan untuk menyelidiki unsur-unsur ataupun ion-ion yang terdapat dalam suatu zat atau campuran persenyawaan yang bertujuan untuk analisa. Analisa kualitatif mengaju pada pangkal untuk memisahkan dan menguji adanya ion

dalam larutan. Analisa kualitatif dilakukan karena adanya jenis ion yang ada dalam suatu campuran (Achmadi, 1987).

Untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia dalam suatu simplisia maka diperlukan uji indentifikasi, analisa kualitatif terhadap senyawa hasil metabolit sekunder (Alkaloid, Saponin, Terpenoid/Steroid, Flavonoid dan Tannin) sebagai berikut :

### 5.2.1 Uji terhadap Alkaloid

Dua metode yang paling banyak digunakan untuk menyeleksi tanaman yang mengandung alkaloid yaitu :

1. *Prosedur Wall*, meliputi ekstraksi sekitar 20 gram bahan tanaman kering yang direfluks dengan 80% etanol. Setelah dingin dan disaring, residu dicuci dengan 80% etanol dan kumpulan filtrat diuapkan. Residu yang tertinggal dilarutkan dalam air, disaring, diasamkan dengan asam klorida 1% dan alkaloid diendapkan baik dengan pereaksi Mayer atau dengan Siklotungstat. Bila hasil tes positif, maka konfirmasi tes dilakukan dengan cara larutan yang bersifat asam dibasakan, alkaloid diekstrak kembali ke dalam larutan asam. Jika larutan asam ini menghasilkan endapan dengan pereaksi tersebut di atas, ini berarti tanaman mengandung alkaloid. Fasa basa berair juga harus diteliti untuk menentukan adanya alkaloid quartener (Asep kusrahman, 2012)
2. *Prosedur Kiang-Douglas* agak berbeda terhadap garam alkaloid yang terdapat dalam tanaman (lazimnya sitrat, tartrat atau laktat). Bahan tanaman kering pertama-tama diubah menjadi basa bebas dengan larutan

encer amonia. Hasil yang diperoleh kemudian diekstrak dengan kloroform, ekstrak dipekatkan dan alkaloid diubah menjadi hidrokloridanya dengan cara menambahkan asam klorida 2N. Filtrat larutan berair kemudian diuji terhadap alkaloidnya dengan menambah pereaksi Mayer, Dragendorff atau Baughardat. Perkiraan kandungan alkaloid yang potensial dapat diperoleh dengan menggunakan larutan encer standar alkaloid khusus seperti brusin (AsepKusrahman, 2012).

Pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida dan pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan merkuri klorida dalam nitrit berair. Pereaksi Bouchardat mirip dengan pereaksi Wagner dan mengandung kalium iodida dan iod. Pereaksi asam silikotungstat mengandung kompleks silikon dioksida dan tungsten trioksida. Berbagai pereaksi tersebut menunjukkan perbedaan yang besar dalam hal sensitivitas terhadap gugus alkaloid yang berbeda. Ditilik dari popularitasnya, formulasi Mayer kurang sensitif dibandingkan pereaksi Wagner atau Dragendorff (AsepKusrahman, 2012).

#### 1) Reaksi Pengendapan

Pada reaksi pengendapan, filtrat diuapkan terlebih dahulu di atas penangas air untuk menghilangkan atau menguapkan pelarut yang telah bercampur dengan alkaloid. Kemudian, sisa filtrat yang telah diuapkan dilarutkan dalam HCl 2N. Penambahan HCl berfungsi untuk membentuk garam alkaloid sehingga alkaloid dapat tertarik dari larutannya. Alkaloid dalam bentuk garamnya inilah yang nantinya akan bereaksi dengan

reagent atau larutan pereaksi dan membentuk endapan. Adapun larutan pereaksi yang digunakan antara lain (Asep kusrahman, 2012).

a. WagnerLP

b. Mayer LP dan DragendroffL

## 2) ReaksiWarna

Pada reaksi ini, sebelum ditetesi dengan larutan pereaksi, sampel terlebih dahulu diuapkan di atas penangas air dengan menggunakan cawan porselen. Hal ini juga bertujuan untuk menguapkan pelarut yang telah bercampur dengan alkaloid. Pada uji warna ini, digunakan 3 pereaksi, yaitu asam sulfat P, asam nitrat P, dan Erdman LP (Asep kusrahman, 2012).

Untuk mendeteksi alkaloid secara kromatografi digunakan sejumlah pereaksi. Pereaksi yang sangat umum adalah pereaksi Dragendorff, yang akan memberikan noda berwarna jingga untuk senyawa alkaloid. Namun demikian perlu diperhatikan bahwa beberapa sistem tak jenuh, terutama kumarin dan  $\alpha$ -piron, dapat juga memberikan noda yang berwarna jingga dengan pereaksi tersebut. Pereaksi umum lain tetapi kurang digunakan adalah asam fosfomolibdat, jodoplatinat, uap jod, dan antimon (III) klorida. (Jurnal farmasi metode pemisahan elektroforesis Kapiler). Kebanyakan alkaloid bereaksi dengan pereaksi-pereaksi tersebut tanpa membedakan kelompok alkaloid. Sejumlah pereaksi khusus tersedia untuk menentukan atau mendeteksi jenis alkaloid khusus. Pereaksi Ehrlich (p-dimetilaminobenzaldehyde yang

diasamkan) memberikan warna yang sangat karakteristik biru atau abu-abu hijau dengan alkaloid ergot. Pereaksi serum amonium sulfat (CAS) berasam (asam sulfat atau fosfat) memberikan warna yang berbeda dengan berbagai alkaloid indol. Warna tergantung pada kromofor ultraungu alkaloid. Campuran feriklorida dan asam perklorat digunakan untuk mendeteksi alkloid *Rauwolfia*. Alkaloid *Cinchona* memberikan warna jelas biru fluoresen pada sinar ultra ungu (UV) setelah direaksikan dengan asam format dan fenilalmin dapat terlihat dengan ninhidrin. Glikosida steroidal sering dideteksi dengan penyemprotan vanilin-asam fosfat. Pereaksi Oberlin-Zeisel, larutan feri klorida 1-5% dalam asam klorida 0,5 N, sensitif terutama pada inti tripolon alkaloid kolkisin dan sejumlah kecil 1 µg dapat terdeteksi.

### 5.2.2 Uji terhadap Saponin dan terpenoid)

(Dhea A. Arief, 2017) Saponin adalah suatu golongan glicosida yang larut dalam air dan mempunyai karakteristik, dapat membentuk busa apabila dikocok, serta mempunyai kemampuan menghemolisis sel darah merah. Saponin mempunyai toksisitas yang sangat tinggi. Berdasarkan strukturnya saponin dapat dibedakan atas dua macam yaitu, saponin yang mempunyai rangka steroid dan saponin yang mempunyai rangka triterpenoid. Berdasarkan strukturnya saponin memberikan reaksi warna merah atau hijau dengan pereaksi Libermann-Burhard (LB).

### 5.2.3 Uji Terhadap Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok senyawa polifenol yang terdapat dalam tanaman. Pada tanaman, flavonoid memiliki beragam fungsi, diantaranya dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimikrobia, fotoreseptor, dan skrining cahaya. Flavonoid terutama dalam bentuk turunan glikosilat bertanggung jawab atas pemberian warna pada daun, bunga, dan buah (Simamora, 2011).

1 ml filtrat ekstrak simplisia diuapkan, sisanya dilarutkan dalam 2 ml larutan etanol 95%. Tambahkan 500 mg serbuk seng dan 2 ml larutan HCl 2N, diamkan selama 1 menit. Lalu tambahkan 10 tetes asam klorida (HCl) pekat, diamkan selama 2 – 5 menit, jika terbentuk warna merah menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa golongan flavonoid (Nuryanti & Pursitasari, 2014)

### 5.2.4 Uji Terhadap Tannin

Tannin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh dan memiliki batang sejati. Secara kimia terdapat dua jenis tannin, yaitu tannin terkondensasi dan tannin terhidrolisis. Tannin terkondensasi hampir terdapat disemua tumbuhan paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae terutama pada tumbuhan berkayu. Tannin terhidrolisis, penyebarannya terbatas hanya pada tumbuhan berkeping dua. Tetapi kedua jenis tannin ini banyak dijumpai bersamaan dalam tumbuhan yang sama. Sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tannin akan dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang pahit. Salah satu fungsi

tanin pada tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Dhea A. Arief, 2017)

Sampel yang akan diuji dididihkan dengan 20 ml air lalu disaring. Ditambahkan beberapa tetes feriklorida 1% dan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tannin (Marlinda dkk, 2012).

## 2.7 Metode Uji Penghambatan Bakteri

### a. Metode difusi (*Disc diffusion test*)

*Disc diffusion test* atau uji difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan atau sensitivitas yaitu 10<sup>5</sup> – 10<sup>8</sup> CFU/ml (Hermawan dkk., 2007). Metode difusi dibedakan menjadi dua yaitu Kirby Baurer dan cara sumuran :

#### 1. Cara Kirby Bauer

Metode difusi disk (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih

besar dalam memilih obat yang akan di periksa (Sacher dan Mcpherson, 2004).

## 2. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen yang akan diuji ( Pratiwi, 2008 ).

### **b. Metode dilusi ( pengenceran )**

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat :

#### 1. Metode dilusi cair

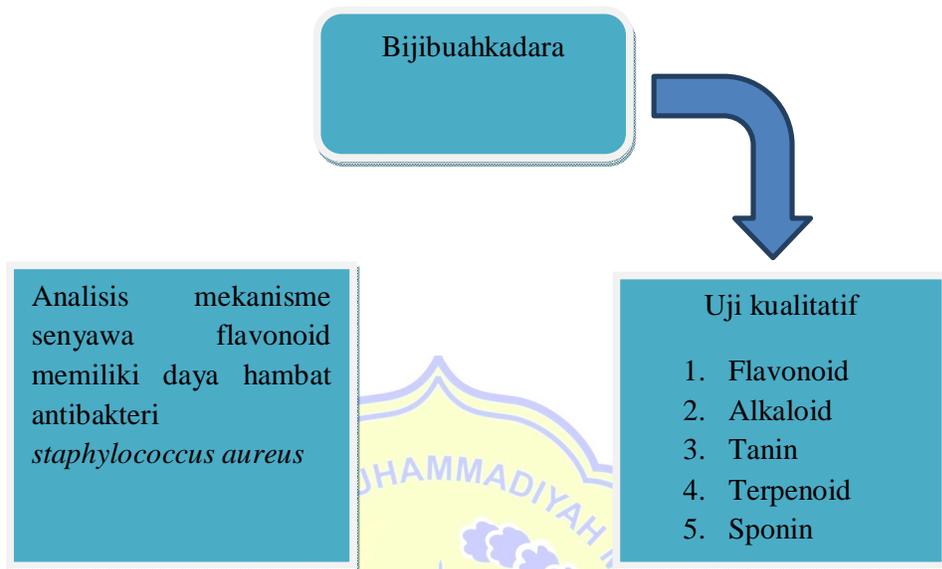
Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minim) dan KBM ( Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji ( Pratiwi, 2008 ).

#### 2. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang di uji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji ( Pratiwi, 2008 ).

## 2.8 Kerangka Konsep

Dalam penelitian ini kerangka konsep peneliti seperti diagram berikut :



Gambar 11. Kerangka konsep



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah Ekperimental. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan dari suatu perlakuan yang diberikan secara sengaja oleh peneliti (Fitriana, 2018 dalam Hadi, 1985).

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Kesehatan Masyarakat Pulau Lombok Kota Mataram.
2. Penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan mei/agustus 2019.

#### **3.3 Variabel Penelitian**

1. Variable bebas adalah ekstrak etanol cangkang biji buah kadara dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.
2. Variabel terikat adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **3.4 Definisi Operasional**

1. Ekstrak biji buah kadara adalah sediaan pekat yang didapat dengan mengekstraksi zat aktif dari cangkang biji buah kadara dengan menggunakan pelarut etanol 70%.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram-positif yang didapatkan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Pulau Lombok Kota

Mataram, berwarna putih yang berbentuk kokus menyerupai bola dengan garis tengah  $\pm 1 \mu\text{m}$  (menyerupai buah anggur).

3. Metode sumuran serupa dengan metode difusi disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikro organisme dan pada sumur tersebut diberi agen yang akan diuji.

### 3.5 Parameter Pengamatan

Parameter yang akan diamati dalam penelitian ini yaitu mengamati diameter zona bening atau hambatan pada medium setelah pemberian antara ekstrak cangkang biji buah kadara dan pembanding yaitu *ciprofloxacin* golongan quinolon dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

#### 3.5.1 Peralatan Penelitian

Petridis, rak tabung, timbangan, cawan porselin, lemari penanaman, tabung reaksi, yellow tip, mikro pipet, inkubator, swab kapas steril, batang pengaduk, termometer, blender, gelas ukur, pipet tetes, jarum ose, toples kaca, api bunsen, pinset.

#### 3.5.2 Bahan Penelitian

Ekstrak cangkang biji buah kadara etanol 70 %, bakteri *staphylococcus aureus*, Media Muller Hinton Agar (MHA), Antibiotik ciprofloxacin dan aquadest steril.

### 3.6 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.6.1 Pembuatan Ekstrak

Ada beberapa tahapan dalam pembuatan sampel yaitu :

a. Pembuatan simplisia cangkang biji buah kadara

Adapun beberapa tahapan dalam pembuatan simplisia cangkang biji buah kadara (Gunawan dan Mulyani, 2004), yaitu :

1. Pengumpulan bahan baku

Kadara diambil dari pohonnya langsung dikebun Desa Teke Kecamatan Palibelo Kabupaten Bima NTB

2. Sortasi basah

Perlakuan ini bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tidak diinginkan.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir sehingga benar-benar bersih dari kotoran yang menempel.

4. Pembuatan serbuk

Setelah digoreng kemudian di pisahkan daging dengan cangkang dan selanjutnya cangkang biji buah kadara dilanjutkan dengan pembuatan serbuk menggunakan blender.

b. Pembuatan Ekstrak Etanol Cangkang Biji Buah Kadara (*caesalpinia bonduc*)

Pembuatan ekstrak cangkang biji buah kadara dilakukan dengan metode maserasi, dengan cara serbuk cangkang biji buah kadara diambil

500gram kemudian dimasukkan ke dalam bejana yang telah disediakan dan direndam dengan pelarut dengan etanol bahan pembanding pelarut 1 : 1, yaitu 700 ml pelarut, kemudian ditutup. Lakukan penggojokan secara konstan pada suhu ruangan sampai seluruh bahan tercampur dengan baik, kemudian diamkan selama 2 x 24 jam sambil dilakukan penggojokan sesekali. Selanjutnyadisaring dengan kain flannel dan diperas. Hasil filtrat ditampung dalam *beaker glass*, kemudian dipekatkan degan cara diuapkan pelarutnya menggunakan Water bath pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak yang pekat.

Ekstrak pekat ditimbang dan dihitung randemennya dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Beratekstrak}}{\text{Beratserbuk}} \times 100\%$$

### 3.7 Uji Kualitatif

1. Uji alkaloid dilakukan dengan mengambil 2 mL sampel cangkang biji buah kadara yang telah diekstraksi dengan pelarut etanol ke dalam tabung reaksi yang. Setelah itu ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen Dragendroff. Jika masing-masing larutan terbentuk warna jingga maka positif mengandung alkaloid. (Mustikasari & Ariyani, 2010)
2. Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 2 mL sampel ekstrak cangkang biji buah kadara yang telah diekstraksi dengan etanol dan diencerkan dengan aquades 1 ml, kemudian dipanaskan kurang lebih 5

menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika larutan terbentuk warna kuning hingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Mustikasari & Ariyani, 2010)

3. Uji terpenoid dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 2 mL sampel ekstrak cangkang biji buah kadara yang telah diekstraksi dengan etanol. Setelah itu ekstrak, ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Jika larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid (Septianingsih, 2013).
4. Uji tanin dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 2 mL sampel cangkang biji buah kadara yang telah diekstraksi dengan pelarut etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika larutan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin (Marlinda dkk, 2012).
5. Uji saponin dilakukan dengan cara sampel cangkang biji buah kadara yang telah diekstraksi dengan pelarut etanol dididihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Uyatmi, Inorah, & Marwanto, 2019)

Uji daya hambat ekstrak yang telah diperoleh dibuat sebanyak 5 macam konsentrasi sesuai dengan perlakuan yang telah ditentukan yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dengan perhitungan sebagai berikut :

1. Perlakuan A 100 % = 5 gram ekstrak + 5 ml pelarut

2. Perlakuan B (80 % b/v) =  $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$$100 = 2 \times 80$$

$$= \frac{160}{100}$$

$$= 1.6 \text{ add } 4 \text{ ml}$$

3. Perlakuan C (60 % b/v) =  $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$$100 = 2 \times 60$$

$$= \frac{120}{100}$$

$$= 1.2 \text{ add } 4 \text{ ml}$$

4. Perlakuan D (40 % b/v) =  $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$$100 = 2 \times 40$$

$$= \frac{80}{100}$$

$$= 0,8 \text{ add } 4 \text{ ml}$$

5. Perlakuan B (20 % b/v) =  $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$$100 = 2 \times 20$$

$$= \frac{40}{100}$$

$$= 0,4 \text{ add } 4 \text{ ml}$$

### 3.8 Cara kerja pengujian ekstrak cangkang biji buah kadara dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol cangkang biji buah kadara (*caesalpnia bonduc*) terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan

cara yaitu menyiapkan baktri *Staphylococcus aureus* dengan kepekaan 0,5 unit Mc. Farland , selanjutnya menyiapkan media MHA yang kemudian dioleskan bakteri dengan menggunakan swap kapas steril sehingga merata pada permukaan media, dan diinkubasi 5-15 menit pada suhu kamar. Selanjutnya dibuat lubang-lubang sumuran menggunakan *yellow tip* steril yang ditekan pada media, dengan menggunakan dispenser. Pipetkan masing-masing 50  $\mu$ L ekstrak cangkang biji buah kadara konsentrasi 20 %, 40%, 60%, 80%, 100% letakkan pada masing-masing sumuran. Disamping itu dengan dispenser pipetkan 50  $\mu$ L kontrol positif (*Ciprofloxacin*) dan kontrol negatif (Aquadest steril). Yang dilakukan selanjutnya adalah diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dengan keadaan petri dish tidak terbalik agar ekstrak cangkang biji buah kadara tidak tumpah, kemudian dilihat adanya hambatan dengan menggunakan penggaris diukur besarnya zona hambatan, dan selanjutnya menghitung standar deviasi.

### 3.9 Analisa Data

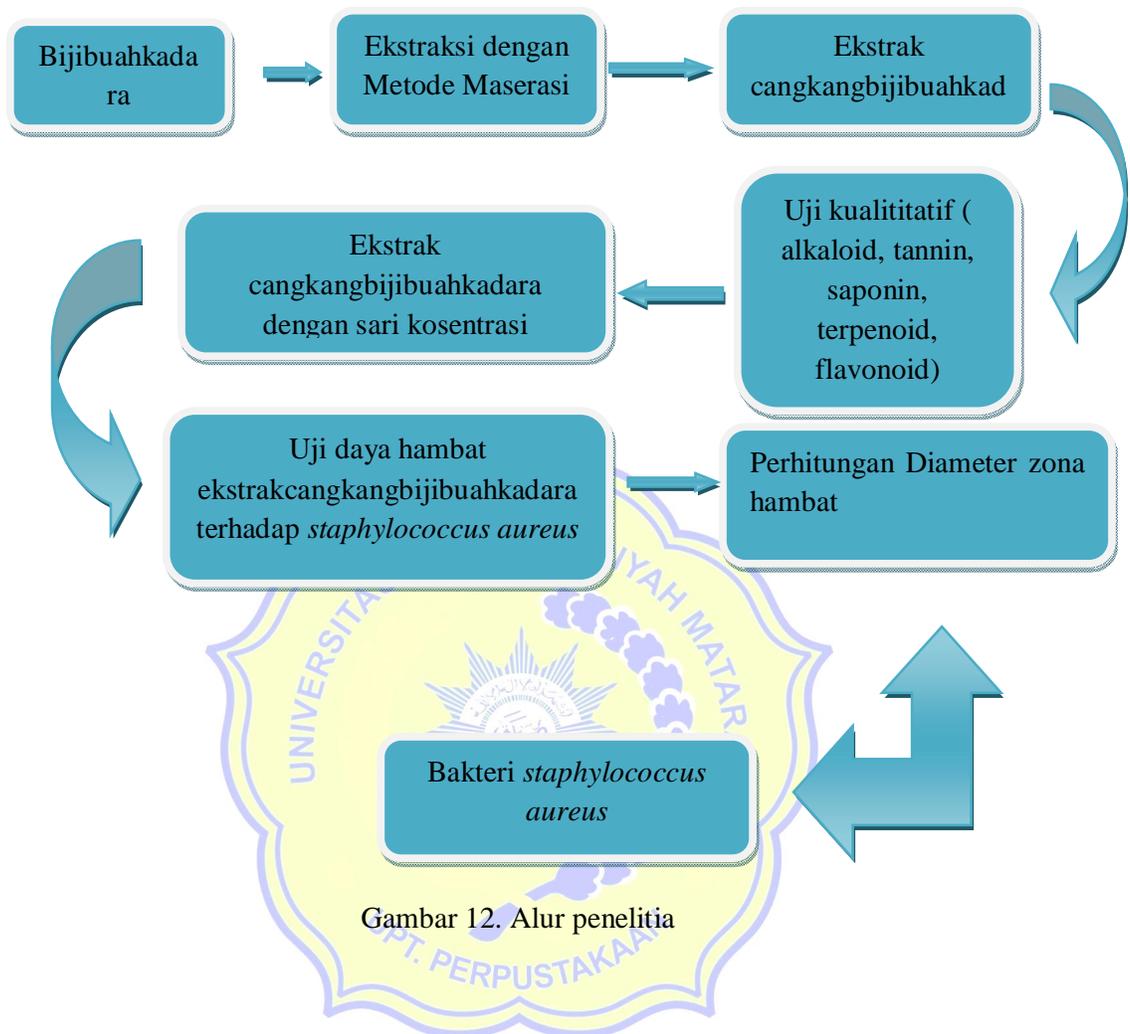
Analisis data pada penelitian ini dibuat dengan cara menggambarkan secara deskriptif. Data uji kualitatif dikumpulkan dalam bentuk gambar dan ditabulasi. Data yang telah didapat dari hasil pengamatan uji daya hambat akan diolah dengan menggunakan *software statistik* SPSS 16.0 untuk melihat apakah ada perbedaan daya hambat yang bermakna dari masing-masing uji yang mengandung kontrol positif, kontrol negatif, dan berbagai konsentrasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Data pada penelitian ini berupa variabel numerik lebih dari 2 kelompok sehingga menggunakan uji *One Way Anova* (Eko Prayoga, 2013). Jika distribusi data normal, dilanjutkan dengan menggunakan uji analisis *One Way Anova*. Berikut ini adalah langkah-langkah melakukan uji analisis *One Way Anova*:

1. Memeriksa syarat uji parametrik *one way Anova* untuk lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan :
  - a. Distribusi data harus normal,
  - b. Varians data harus sama,
2. Jika memenuhi syarat uji parametrik (distribusi data normal, varians sama), dipilih uji *one way Anova*,
3. Jika variabel transformasi data memenuhi syarat, maka dipilih uji parametrik *one way Anova*,

Jika variabel hasil transformasi tidak memenuhi syarat, maka alternatifnya dipilih uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*, jika pada uji *one way Anova* atau *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc* pada taraf kepercayaan 0,05 (Dahlan, 2011).

### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 12. Alur penelitian