

REPUBLIC INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202203622, 15 Januari 2022

Pencipta

Nama : **Putri Vidiyari Darsono, Dede Mahdiyah dkk**
Alamat : Gang. Rosella No 42 RT 003 RW 001 Sungai Ulin Banjarbaru Utara,
Banjarbaru, KALIMANTAN SELATAN, 70714
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Putri Vidiyari Darsono, Dede Mahdiyah dkk**
Alamat : Gang. Rosella No 42 RT 003 RW 001 Sungai Ulin Banjarbaru Utara,
Banjarbaru, KALIMANTAN SELATAN, 70714
Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : **Laporan Penelitian**
Judul Ciptaan : **SENYAWA ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK BUNGA PINANG
(areca Catechu L.) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus Aureus
DAN Escherichia Coli**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali : 15 Januari 2022, di Banjarmasin
di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.

Nomor pencatatan : 000318880

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual
u.b.
Direktur Hak Cipta dan Desain Industri

Dr. Syarifuddin, S.T., M.H.
NIP.197112182002121001

Disclaimer:

Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, Menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Putri Vidiyasari Darsono	Gang. Rosella No 42 RT 003 RW 001 Sungai Ulin Banjarbaru Utara
2	Dede Mahdiyah	Pondok Papan Sejahtera B48 RT 049 RW 008 Loktabat Utara Banjarbaru Utara
3	Nur Hidayah	Jl. HKSAN Komp Surya Gemilang Blok 1A RT.020 RW 002 Kuin Utara Banjarmasin Utara

LAMPIRAN PEMEGANG

No	Nama	Alamat
1	Putri Vidiyasari Darsono	Gang. Rosella No 42 RT 003 RW 001 Sungai Ulin Banjarbaru Utara
2	Dede Mahdiyah	Pondok Papan Sejahtera B48 RT 049 RW 008 Loktabat Utara Banjarbaru Utara
3	Nur Hidayah	Jl. HKSAN Komp Surya Gemilang Blok 1A RT.020 RW 002 Kuin Utara Banjarmasin Utara



**LAPORAN
PENELITIAN**

**SENYAWA ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK BUNGA
PINANG (*areca catechu* L.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus, DAN *Escherichia coli***



Oleh:

Putri Vidiyasari D, S.Si., M.Pd (Ketua) (NIDN : 1102028801)
Dr. Dede Mahdiyah, M.Si (Anggota 1) (NIDN: 1116108401)
Nur Hidayah, M.T (Anggota 2) (NIDN: 1118029001)

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KESEHATAN UNIVERSITAS SARI MULIA
BANJARMASIN
2021**

BAB IHALAMAN PENGESAHAN

1. Judul : Senyawa Antimikroba dari Ekstrak Bunga Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*
2. Ketua Tim Pengusul
 - a) Nama : Putri Vidiyasari D, SSi.,M.Pd
 - b) NIK : 1118029001
 - c) Perguruan Tinggi : Universitas Sari Mulia
 - d) Bidang Keahlian : Biologi Farmasi
3. Anggota 1 Tim Pengusul : DR. Dede Mahdiyah, M.Si /Kedokteran Dasar
4. Anggota 2 Tim Pengusul : Nur Hidayah, MT/ Teknik Kimia
5. Luaran yang dihasilkan : Artikel Ilmiah
6. Jangka Waktu pelaksanaan : 1 tahun
7. Biaya Total : Rp. 19.870.000

Banjarmasin, 10 Oktober 2021

Sarjana Farmasi
Kajur,

Apt. Noval, M.Farm
NIK.1166042017095

Ketua TIM Pengusul

Putri Vidiyasari D, SSi.,M.Pd
NIK.1166022015079

Mengetahui,
Ketua LPPM Universitas Sari Mulia



Dini Rahmayani, S.Kep.Ns.MPH
NIDN 1166122004007

ABSTRAK

Latar belakang: Tanaman pinang (*Areca catechu* L.) banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, tanaman ini dikenal sebagai tanaman serbaguna karena dari biji, daun, sampai pelepahnya dapat dimanfaatkan. Biji pinang memiliki kandungan senyawa sebagai antibakteri seperti alkaloid, flavonoid dan tannin.

Tujuan : menganalisis senyawa fitokimia dari bunga pinang dan mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*

Metode: menggunakan uji reaksi warna selanjutnya dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi.

Hasil: menunjukkan uji dengan pereaksi warna, ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin. Uji dengan KLT menunjukkan bahwa ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid nilai Rf 0,67 cm, flavonoid nilai Rf 0,65 cm, tannin nilai Rf 0,4 cm, dan saponin nilai Rf 0,61 cm. Hasil uji KHM ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* pada konsentrasi 500mg/ml yaitu dengan ditunjukkan kejernihan pada ekstrak bunga pinang *sedangkan* nilai KHM menghambat pertumbuhan *S. aureus* terdapat pada konsentrasi 700mg/ml yaitu dengan ditunjukkan kejernihan pada ekstrak bunga pinang.

Kesimpulan : Dari hasil fitokimia yang didapatkan bahwa ekstrak bunga pinang memiliki potensi sebagai agent antimikroba. Analisis dengan Kruskal Wallis diperoleh nilai $p=0.074$ artinya aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang tidak berpengaruh terhadap *E. coli*. Berdasarkan uji homogenitas data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *S. aureus* homogen dengan nilai $p=0,086$ dan data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *E. coli* tidak homogen dengan nilai $p=0.005$. analisis ANOVA diperoleh nilai $p=0.001$ artinya ekstrak bunga pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus*. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan Tukey HSD konsentrasi 100, 300, 500, control positif, 1000, dan 700 memiliki aktivitas antibakteri yang sama terhadap *S. aureus* sedangkan kontrol negative memiliki aktivitas antibakteri yg berbeda. Berdasarkan uji lanjut diperoleh nilai $p=0.160$ artinya aktivitas antibakteri tidak ada perbedaan secara signifikan antar masing-masing konsentrasi.

Kata Kunci: antimikroba, bunga pinang, fitokimia, KLT

ABSTRACT

Background: *Areca nut (Areca catechu L.)* is widely used by the community as traditional medicine, this plant is known as a versatile plant because from the seeds, leaves, to the midrib it can be used. *Areca nut* contains compounds as antibacterial such as alkaloids, flavonoids and tannins.

Objective: to analyze the phytochemical compounds from *areca nut* and to determine the antibacterial activity of *areca nut* extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Method: using the next color reaction test using the Thin Layer Chromatography (TLC) method. Antibacterial testing using diffusion and dilution methods.

Results: showed a test with color reagents, extract of *areca nut (Areca catechu L.)* contains alkaloids, flavonoids, steroids, tannins and saponins. The TLC test showed that the *areca nut (Areca catechu L.)* extract contains alkaloids with an Rf value of 0.67 cm, flavonoids with an Rf value of 0.65 cm, tannins with an Rf value of 0.4 cm, and saponins with an Rf value of 0.61 cm. The results of the MIC test of *areca nut* seed extract (*Areca catechu L.*) in inhibiting the growth of *E. coli* at a concentration of 500mg/ml, namely by showing clarity in the *areca nut* extract, while the MIC value inhibiting the growth of *S. aureus* was at a concentration of 700mg/ml, namely by showing clarity. on betel nut extract.

Conclusion: The phytochemical results showed that *areca nut* extract has potential as an antimicrobial agent. Analysis with Kruskal Wallis obtained p value = 0.074 meaning that the antibacterial activity of *areca nut* extract had no effect on *E. coli*. Based on the homogeneity test of the antibacterial activity data of *areca nut* extract against homogeneous *S. aureus* with p value = 0.086 and the data on the antibacterial activity of *areca nut* extract against *E. coli* was not homogeneous with p = 0.005. ANOVA analysis obtained p value = 0.001 meaning *areca nut* extract has antibacterial activity against *S. aureus*. Further tests were carried out with Tukey HSD concentrations of 100, 300, 500, positive control, 1000, and 700 having the same antibacterial activity against *S. aureus* while the negative control had different antibacterial activity. Based on further tests, the value of p = 0.160 means that there is no significant difference in antibacterial activity between each concentration

Keywords: antimicrobial, *areca nut*, *Escherichia coli* phytochemicals, Bakteri *Staphylococcus aureus*, , TLC

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji hanya bagi Allah Azza wa Jalla, Shalawat dan salam senantiasa kami sampaikan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya. Sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Dan juga kami berterimakasih kepada Kemendikbudristek yang sudah memberikan dana hibah penelitian skema Penelitian Dosen Pemula dan juga kepada Tim yang sudah membantu proses penelitian ini.

Kami sangat berharap penelitian ini dapat berguna dalam rangka menambah wawasan serta pengetahuan kita mengenai tanaman yang berkhasiat sebagai antimikroba. Kami juga menyadari sepenuhnya bahwa di dalam penelitian ini terdapat kekurangan-kekurangan dan jauh dari apa yang kami harapkan. Untuk itu, kami berharap adanya kritik, saran dan usulan demi perbaikan di masa yang akan datang, mengingat tidak ada sesuatu yang sempurna tanpa sarana yang membangun.

Semoga penelitian ini dapat dipahami bagi siapapun yang membacanya. Sekiranya laporan yang telah disusun ini dapat berguna bagi kami sendiri maupun orang yang membacanya. Sebelumnya kami mohon maaf apabila terdapat kesalahan kata-kata yang kurang berkenan dan kami memohon kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa depan.

Banjarmasin

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
BAB I HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
3. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder	18
7. Antibakteri.....	26
2.1.1 Metode Pengujian Antibakteri	28
2.1.7 Antibiotik Kloromfenikol	31
2.1.8 DMSO	32
BAB III.....	33
METODE PENELITIAN.....	33
3). Pembuatan Media	42
1) Aktivitas Antibakteri bunga pinang	43
a) Peremajaan Bakteri	43
b) Inokulasi Bakteri	45
c) Pembuatan Larutan Standar Mc Farland	45
d) Pembuatan Suspensi Bakteri	45
e) Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.....	46
f) Pembuatan Larutan Uji	46
2) Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak bunga pinang.....	47
2.6 Analisis Data.....	48
BAB IV	50
HASIL DAN PEMBAHASANs.....	50

BAB V.....	67
PENUTUP.....	67

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, fungi, protozoa ataupun parasit. Penyakit infeksi masih menjadi permasalahan masyarakat di Indonesia khususnya Kalimantan Selatan. Kalimantan Selatan dikenal sebagai kota seribu sungai yang mana kasus penyakit infeksi tergolong tinggi. Berdasarkan profil Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan pada tahun 2015 terdapat penyakit diare dan penyakit kulit termasuk dalam salah satu golongan penyakit terbesar yang angka kejadiannya relatif cukup tinggi. Keadaan ini di dukung oleh faktor lingkungan, terutama kondisi sanitasi dasar yang masih tidak baik, misalnya penggunaan air untuk keperluan sehari-hari yang tidak memenuhi syarat, jamban keluarga yang masih kurang dan keberadaannya kurang memenuhi syarat, serta kondisi sanitasi perumahan yang masih kurang dan tidak higienis.

Penyakit Infeksi berkembang akibat penggunaan antibiotik yang dipergunakan tidak tepat dalam segi dosis dan kurangnya informasi empiris tentang penyakit infeksi sehingga hal ini menyebabkan bakteri menjadi resisten (Costelloe et al., 2010). Bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik karena bakteri dapat mengurangi atau bahkan menghilangkan efektivitas antibiotik. Resistensi terjadi akibat mutasi genetik pada bakteri (Nursidika et al., 2014). Saat ini sudah banyak diketahui mikrob resisten seperti *Staphylococcus aureus* penyebab utama infeksi nosokomial dan komunitas serta *Escherichia coli* dapat

menyebabkan diare. Berdasarkan data dari CDC (*Central of Disease Control*) dapat disebutkan terdapat sekitar 2 juta kasus resistensi antibiotik dan 23.000 kasus yang diantaranya mengakibatkan masyarakat meninggal dunia akibat resistensi antibiotik (CDC, 2013). WHO (*World Health Organization*) menyatakan bahwa pada tahun 2050 jika tidak dilakukan penanganan lebih lanjut maka resistensi antibiotik diperkirakan mungkin saja dapat menyebabkan kematian hingga 10 juta jiwa disetiap tahunnya. WHO juga mengatakan resistensi antibiotik diperkirakan sudah mengakibatkan 700 ribu kematian di seluruh dunia saat ini (Centers for Disease Control and, 2019).

Masyarakat khususnya di negara berkembang sering mengalami penyakit klinik yang hampir 50% diantaranya disebabkan oleh infeksi mikroba (Elisha et al., 2017). Bakteri seperti *Entrococcus faecalis*, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* adalah jenis mikroba patogen yang menjadi penyebab beberapa penyakit seperti diare, demam, inflamasi, penyakit kulit, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kencing, infeksi saluran akar gigi, dan masih banyak lagi yang lainnya (Akcaya et al., 2019; Kurniawan et al., 2019).

Pemanfaatan ekstrak tumbuhan sebagai alternatif obat herbal banyak dikembangkan di Negara Berkembang (Clarke et al., 2017). Secara tradisional, ekstrak dari berbagai bagian tumbuhan, termasuk akar, batang, bunga, buah, dan ranting, sangat luas digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit manusia . Beberapa tanaman obat mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri (Talib & Mahasneh, 2010). Salah satu pemanfaatan pinang (*Areca catechu* L.)

secara tradisional yaitu untuk mengobati bisul, diare, disentri, hidung berdarah (mimisan), cacangan dan malaria. Efek antimikroba pada buah pinang sudah diuji dengan beberapa mikroba yang ada di mulut seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Candida albicans*, dan juga *Fusiform nucleatum*. Senyawa dalam buah pinang yang diduga mempunyai efek antibakteri adalah senyawa tannin (Nursidika et al., 2014). Kandungan fitokimia menunjukkan biji pinang mengandung senyawa alkaloid, tanin, kuinon, terpenoid, saponin dan flavonoid yang diketahui memiliki khasiat sebagai antibakteri (Djohari et al., 2018).

Tanaman pinang secara empiris banyak digunakan oleh masyarakat dan dipercaya sebagai menyembuhkan penyakit seperti perasan buah pinang dapat menyembuhkan mata rabun, rebusan biji pinang muda dapat mengobati cacangan, daging buah pinang muda dapat menyembuhkan penyakit kulit dan rebusan buah pinang digunakan untuk mengecilkan perut pasca melahirkan. Kalimantan Selatan khususnya suku banjar memanfaatkan tanaman pinang dari buah, biji dan bunganya. Dimana buah pinang digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan dan mengobati luka, bagian biji biasanya dicampur dengan sirih untuk menginang yang dipercaya sejak dulu untuk memperkuat gigi atau sebagai pengganti pasta gigi. Sedangkan bagian bunganya biasanya digunakan untuk acara adat seperti acara siraman sebelum melaksanakan pernikahan dan juga acara mandi-mandi tujuh bulanan. Karena belum ada penelitian tentang khasiat bunga pinang berdasarkan kandungan fitokimia yang terdapat pada buah dan bijinya yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Oleh karena itu, tujuan

penelitian ini adalah isolasi senyawa bioaktif dan aktivitas antibakteri yang terdapat pada bunga pinang yang berasal dari Kabupaten Banjar. Agar semua bagian tanaman pinang ini bisa dimanfaatkan dan berfungsi sebagai alternative tanaman herbal oleh masyarakat Kabupaten Banjar.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L) Memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
2. Berapakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

C. Tujuan

1. Mengidentifikasi ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L) Memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
2. Mengidentifikasi konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

D. Manfaat

Dari hasil penelitian diharapkan dapat memberikan sumber dan informasi terhadap masyarakat tentang peranan ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L) sebagai antibakteri, dan dapat memberi sumbangsih keilmuan dan literatur khususnya dalam bidang mikrobiologi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tinjauan Tentang Pinang

a. Pinang (*Areca catechu* L.)



Gambar 2.1. Pinang (*Areca catechu* L.) (Wendelindia, 2017)

Pinang yang memiliki nama latin *Areca catechu* L. adalah salah satu tanaman dengan *family palmae*. Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tumbuhan yang banyak sekali manfaatnya, tetapi di Indonesia tanaman ini belum dianggap sebagai komoditas utama. Pohon pinang (*Areca catechu* L.) dapat memproduksi buah pinang sebanyak 50-100 buah/mayang dan untuk ukuran buah yang lebih kecil bisa mencapai 150-200 buah/mayang. Jumlah ekspor pinang pada tahun 2003 mencapai 77.126.347 kg dengan nilai US\$ 22.960.446. Kebiasaan pemanfaatan buah pinang yang dimakan bersama sirih, sudah terjadi secara turun temurun pada berbagai daerah yang ada di Indonesia (Cahyanto, 2018).

1) Klasifikasi

Menurut Hapsoh 2008 pinang (*Areca catechu* L.) memiliki klasifikasi tumbuhan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Class	: Monocotyledonae
Ordo	: Arecales
Family	: Arecaceae (Palmae)
Genus	: <i>Areca</i>
Species	: <i>Areca catechu</i> L.

2) Nama Daerah

Tanaman pinang (*Areca catechu* L.) adalah tanaman yang berasal dari Indonesia dan memiliki nama yang berbeda di setiap daerah. Pulau Sumatera menyebut pohon pinang dengan nama pinang, pineng, pincung, pinang, batang mayang, batang lekah, batang pinang, pining, dan boni. Di pulau Jawa disebut jambe, penang, dan woham. Kemudian di Kalimantan disebut gahal, gehat, kahat, taan, dan pinang, sedangkan di Nusa Tenggara disebut buah jambe, buah, winu, pua, wenji, keu, ehu, glok, dan wua tilade (Depkes RI, 1995).

3) Morfologi

Tanaman Pinang (*Areca catechu* L.) memiliki rasa yang kelat, dan agak pahit. Biji pinang (*Areca catechu* L.) memiliki tekstur yang keras dalam bentuk utuh atau dalam bentuk irisan. Biji pinang (*Areca*

cetechu L.) memiliki bentuk kerucut yang pendek dengan ujung berbentuk membulat, sangat jarang berbentuk hampir setengah bulatan, bagian pangkal agak datar dengan suatu lekukan dangkal, memiliki panjang 15 mm - 30 mm, bagian permukaan luar biji berwarna kecokelatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dan miliki warna yang lebih muda pada pangkal biji sering terdapat bagian-bagian dari kulit buah yang berwarna putih (Depkes RI, 1989).

b. Kandungan dan Manfaat

1) Biji

Biji pinang (*Areca cetechu* L.) memiliki rasa yang pahit, pedas, dan hangat, serta mengandung alkaloid 0,3%-0,6%. Selain itu biji pinang juga mengandung red tannin 15%, lemak 14%, kanji, dan resin. Biji segar mengandung alkaloid lebih banyak sekitar 50% dibandingkan dengan biji yang sudah mengalami perlakuan. Arekolin memiliki fungsi sebagai obat cacing, selain itu juga memiliki fungsi untuk obat penenang, sehingga bersifat memabukkan bagi penggunaanya (Dalimartha, 2009).

Biji pinang (*Areca cetechu* L.) dilaporkan memiliki manfaat sebagai antiparasit, laksatif, dan peluruh air seni. Biji pinang (*Areca cetechu* L.) juga memiliki sifat sebagai stimulan karena mempercepat denyut jantung dan tekanan darah. Meningkatkan absorpsi glukosa di otak, maka tanaman ini dapat dikatakan bisa berguna bagi pasien Alzheimer dan skizofrenia (Dalimartha, 2009).

2) Daun

Daun pinang (*Areca catenata* L.) memiliki panjang sekitar 1,5 hingga 2 m, daunnya tunggal menyirip bertoreh sangat dalam, tumbuh berkumpul di ujung batang membentuk roset batang. Daun pinang ini banyak mengandung minyak atsiri (Agoes, 2010).

3) Buah

Buah pinang (*Areca catenata* L.) memiliki bentuk bulat seperti telur dengan panjang antara 3,5 cm-7 cm, dinding buahnya berserabut keras yang meliputi endosperm dan memiliki berat kulit sekitar 60-80% dari berat keseluruhan buah (Firdaus *et al.*, 2019). Biji buah pinang banyak mengandung tanin dan alkaloid yang dapat digunakan sebagai obat dan penyamak pada industri kulit (Hidayah *et al.*, 2019).

4) Bunga

Bunga pinang (*Areca catenata* L.) terdiri dari 2 macam yaitu bunga jantan dan bunga betina. Kumpulan bunga jantan terletak pada bagian terminal (ujung) perbungaan, memiliki ukuran yang kecil dan mudah rontok, sedangkan untuk bunga betina terletak pada bagian pangkal memiliki ukuran yang lebih besar dengan panjang sekitar 1,2 hingga 2 cm. Bunga jantan dan bunga betina pada pinang memiliki enam tepal yang sesil, berwarna putih, dan memiliki aroma yang harum (Agoes, 2010).



Gambar 2.2 : Bunga Pinang (Dokumentasi pribadi, 2020)

c. Bagian Tanaman yang Digunakan

Bagian tanaman pinang (*Areca catechu* L.) yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bagian bunganya.

d. Kegunaan Bagian Tanaman yang Digunakan

Pada penelitian sebelumnya yang sudah dilakukan terhadap kulit buah pinang (*Areca catechu* L.) yang berpotensi sebagai antioksidan, dan pada bagian tanaman lainnya yang mengandung senyawa metabolit berfungsi sebagai obat pada gangguan pencernaan, sembelit, aderma, dan beri-beri (Hidayah *et al.*, 2019). Berdasarkan uraian tersebut peneliti ingin meneliti bagian pinang (*Areca catechu* L.) yaitu bunganya. Namun belum ada penelitian ataupun literatur yang menyebutkan kandungan senyawa dan manfaat dari bunga pinang (*Areca catechu* L.).

2. Tinjauan Tentang Ekstraksi

a. Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan cair, kental atau kering yang didapatkan dari proses ekstraksi atau penyarian suatu matriks atau simplisia dengan cara yang sesuai (Hanani, 2014).

1) Ekstrak cair

Ekstrak cair adalah ekstrak yang didapatkan dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari, biasanya kadar air yang terkandung lebih dari 30% (Khoirani, 2013).

2) Ekstrak kental

Ekstrak kental adalah ekstrak yang diperoleh jika sebagian besar cairan penyari sudah diuapkan. Kadar air yang terkandung dalam ekstrak kental 5-30% (Khoirani, 2013).

3) Ekstrak kering

Ekstrak kering merupakan ekstrak yang didapatkan apabila sudah tidak mengandung cairan penyari, kadar air yang terkandung kurang dari 5% (Khoirani, 2013).

b. Ekstraksi

Ekstraksi (penyarian) merupakan suatu proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi sangat berperan penting dalam analisis fitokimia karena proses ekstraksi digunakan dari tahap awal sampai akhir, termasuk fraksinasi dan pemurnian. Metode ekstraksi yang digunakan tergantung pada jenis, sifat fisik, dan sifat kimia senyawa yang terkandung dalam tanaman yang

akan diekstraksi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sangat tergantung pada polaritas senyawa yang akan disari, mulai dari senyawa yang bersifat nonpolar sampai yang polar, biasanya sering disebut dengan ekstraksi bertingkat (Hanani, 2014).

Ekstraksi bertujuan untuk menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai cara, cara ekstraksi tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Metode yang dipilih dilakukan dengan memperhatikan sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia. Salah satu metode ekstraksi yang paling sering digunakan adalah maserasi (Hanani, 2014).

1) Maserasi

Maserasi merupakan salah satu cara ekstraksi yang dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada proses ekstraksi dengan menggunakan maserasi terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan didalam sel sehingga perlu dilakukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2014).

Keuntungan dari metode maserasi yaitu peralatan yang digunakan sederhana, namun untuk mengekstraksi sampel memerlukan waktu yang lama dan menggunakan pelarut yang lebih banyak, tidak bisa digunakan untuk mengisolasi bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilih (Mawardi, 2010). Pada

penelitian ini metode yang digunakan untuk mengekstraksi bunga pinang adalah metode maserasi.

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan cara ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna. Cara perkolasi memerlukan waktu yang cukup lama dan memerlukan pelarut yang banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, dapat dilakukan uji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik pada perkolat (Hanani, 2014).

3) Soxhletasi

Soxhletasi merupakan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. pemanasan menyebabkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh ke bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan. Ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi yang berkesinambungan (Hanani, 2014).

4) Refluks

Refluks merupakan cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Refluks biasanya dilakukan berulang-ulang (3-6) terhadap residu pertama agar hasil

penyarian lebih baik dan sempurna. Untuk senyawa yang tidak tahan panas memungkinkan terjadi penguraian jika menggunakan cara ini (Hanani, 2014).

5) Infusa

Infusa merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit, waktu dihitung setelah suhu mencapai 96°C. Bejana infusa terculup dalam tangas air. Cara ini sesuai digunakan untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2014).

6) Destilasi (Penyulingan)

Destilasi adalah cara ekstraksi untuk menarik atau menyari senyawa yang ikut menguap bersama air sebagai pelarut. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan terkondensasi dan terpisah menjadi destilasi air dan senyawa yang diekstraksi. Cara ini umum digunakan untuk menyari minyak atsiri dari tumbuhan (Hanani, 2014).

c. Pelarut

Senyawa yang terkandung didalam tanaman dapat ditarik oleh pelarut pada saat proses ekstraksi. Faktor penting dalam proses ekstraksi adalah pemilihan pelarut yang sesuai. Keberhasilan pada proses ekstraksi ditentukan oleh jenis dan mutu pelarut yang digunakan. Proses ekstraksi menggunakan pelarut didasari oleh sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa yang bersifat polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa yang bersifat non-polar juga hanya akan larut pada senyawa non-polar, seperti eter,

kloroform dan n-heksan (Wibowo, 2016). Beberapa pelarut yang bisa digunakan untuk ekstraksi adalah sebagai berikut:

1) Etanol

Etanol merupakan senyawa golongan organik yang mengandung unsur C, H, dan O. Etanol memiliki karakteristik berupa zat cair, tidak berwarna, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dengan air dalam berbagai perbandingan. Secara garis besar etanol digunakan sebagai pelarut untuk zat organik dan anorganik (Siregar, 1988).

2) Air

Air adalah salah satu pelarut yang universal biasanya digunakan untuk ekstraksi tanaman yang memiliki aktivitas antimikroba dan dapat melarutkan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan.

3) Eter

Eter merupakan pelarut yang umumnya digunakan untuk mengekstraksi kumarin dan asam lemak.

4) N-heksan

N-heksan memiliki sifat non-polar sehingga pelarut ini biasanya digunakan untuk ekstraksi senyawa yang memiliki sifat non-polar juga seperti minyak nabati.

3. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang mengandung unsur nitrogen (N) pada cincin heterosiklis dan bersifat basa. Kebanyakan bentuk dari senyawa alkaloid berupa padatan dan memiliki warna putih, tetapi ada juga yang berupa cairan seperti nikotin, ada pula yang berwarna kuning, seperti berberin dan serpentin, sedangkan kolkisin dan risinin adalah senyawa alkaloid yang memiliki sifat tidak basa (Hanani, 2014). Senyawa alkaloid memiliki peran aktif sebagai antioksidan (Ahmad *et al*, 2015).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Flavonoid adalah senyawa yang dapat dimasukkan sebagai senyawa fenolik karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa (Hanani, 2014). Semua bagian dari tumbuhan seperti buah, akar, daun, bunga, dan kulit luar batang mengandung senyawa flavanoid. Senyawa flavonoid dalam tanaman obat dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Ahmad *et al*, 2015).

c. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder turunan terpedoid dengan kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) adalah kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C₅ dan turunan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik. Senyawa ini memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat dan berbentuk siklik atau asiklik. Aktivitas farmakologi senyawa golongan triterpenoid yang signifikan adalah antiviral, antibakteri, antiinflamasi, sebagai inhibisi terhadap sintesis kolesterol dan sebagai antikanker (Balafif *et al*, 2013).

d. Steroid

Steroid adalah salah satu senyawa golongan metabolit sekunder. Senyawa ini bekerja sebagai antifungi, insektisida, antivirus, dan antioksidan sehingga mempunyai nilai ekologi bagi tumbuhan (Rosyid *et al*, 2016).

e. Tannin

Tannin merupakan senyawa polifenol yang banyak tersebar dalam tumbuhan, dan pada beberapa tanaman terdapat dalam jaringan kayu seperti kulit batang, dan pada jaringan lain seperti daun dan buah (Hanani, 2014). Tannin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui memiliki khasiat sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Karina *et al.*, 2016).

f. Saponin

Saponin adalah senyawa yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi dan hewan laut dalam bentuk glikosida. Saponin dalam air akan membentuk larutan koloidal, jika dikocok membentuk busa yang menetas dan tidak hilang dengan penambahan asam. Saponin juga merupakan kelompok senyawa yang memiliki keragaman dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya (Yanuartono *et al*, 2017). Senyawa saponin memiliki peran aktif sebagai antioksidan maupun antilarvasida (Ahmad *et al*, 2015).

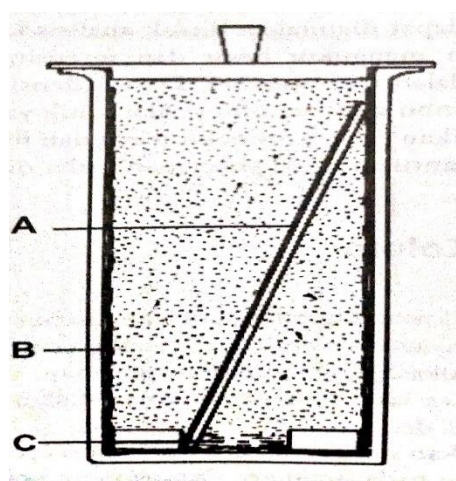
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis pemisahannya terjadi berdasarkan absorpsi, partisi atau kombinasi kedua efek tersebut. Pemisahan tergantung dari jenis lempeng, fase diam, dan fase gerak yang digunakan. Tujuan penggunaan KLT umumnya untuk identifikasi karena merupakan cara yang sederhana dan mudah, dan fase gerak yang dipilih beragam. KLT juga memiliki manfaat lain yaitu untuk analisis kuantitatif dan isolasi skala preparatif. Fase diam yang digunakan sebagai penunjang adalah lempeng kaca atau alumunium. Fase gerak akan menyerap sepanjang fase diam dan membentuk kromatogram. Metode ini sangat sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif. Silika gel yang ditambah dengan kalsium sulfat untuk menambah daya lekat fase diam umumnya dipakai sebagai fase diam. Fase diam lain yang bisa digunakan untuk menambah daya lekat adalah selulosa, poliamida, alumina, sefadeks, dan *celite*. Fase gerak yang bisa digunakan yaitu monokomponen atau multikomponen, tetapi sebaiknya tidak lebih dari 4 jenis (Hanani, 2014).

Kromatografi lapis tipis adalah bercak-bercak yang terpisah sesudah visualisasi dengan atau tanpa pereaksi deteksi (penyemprot) pada sinar tampak atau ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Nilai R_f (*retardation*) atau nilai hR_f (*hundred retardation factor*) menyatakan jarak rambat senyawa pada kromatogram. Nilai R_f didapatkan dari pengukuran jarak rambat senyawa dari titik awal hingga pusat bercak dibagi dengan jarak rambat fase gerak hingga garis depan (Hanani, 2014).

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat senyawa dari titik awal penotolan hingga pusat bercak}}{\text{Jarak rambat fase gerak dari titik awal penotolan hingga garis depan}}$$

Kromatografi lapis tipis (KLT) bisa digunakan untuk pemeriksaan identitas kemurnian senyawa obat, pemeriksaan simplisia tanaman dan hewan, pemeriksaan komposisi dan komponen aktif sediaan obat menurut label deklarasi, dan untuk penentuan kuantitatif masing-masing senyawa aktif campuran senyawa obat (Hanani, 2014).



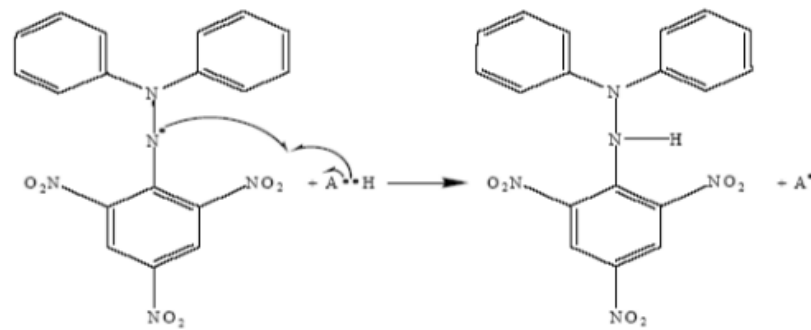
Gambar 2.3 : Lempeng lapis tipis dalam bejana KLT jenuh dengan partikel uap fase gerak. (A) lempeng lapis tipis; (B) kerta saring; (C) fase gerak (Hanani, 2014)

Berdasarkan hasil pengujian metabolit sekunder ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) menggunakan uji reaksi warna, jika hasil uji reaksi warna untuk alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin positif, maka dilanjutkan pengujian menggunakan metode KLT kemudian dihitung nilai RF (*retardation factor*).

5. Tinjauan tentang DPPH

Umumnya radikal bebas yang digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan (peredam radikal bebas) merupakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (Kurniawan, 2011). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam dan stabil pada suhu kamar (Parwati, 2014). Senyawa ini memiliki ciri-ciri padatan berwarna ungu kehitaman, larut dalam pelarut etanol dan metanol 394,3 g/mol, rumus molekulnya $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (Cahyani, 2017).

DPPH dapat memberikan informasi reaktivitas terhadap senyawa yang akan di uji dengan suatu radikal stabil. Pada panjang gelombang 517 nm DPPH memberikan serapan yang kuat dengan warna violet gelap. DPPH akan direduksi oleh senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas yang bisa diamati dengan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning saat elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan (Parwati *et al.*, 2014).



Gambar 2.4. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Kurniawan, 2011)

Satuan persen (%) aktivitas dapat menyatakan aktivitas antioksidan.

Nilai tersebut diperoleh dari rumus berikut ini :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Aktivitas antioksidan yang diperoleh dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yaitu sebagai berikut :

Tabel 2.1. Penggolongan Aktivitas Antioksidan (Petrina *et al.*, 2017).

Aktivitas Antioksidan	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-150 ppm
Lemah	151-200 ppm

Nilai IC_{50} adalah suatu konsentrasi larutan uji (sampel) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi linear (Dewi *et al.*, 2017). Persamaan regresi linear yang

digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} diperoleh dari konsentrasi sampel dan persen inhibisi pada sumbu x dan y. Rumus yang digunakan untuk menghitung persamaan regresi linear adalah sebagai berikut :

$$\text{Rumus : } y = bx + a$$

Keterangan : y = % inhibisi

x = konsentrasi

b = koefisien regresi / slop

a = intersep

6. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur transmitans atau serapan suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Alat spektrofotometer terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Alwi, 2017).

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu metode analisa berdasarkan pada penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang bisa menyerap radiasi pada daerah ultraviolet. Ada tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan untuk analisis spektrofotometri yaitu daerah UV (200-400 nm), daerah sinar tampak (400-750 nm), daerah inframerah (700-300). Prinsip dari spektroskopi UV-Vis adalah interaksi radiasi elektromagnetik berupa sinar UV yang disebabkan oleh peristiwa absorpsi (penyerapan) pada frekuensi yang sesuai karena molekul tersebut. Absorbansi radiasi pada sampel diukur menggunakan detektor pada panjang gelombang dan

diinformasikan kepererekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum tersebut akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Ulfa, 2016). Pada penentuan aktivitas antioksidan untuk mendapatkan nilai IC_{50} dari persamaan regresi linear, pengukuran absorbansi sampel dan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

7. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang akan menekan pertumbuhan atau reproduksi bahkan membunuh bakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam 5 kelompok yaitu penghambat metabolisme sel bakteri, penghambat sintesis dinding sel, penghambat permeabilitas membran sel bakteri, penghambat sintesis protein sel bakteri dan penghambat sintesis asam nukleat dan protein. Aktivitas dari antibakteri dapat diukur untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam suatu larutan, konsentrasinya pada cairan tubuh atau jaringan dan kepekaan mikroorganisme terhadap obat yang diketahui (Rollando, 2019).

a. Antibakteri yang Menghambat Sintesis Dinding Sel

Antibakteri yang bekerja dengan cara menghancurkan lapisan peptidoglikan pada bakteri gram negatif dan gram positif. Struktur sel dirusak oleh penghambatan dinding sel pada saat pembentukan atau setelah proses pembentukan. Antibiotik penisilin adalah contoh dari antibiotik yang menghambat pembentukan dinding sel dengan menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba (Rollando, 2019).

b. Antibakteri yang Merusak Membran Sel

Kelompok peptida antibakteri yang memodifikasi permeabilitas membran sel mikroorganisme. Kerusakan pada

membran sitoplasma menghambat pertumbuhan sel karena membran sitoplasma berfungsi untuk mempertahankan bagian-bagian tertentu dari sel dan mengatur difusi bahan-bahan penting serta membangun keutuhan komponen seluler (Rollando, 2019)

c. Antibakteri yang Menghambat Sintesis Protein

Agen antibakteri ini bekerja dengan cara mengikat subunit ribosom 30S atau bakteri ribosom 50S dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dan menyebabkan kesalahan pembacaan mRNA, sehingga kemungkinan bakteri tidak dapat mendeteksi proses sintesis protein untuk pertumbuhannya (Rollando, 2019).

d. Antibakteri yang Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Agen antibakteri ini bekerja dengan menghambat transkripsi dan replikasi mikroorganisme, sehingga menghambat sintesis asam nukleat (Rollando, 2019).

e. Antibakteri yang Menghambat Sintesis Metabolit Esensial

Antibakteri ini bekerja dengan adanya zat yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme karena mereka memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal untuk enzim metabolisme. Seperti sulfonamida yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA, dapat memblokir sintesis asam folat, yang merupakan asam amino esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin (Rollando, 2019).

8. Metode Pengujian Antibakteri

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan metode *in vitro*, yang berarti dalam bahasa latin ialah “diluar organisme hidup” yang mengacu pada penelitian menggunakan media pembiakan mikroorganisme. Pada penelitian ini menggunakan bakteri *Salmonella typhi* dan menggunakan berbagai macam konsentrasi ekstrak kulit batang mahoni (*Swietenia macrophylla King*). Pengujian bakteri dapat menggunakan metode dilusi dan metode difusi (Nurhayati *et al.*, 2020).

a. Metode Difusi

Prinsip kerja dari metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam *media* padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. (Balaouri *et al.*, 2016). Dalam menggunakan metode difusi dijabarkan beberapa macam metode seperti metode *disk diffusion* (Kirby Bauer), *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*.

1) Metode *disk diffusion* (Kirby Bauer)

Pada difusi cakram dilakukan dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba, kemudian dijenuhkan ke dalam bahan yang akan di uji. Selanjutnya kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, kemudian di inkubasikan selama 18-24 jam dengan suhu 35°C. Untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri akan terlihat area bening di sekitar kertas cakram. Kelebihan dari metoda cakram adalah mudah

dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan lebih relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran pada zona bening yang terbentuk tergantung pada kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, preinkubasi, dan ketebalan medium (Prayoga, 2013). Efektivitas agen mikroba ditunjukkan dengan adanya zona penghambatan yang terbentuk di sekitar disk setelah inkubasi. Semakin besar zona hambat, semakin sensitif koneksinya (Rollando, 2019).

2) Metode Sumuran (*Cup-Plate Technique*)

Dalam metode sumuran dilakukan pembuatan suatu lubang dan diinkubasikan pada media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri kemudian ditunggu sesuai waktu uji bakteri kemudian dilakukan pengamatan terhadap ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekeliling lubang (Amalia, 2017). Kelebihan dari metode sumuran yaitu lebih mudah saat mengukur luas zona hambat yang terbentuk, karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrien agar tetapi juga sampai ke bawah (Nurhayati., *et al* 2020)

3) Metode Parit (*Ditch-Plate Technique*)

Pada metode ini dihasilkan adanya zona hambat yang telah terbentuk dari media agar yang telah diinokulasi oleh bakteri. Ketika melakukan inkubasi diperlukan waktu dan suhu yang sesuai dalam uji bakteri (Amalia, 2017).

b. Metode Dilusi

Metode dilusi terbagi menjadi 2 yaitu: dilusi cair dan dilusi padat. Pada metode dilusi cair dibuat dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Pada metode dilusi padat dilakukan dengan cara menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba.

Metode dilusi merupakan metode yang berfungsi untuk mengetahui potensi dari senyawa yang diuji terhadap aktivitas bakteri dengan mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Fatsia, 2013). Prinsip Kerja dari metode dilusi adalah melarutkan senyawa yang dianggap mengandung antibakteri ke dalam media agar, kemudian ditanami bakteri yang akan diuji dan selanjutnya di inkubasi semalam pada suhu 37°C (Soleha, 2015). Keuntungan metode dilusi adalah suatu konsentrasi agen antimikroba yang akan diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Fitriana et al., 2020).

Tabel 2.1.1 Kekuatan antibakteri dapat dibagi menjadi 4 kriteria antara lain (Buldani *et al.*, 2017).

No	Diameter Zona Hambat (mm)	Kekuatan Antibakteri
1.	≤ 5	Lemah
2.	5-10	Sedang
3.	10-2	Kuat

4.	≥ 20	Sangat Kuat
----	-----------	-------------

KHM adalah konsentrasi minimal zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah di inkubasi selama 24 jam dan dilihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh dengan cara mengamati seberapa luas kejernihan pada media terhadap banyaknya koloni bakteri yang tumbuh. (Mochammad, 2019)

KBM adalah konsentrasi terkecil dari zat antimikroba yang dapat membunuh bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam dengan cara mengukur zona bening yang terlihat disekitar disk pada media padat atau larutan bening pada media cair. (Mochammad, 2019)

9. Antibiotik Kloromfenikol

Pada penelitian ini digunakan antibiotik kloromfenikol sebagai kontrol positif. Kontrol positif digunakan sebagai zona hambat sebagai gambaran terbunuhnya bakteri uji. Kloramfenikol merupakan suatu senyawa antibiotik yang pertama kali diisolasi pada tahun 1947 dari *Streptomyces venezuelae* yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri (FKUI, 2012). Berdasarkan dari hasil penelitian analisis costeffectiveness penggunaan kloramfenikol lebih direkomendasikan dari pada antibiotik seftriakson dan sefiksim karena dapat dilihat dari cepatnya penurunan demam dari pasien (Dewi *et al.*, 2019). Berdasarkan data dari CDC (*Central of Disease Control*) dapat disebutkan terdapat sekitar 2 juta kasus resistensi antibiotik dan 23.000 kasus yang diantaranya mengakibatkan masyarakat meninggal dunia

akibat resistensi antibiotik (CDC, 2013). Resistensi antimikroba terhadap bakteri memiliki beberapa mekanisme, bakteri akan menghasilkan enzim laktamase sehingga terjadi perubahan target antimikroba yang menyebabkan kekurangan *Penicilins Binding Protein* (PBP). Bakteri menghasilkan inaktivator berupa enzim kloramfenikol asetil transferase yang dapat mengakibatkan perubahan target dari antimikroba serta akan membatasi dan mengeluarkan antimikroba dari sitoplasma. Perubahan permeabilitas dan perubahan target akibat inaktivasi berupa enzim yang menghambat kerja antibiotika, pengaturan gen represor dan melalui aktif efluks. Bakteri dapat menjalankan fungsi metabolismenya dengan meningkatkan sintesis PABA yang digunakan untuk melawan efek sulfonamida dan perubahan pada enzim reduktase asam dehidrofolat (Munita and Arias, 2016).

10. DMSO

Pada penelitian ini menggunakan DMSO sebagai kontrol negatif. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dan digunakan sebagai pelarut untuk pembuatan larutan kontrol positif dan pembuatan larutan uji. *Dimethylsulfoxide* (DMSO) adalah suatu bahan yang biasa digunakan pada industri obat yang tidak memiliki sifat bakterisidal. DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar. DMSO berfungsi sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu (Assidqi *et al.*, 2012).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Penentuan Lokasi, Waktu dan Sasaran Penelitian

1. Lokasi

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sari Mulia Banjarmasin

2. Waktu

Waktu penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai Oktober 2021

3. Sasaran Penelitian

Sasaran penelitian ini adalah ekstrak bunga pinang yang berpotensi sebagai antibakteri

B. Metode Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian *true eksperimen*. *True eksperimen* digunakan untuk mengetahui hubungan sebab akibat dimana ada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Hasil yang diperoleh dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Suryabrata, 2011).

2. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bejana maserasi, alat-alat gelas, batang pengadung, kertas saring, neraca analitik, pipet volume, aluminium foil, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, *rotary evaporator*, water bath, plat KLT, *Chamber*, dan spektrofometer UV-vis. seperangkat alat maserasi, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur (Pyrex), gelas beker (Pyrex), cawan petri, erlenmayer, ayakan, vortex, timbangan analitik, kain flanel, kertas saring, aluminium foil, plastik wrap (*wrapping plastic*) pisau, gunting, sarung tangan, masker, tisu, kertas label, serbet, jangka sorong, sudip, lampu spiritus, kawat oce, spatula, batang L, mikropipet, pinset, pipet volume, BSC (*Bio Safety Cabined*), *colony counter*, hot plate, magnet stirer, lemari pendingin, *Freeze drying*.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pinang (*Areca cetechu L.*), etanol 70%, reagen dragendroff, liberman burchard, reagen mayer, serbuk Mg, SbCl₃, HCl pekat, anhidrat asetat, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 1%, aquadest, HCl 2 N, FeCl 5%, kloroform, etil asetat, n-butanol, AlCl₃, kuersetin, metanol p.a,

DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hidrazyl*), dan metanol. etanol 96%, aquadest, Mullen Hinton Agar (MHA), Natrium Borth (NB), *Tryptone Soya Agar* (TSA), ekstrak kental kulit kayu mahoni (*Swietenia Macrophylla King*), bakteri *E. coli.*, *S. aureus*, antibiotik Kloromfenikol, DMSO 10 %, NaCL, H₂SO₄ 1 %, BaCl 1%.

3. Prosedur Kerja

a. Penyiapan Sampel

Sampel bunga pinang (*Areca catechu L.*) diperoleh dari daerah Kabupaten Banjar, Kalimantan selatan. Sampel bunga pinang (*Areca catechu L.*) yang telah diambil sebanyak 2 kg disortasi basah, dan dicuci hingga bersih, Selanjutnya, bunga pinang dirajang dan dikeringkan pada tempat yang tidak terkena matahari langsung dengan cara diangin-anginkan kurang lebih 4-7 hari sambil sesekali dibolak balik untuk meratakan pengeringannya. Selanjutnya sampel yang telah kering disortasi kering hingga diperoleh simplisia kering sebanyak 235 g yang siap untuk dilanjutkan pada tahap berikutnya.

b. Pembuatan Ekstrak Bunga Pinang (*Areca catechu L.*)

Simplisia bunga pinang (*Areca catechu L.*) kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi dingin yang paling sederhana dan banyak digunakan dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain. Metode ini dilakukan dengan merendam

simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Simplisia dimasukkan dalam bejana maserasi, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% hingga simplisia terendam seluruhnya dan jumlah pelarut melebihi batas simplisia. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 4 x 24 jam ditempat yang terhindar dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring dan dipisahkan antara ampas dan filtrat. Simplisia yang sudah disaring diekstraksi kembali menggunakan etanol 70% yang baru sampai larutan berwarna bening. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian diuapkan di *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh dihitung rendemennya (Alwi, 2017).

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot total ekstrak (g)}}{\text{Bobot serbuk simplisia total (g)}} \times 100\%$$

c. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) secara kualitatif, uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder. Golongan senyawa metabolit sekunder yang akan diuji adalah alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin, dan saponin menggunakan uji reaksi warna. Jika hasil uji menggunakan pereaksi warna pada senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin positif, maka dilanjutkan pengujian menggunakan metode KLT kemudian dihitung nilai RF (*retardation factor*). Nilai Rf didapatkan dari pengukuran jarak rambat

senyawa dari titik awal hingga pusat bercak dibagi dengan jarak rambat fase gerak hingga garis depan (Hanani, 2014).

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat senyawa dari titik awal penotolan hingga pusat bercak}}{\text{Jarak rambat fase gerak dari titik awal penotolan hingga garis depan}}$$

1) Uji Reaksi Warna

a) Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid dapat dilakukan dengan menyiapkan 2 tabung reaksi dimana masing-masing tabung dimasukkan ekstrak bunga pinang (*Areca cetechu* L.) sebanyak 1 mL, kemudian tabung reaksi pertama ditambahkan 3 tetes reagen mayer dan tabung reaksi yang kedua ditambahkan 3 tetes reagen dragendrof. Jika terbentuk endapan putih setelah ditambahkan pereaksi mayer menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Petrina *et al.*, 2017), dan jika terbentuk perubahan warna menjadi oranye mendekati merah setelah ditambahkan pereaksi dragendorff menunjukkan adanya alkaloid (Wardhani & Supartono, 2015).

b) Uji Flavonoid

Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan memasukkan ekstrak bunga pinang (*Areca cetechu* L.) sebanyak 1 ml kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika terjadi warna jingga, merah muda sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Hidayah *et al.*, 2019).

c) Uji Triterpenoid

Identifikasi senyawa triterpenoid pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan dengan memasukkan ekstrak sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan $SbCl_3$ dalam kloroform dan asam anhidrat kedalam tabung. Jika terbentuk warna merah muda menandakan adanya senyawa triterpenoid (Ulfa, 2016).

d) Uji Steroid

Identifikasi senyawa steroid pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan dengan memasukkan ekstrak sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 1 mL kloroform, 1 mL asetat anhidrat dan 1 mL H_2SO_4 pekat. Larutan dikocok perlahan dan biarkan selama beberapa menit. Terbentuknya warna biru atau hijau terdapat cincin menandakan adanya steroid (Ulfa, 2016).

e) Uji Tannin

Identifikasi senyawa tannin pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan dengan memasukkan ekstrak sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 3 tetes $FeCl_3$ 5%. Terbentuknya warna biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin (Ulfa, 2016).

f) Uji Saponin

Identifikasi senyawa saponin pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan dengan memasukkan ekstrak

sebanyak 1 mL kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 5 mL aquadest panas lalu didinginkan. Selanjutnya campuran dikocok sampai muncul buih dan didiamkan selama 2 menit. Kemudian ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok lagi sampai terbentuk buih yang bertahan selama 10 menit. Terbentuknya buih tersebut menandakan hasil positif adanya saponin (Parwati *et al.*, 2014).

2) Uji KLT

a) Uji Alkaloid

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas atas dan diberi jarak 1,5 cm dan pada tanda batas bawah diberi tanda batas 1 cm. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukan ke *chamber* yang berisi eluen etil asetat : metanol : air dengan perbandingan 16:1:2 yang telah dijenuhkan selama 15 menit. Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah diberi tanda sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Kemudian dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm untuk melihat bercaknya. Jika bercak tidak terlihat maka bisa disemprot menggunakan pereaksi dragendroff (Widyaningsih *et al.*, 2016). Hasil positif menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna jingga setelah disemprot dengan

pereaksi dragendroff. Berwarna biru, biru hijau atau ungu jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm tanpa pereaksi kimia.

b) Uji Flavonoid

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas atas dan diberi jarak 1,5 cm dan pada tanda batas bawah diberi tanda batas 1 cm. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukan ke *chamber* yang berisi eluen kloroform: etil asetat : butanol dengan perbandingan 1:4:5 yang telah dijenuhkan selama 15 menit (Arel *et al*, 2018). Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah diberi tanda sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Kemudian dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm untuk melihat bercaknya. Jika bercak tidak terlihat maka bisa disemprot menggunakan $AlCl_3$ (aluminium klorida). Hasil positif menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan $AlCl_3$ dan berwarna biru jika dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm (Atmajani, 2019)..

c) Uji Tannin

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas atas dan diberi jarak 1,5 cm dan pada tanda batas bawah diberi tanda batas 1 cm. Sampel ditotolkan pada plat KLT

menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukan ke *chamber* yang berisi eluen n-butanol : etil asetat : air dengan perbandingan 4:1:5 yang telah dijenuhkan selama 15 menit (Sari *et al*, 2015). Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah diberi tanda sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Kemudian dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm untuk melihat bercaknya. Jika bercak tidak terlihat maka bisa disemprot menggunakan FeCl₃ 1%. Hasil positif menunjukkan adanya kandungan senyawa tannin ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna hitam dibawah sinar UV 366 nm (Atmajani, 2019).

d) Uji Saponin

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas atas dan diberi jarak 1,5 cm dan pada tanda batas bawah diberi tanda batas 1 cm. Sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukan ke *chamber* yang berisi eluen N-butanol : air dengan perbandingan 1 : 1 yang telah dijenuhkan selama 15 menit (Firawati & Pratama, 2018). Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah diberi tanda sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Kemudian dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm untuk melihat bercaknya. Jika bercak tidak terlihat maka bisa disemprot

menggunakan pereaksi lieberman burchard. Hasil positif menunjukkan adanya kandungan senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna hijau setelah penyemprotan. (Rikomah & Elmitra, 2017).

3). Pembuatan Media

Sebelum dilakukannya uji aktivifitas pada bakteri terlebih dahulu dilakukan pembuatan media antara lain media TSA untuk peremajaan bakteri, Media NB untuk penanaman bakteri dan media MHA untuk uji aktivitas antibakteri.

a. Pembuatan Media *Tryptone Soya Agar* (TSA)

Pada pembuatan media TSA dilakukan penimbangan sebanyak 6 gram media TSA kemudian dilarutkan dalam 150 ml aquadest di erlenmayer dan ditutup menggunakan alumunium foil, Selanjutnya dilakukan pemanasan dengan hot plate sambil diaduk *magnetic stirrer* hingga homogen sampai mendidih. Kemudian media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Retnowari, 2011). Media TSA yang telah disterilkan kemudian dituang dalam cawan petri dan didiamkan pada suhu kamar hingga media memadat.

b. Nutrient Borth (NB)

Nutrient Borth (NB) ditimbang sebanyak 0,16 gram kemudian dilarutkan dengan 20 ml aquadest dan diletakkan pada erlenmayer selanjutnya dipanaskan menggunakan hot plate magnetic stirrer hingga NB terlarut. Setelah larut media dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup menggunakan kapas kemudian media dapat dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Rosmania & Yanti, 2020).

c. Media MHA (*Muller Hilton Agar*)

Media MHA (*Muller Hilton Agar*) ditimbang sebanyak 6,8 gram kemudian media dilarutkan dalam 170 ml aquadest kedalam erlenmayer lalu dipanaskan menggunakan hot plate magnetic stirrer hingga tercampur atau homogen, kemudian erlenmayer dapat ditutup dengan kapas dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Selanjutnya media dituang ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan dan dapat didiamkan pada suhu kamar hingga media memadat atau mengeras (Utomo *et al.*, 2018)

- 1) Aktivitas Antibakteri bunga pinang
 - a) Peremajaan Bakteri

Pada peremajaan bakteri bertujuan untuk Peremajaan bakteri dilakukan untuk mendapatkan biakan bakteri yang baru dan muda sehingga mampu berkembang biak dengan baik dan dapat digunakan sesuai fungsinya (Ismail, 2017). Peremajaan bakteri juga bertujuan untuk menarik bakteri baru agar dapat berkembang biak dengan baik dan mendapatkan bakteri yang aktif, karena bakteri yang digunakan adalah bakteri yang berasal dari lemari pendingin berada dalam kondisi inaktif sehingga menjadi kurang optimal jika digunakan dalam pengujian. Selain itu peremajaan bakteri bertujuan agar mendapatkan biakan bakteri yang baru dan muda sehingga mampu berkembang biak dengan baik dan digunakan sesuai fungsinya. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* bakteri diambil dengan jarum dan mengoleskan keseluruhan permukaan cawan petri yang berisi media TSA dan digores secara zig-zag. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Rosmania dan Yanti, 2020).

A) Inokulasi Bakteri

Setelah dilakukannya peremajaan bakteri, bakteri siap dimasukkan ke Inokulasi. Inokulasi bakteri adalah pemindahan bakteri dari media lama (TSA) ke media baru (NB) dalam bentuk cair untuk memudahkan perpindahan bakteri. Proses inokulasi bakteri dimulai dengan menggunakan jarum oce diambil 1 oce suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* media (TSA) dimasukkan kedalam media cair (NB). Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C (Jannah *et al.*, 2017).

b) Pembuatan Larutan Standar Mc Farland

Pada pembuatan larutan Standar kekeruhan Mc Farland dibuat dengan mencampurkan BaCl 1% sebanyak 0,05 ml dan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml, kemudian dihomogenkan dengan alat vortex (Rosmania & Yanti, 2020)

c) Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* yang telah diinokulasi kemudian disuspensikan dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% menggunakan jarum tulang steril sampai larutan keruh

sesuai standar yang telah ditetapkan (Muljono *et al.*, 2016)

d) Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif digunakan dibuat dari sediaan obat antibiotik kloramfenikol dengan cara sebanyak 250 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades steril. Kemudian kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% (Ngantung *et al.*, 2017). Ekstrak kental bunga pinang diencerkan aquades steril (Assidqi *et al.*, 2012)

e) Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak kental dari bunga pinang dengan konsentrasi 100mg/ml, 300mg/ml, 500 mg/ml, 700 mg/ml, dan 1000 mg/ml dengan menggunakan pelarut aquadest steril sebanyak masing-masing 100 ml. Pada konsentrasi 500 mg/ml diambil sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dengan aquadest steril 100 ml, pada konsentrasi 750 mg/ml diambil sebanyak 7,5 gram dilarutkan dengan aquadest steril 100 ml. Kemudian pada konsentrasi 1000 mg/ml diambil sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dengan 100 ml aquadest.

1) Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak bunga pinang

a) Metode Difusi

Pada uji aktivitas antibakteri dilakukan di BSC (*Bio Safety Cabinet*) dengan kondisi yang steril menggunakan metode difusi sumuran (*Cup-Plate Technique*). Metode Sumuran (*Cup-Plate Technique*) digunakan karena terbilang ekonomis dan praktis (Amalia., 2017). Pada lempeng agar dimasukkan 20 μ L suspensi bakteri dan disebar ,enggunakan batang L. Kemudian dibuat suatu lubang yang kemudian dimasukkan dengan masing- masing konsentrasi ekstak bunga pinang yang digunakan. Kemudian dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekitar atau disekitar lubang (Angelina *et al.*, 2015).

b) Metode Dilusi

Pada pengujian dilusi bertujuan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Pengujian dilakukan dengan memasukkan ekstrak bunga pinang sesuai dengan konsentrasi yang telah ditetapkan yaitu 100mg/ml, 300mg/ml, 500 mg/ml, 700 mg/ml dan 1000 mg/ml kedalam tabung reaksi yang sudah disterilkan, kemudian setiap tabung *ditambahkan* dengan suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan standar Mc. Farland 0,5.

Selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Diamati kekeruhannya dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu (Antibiotik Kloramfenikol) dan kontrol negatif (DMSO 10%). KHM merupakan konsentrasi yang paling rendah yang akan menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada tabung uji (Noval *et al.*, 2019).

Pengujian yang dilakukan pada penentuan KBM, diambil 20 µL dari masing masing tabung perlakuan KHM dan dituangkan pada media padat kemudian disebar menggunakan teknik *spread* memakai batang L, Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan 3 kali replikasi. Amati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada dengan menghitung jumlah koloni bakteri menggunakan *colony counter*. KBM adalah konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media padat (Mahdiyah *et al.*, 2020)

C. Analisis Data

Analisis data hasil penelitian ini dilakukan secara deskriptif serta menggunakan Uji *One Way Anova* yg adalah salah satu berasal uji parametrik dan dipilih karena di penelitian ini terdapat lebih dari dua kelompok variabel. Syarat uji *One Way Anova* artinya data penelitian terdistribusi normal serta merata atau homogen. Jika nilai signifikansi data $>0,05$ ($p > 0,05$) maka data

terdistribusi normal. namun jika nilai signifikansi data $<0,05$ ($p < 0,05$) maka data tidak terdistribusi secara normal. Untuk mengetahui kehomogenitasan data, dapat dilakukan uji homogenitas varian dengan menggunakan *Lavene Test Homogeneity of Variance*. Data yang homogen apabila didapatkan nilai signifikansi $> 0,05$ ($p > 0,05$). Jika salah satu atau semua syarat tersebut tidak terpenuhi maka analisis data tidak menggunakan uji parametik *One Way Anova* melainkan analisis data non parametik menggunakan uji *Kruskal Wallis* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc Mann-Whitney* (Desmara dkk., 2017).

Analisis data pada penelitian ini menggunakan media aplikasi *Statistical Package for The Social Sciences* (SPSS). Analisis data pada penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya perbedaan pada semua konsentrasi ekstrak yang telah diinkubasi selama 24 jam, kemudian melihat ada atau tidaknya perbedaan pada kedua konsentrasi tersebut untuk menghambat bakteri *salmonella typhi*.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Penyiapan Sampel

Sampel yang diperoleh sebanyak 2 kg dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan sortasi kering. Hasil simplisia kering yang diperoleh sebanyak 235 g.

2. Ekstraksi Sampel

Simplisia kering bunga Pinang (*Areca catechu* L.) sebanyak 235 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi selama 4 x 24 jam menghasilkan ekstrak kental sebanyak 11,45 g.

Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi total Bunga Pianang (*Areca catechu* L.)

Nama Simplisia	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Bunga Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	235	11,45	4,87

3. Skrining Fitokimia

a. Hasil Uji dengan Pereaksi Warna

Dari beberapa pengujian yang dilakukan pada skrining fitokimia menggunakan uji pereaksi warna didapatkan hasil ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) positif mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, tannin, dan saponin, sedangkan untuk hasil triterpenoid negatif.

Tabel 4.2 Uji dengan Pereaksi Warna

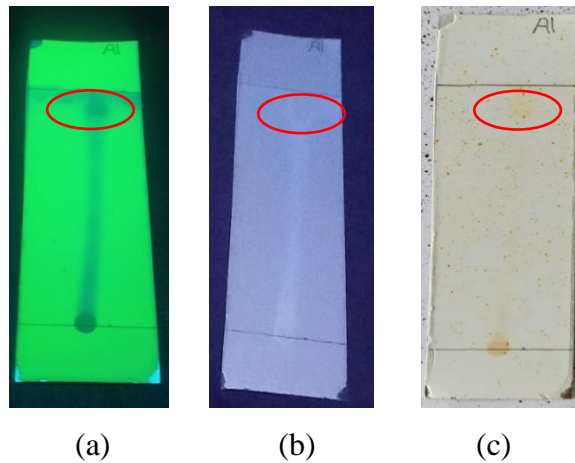
Senyawa	Pereaksi	Hasil Positif Menurut Pustaka	Hasil Uji
Alkaloid	Dragendroff	Terbentuk warna orange mendekati merah dan endapan	(+) Positif
	Mayer	Terbentuk endapan putih	(+) Positif
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	Terjadi perubahan warna jingga, merah muda hingga merah	(+) Positif
Triterpenoid	SbCl ₃ dalam kloroform + asam anhidrat	Terjadi perubahan warna merah muda	(-) Negatif
Steroid	Kloroform + asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	Terjadi perubahan warna biru atau hijau terdapat cincin	(+) Positif
Tannin	FeCl ₃ 5%	Terjadi perubahan warna biru atau hitam kehijauan	(+) Positif
Saponin	Aquadest panas + HCl 2 N	Adanya busa yang bertahan selama 10	(+) Positif

menit

Keterangan : tanda + : terkandung senyawa
tanda - : tidak terkandung senyawa

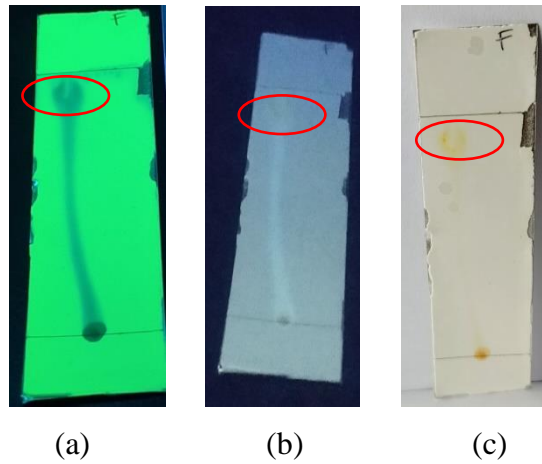
b. Hasil Uji KLT

1. Alkaloid



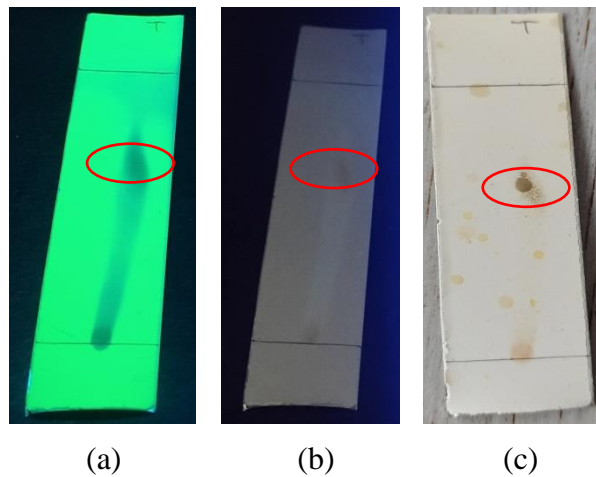
Gambar 1 Hasil KLT dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) menunjukkan adanya alkaloid ditandai dengan muncul bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna jingga setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

2. Flavonoid



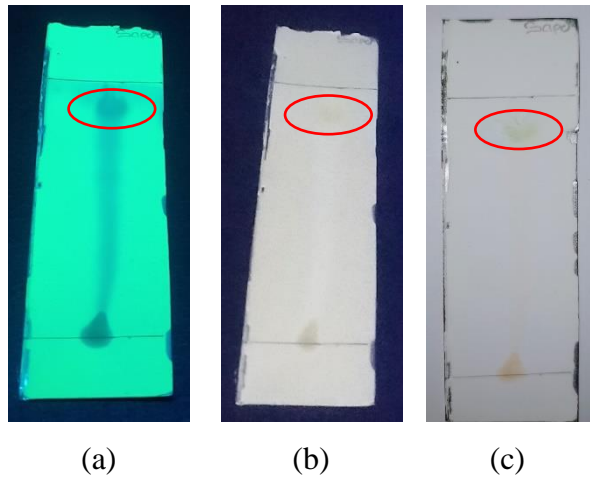
Gambar 2 Hasil KLT dengan eluen kloroform : etil asetat : butanol (1:4:5) menunjukkan adanya flavonoid ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan pereaksi AlCl_3 .

3. Tannin



Gambar 3 Hasil KLT dengan eluen metanol : etil asetat (4:1) menunjukkan adanya tannin ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna hitam setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 .

4. Saponin



Gambar 4 Hasil KLT dengan eluen N-butanol : air (4:4) menunjukkan adanya tannin ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm, (b) bercak pada sinar UV 366 nm, (c) bercak berwarna hitam setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman burchard

4. Aktivitas Antibakteri

Tabel 4.3 Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi

Bakteri Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Rata-rata (mm)
<i>E. coli</i>	100	12.22	7.07	7.3	8.86
	300	7.12	12.71	7.6	9.14
	500	17.41	8.23	9.24	11.63
	700	16.79	8.37	7.31	10.82
	1000	15.96	10.3	9.42	11.89
	+	7.45	8.02	7.55	7.67
	-	0	0	0	0

Keterangan :

Kontrol Positif : Kloramfenikol dan suspensi bakteri

Kontrol Negatif : DMSO 10% dan suspensi bakteri

Tabel 4.4 Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi

Bakteri Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	Rata-rata (mm)
<i>S. aureus</i>	100	7.02	7.07	4.26	6.12
	300	6.33	8.66	6.82	7.27
	500	7.38	9.05	7.75	8.06
	700	15.28	6.1	10.73	10.70
	1000	7.4	10.12	10.3	9.27
	+	8.55	7.28	9.26	8.36
	-	0	0	0	0

Keterangan :

Kontrol Positif : Kloramfenikol dan suspensi bakteri

Kontrol Negatif : DMSO 10% dan suspensi bakteri

Tabel 4.5 Hasil Penelitian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak bunga pinang Terhadap bakteri *E.coli*

Variasi Konsentrasi	Replikasi			<i>p value</i>
	I	II	III	
Konsentrasi 100mg/ml	Keruh	Keruh	Keruh	0,074*
Konsentrasi 300mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Konsentrasi 500mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Konsentrasi 700mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Konsentrasi 1000mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Kontrol Positif	Jernih	Jernih	Jernih	
Kontrol Negatif	Keruh	Keruh	Keruh	

Keterangan :

*nilai signifikansi dari pengujian *Kruskal-Wallis Test*

Kontrol Positif : Kloramfenikol dan suspensi bakteri

Kontrol Negatif : DMSO 10% dan suspensi bakteri

Tabel 4.6 Hasil Penelitian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak bunga pinang Terhadap bakteri *S. aureus*

Variasi Konsentrasi	Replikasi			<i>p value</i>
	I	II	III	
Konsentrasi 100mg/ml	Keruh	Keruh	Keruh	0.001
Konsentrasi 300mg/ml	Keruh	Keruh	Keruh	
Konsentrasi 500mg/ml	Keruh	Keruh	Keruh	
Konsentrasi 700mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Konsentrasi 1000mg/ml	Jernih	Jernih	Jernih	
Kontrol Positif	Jernih	Jernih	Jernih	
Kontrol Negatif	Keruh	Keruh	Keruh	

Keterangan :

* nilai signifikansi dari pengujian *Kruskal-Wallis Test*

Kontrol Positif : Kloramfenikol dan suspensi bakteri

Kontrol Negatif : DMSO 10% dan suspensi bakteri

B. Pembahasan

1. Skrinning Fitokimia

a. Uji Perekasi warna

Berdasarkan hasil uji menggunakan pereaksi warna diketahui bahwa ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tanin dan saponin. Senyawa alkaloid pada uji dengan pereaksi dragendorff ditandai dengan terbentuknya warna orange mendekati merah dan ada endapan, sedangkan pada uji dengan pereaksi mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Hasil positif karena adanya pergantian ligan, atom nitrogen yang mempunyai pasangan

elektron bebas pada alkaloid menggantikan ion iod dalam pereaksi dragendorff dan mayer (Purwati, 2017)..

Pada senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning jingga yang menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron setelah ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat bertujuan untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman terputus sehingga flavonoid bisa diidentifikasi (Purwati *et al*, 2017).

Pada senyawa steroid hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin warna hijau. Peristiwa ini menunjukkan adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa steroid. Kemudian pada senyawa tanin ditandai dengan biru atau hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 5% yang menunjukkan hasil positif. Hal ini terjadi karena tanin yang terdapat dalam ekstrak bereaksi dengan ion Fe^{3+} dari pereaksi yang membentuk senyawa kompleks (Purwati *et al*, 2017).

Pada senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang bertahan selama 10 menit, setinggi 1-10 cm ditambahkan HCl 2 N buih tidak hilang. Terbentuknya buih terjadi karena adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Nugrahani *et al*, 2016). Hasil negatif pada uji senyawa triterpenoid dengan tidak terbentuknya warna merah muda. Hal ini terjadi karena pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi memiliki sifat polar. Senyawa triterpenoid adalah senyawa yang bersifat non polar, sehingga pada uji hasil yang didapatkan negatif karena

senyawa tersebut tidak dapat terekstraksi sempurna pada pelarut yang digunakan (Ergina *et al*, 2014).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hidayah *et al*, (2019) pada bagian lain dari tanaman pinang yaitu uji fitokimia ekstrak kulit buah pinang sirih muda dan tua mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, steroid dan fenolik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Petrina *et al*, (2017) menyebutkan bahwa kulit biji pinang sirih mengandung senyawa flavonid, alkaloid, fenolik dan triterpenoid. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Rairisti (2014) menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu L.*) mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid.

b. Uji KLT

Setelah dilakukan skrining fitokimia ekstrak bunga pinang (*Areca catechu L.*) kemudian dilakukan uji menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mempertegas hasil positif yang diperoleh dari skrining fitokimia menggunakan pereaksi warna (Yuda *et al*, 2017). Senyawa yang diuji menggunakan KLT adalah senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, saponin (Ahmad *et al*, 2015) dan tannin (Karina *et al*, 2016). Bercak noda pada plat KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm dan 254 nm. Pada pengamatan sinar UV 366 nm menghasilkan bercak noda yang berpendar dengan latar belakang yang gelap, sehingga dapat dilihat noda berpendar (berflouresensi) secara visual, dan pada pengamatan 254 nm lempeng yang berflouresenis dan sampel akan terlihat berwarna gelap. Kemudian

disemprot menggunakan pereaksi semprot berdasarkan senyawa yang diidentifikasi.

1) Alkaloid

Uji KLT pada senyawa alkaloid dilakukan menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : air (16:1:2) dan menggunakan penampak bercak dragendorff. Hasil setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm terdapat bercak dan pada sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna kuning. Kemudian bercak disemprot menggunakan pereaksi dragendorff untuk menampakkan bercak. Setelah penyemprotan terdapat bercak berwarna jingga yang dapat dilihat secara langsung. Bercak berwarna jingga tersebut menandakan hasil positif adanya senyawa golongan alkaloid pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.). nilai Rf yang diperoleh setelah dihitung adalah 0,67 cm.

2) Flavonoid

Uji KLT pada senyawa Flavonoid dilakukan menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : butanol (1:4:5) dan menggunakan penampak bercak $AlCl_3$ (Areal *et a.*, 2018). Hasil setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm terdapat bercak dan pada sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna kuning. Kemudian bercak disemprot menggunakan pereaksi $AlCl_3$ untuk menampakkan bercak. Setelah penyemprotan menggunakan $AlCl_3$ terdapat bercak berwarna kuning yang dapat dilihat secara langsung. Bercak berwarna kuning tersebut menandakan hasil positif adanya senyawa golongan flavonoid pada

ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) dengan nilai Rf yang diperoleh setelah dihitung adalah 0,65 cm.

3) Saponin

Uji KLT pada senyawa saponin dilakukan menggunakan fase gerak N-butanol : air (1:1) dan menggunakan pereaksi lieberman bouchard untuk penampak bercak. Hasil positif dilihat dengan sinar UV 366 nm terdapat bercak berwarna biru dan pada sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna kuning. Kemudian di semprot dengan pereaksi Lieberman bouchard untuk membuktikan bercak dari senyawa saponin (Firawati & Pratama, 2018). Setelah penyemprotan terlihat bercak berwarna hijau yang menandakan hasil positif adanya saponin dengan nilai Rf yang diperoleh setelah dihitung adalah 0,61 cm.

4) Tanin

Uji KLT pada senyawa tanin dilakukan menggunakan fase gerak n-butanol : etil asetat : air (4:1:5) dan menggunakan penampak bercak FeCl_3 (Sari, *et al*, 2015). Hasil setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm terdapat bercak dan pada sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna kuning. Kemudian bercak disemprot menggunakan FeCl_3 untuk menampakkan bercak. Setelah penyemprotan terdapat bercak berwarna hitam yang dapat dilihat secara langsung (Atmajani, 2019). Bercak berwarna hitam tersebut menandakan hasil positif adanya senyawa golongan tanin pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.). Nilai Rf yang diperoleh setelah dihitung adalah 0,4 cm.

2. Aktivitas Antibakteri

Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar paper disc. Terbentuknya zona hambat menunjukkan adanya indikasi aktivitas terhadap antibakteri. Hal ini terlihat dari hasil uji aktivitas antibakteri pada ekstrak bunga pinang dengan variasi konsentrasi 100, 300, 500, 750 dan 1000 mg/mL untuk bakteri uji *E.coli* dan *S.aureus* yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2. Pada *E. coli* zona hambat terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 1000mg/ml yaitu 11,89 mm, sedangkan pada *S. aureus* zona hambat terbesar pada konsentrasi 700mg/ml yaitu 10,70 mm. Pinang memiliki khasiat medis, diantaranya memiliki efek terapi seperti antihelminthes, anti-oksidan, antihipertensi, antimikrobia dan penyembuh luka (Baiti et al., 2018). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan uji dengan pereaksi warna, ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin. Uji dengan KLT menunjukkan bahwa ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid nilai Rf 0,67 cm, flavonoid nilai Rf 0,65 cm, tannin nilai Rf 0,4 cm, dan saponin nilai Rf 0,61 cm. Dari hasil fitokimia yang didapatkan bahwa ekstrak bunga pinang memiliki potensi sebagai agent antimikroba. Hal ini sejalan dengan penelitian ekstrak daun dadangkak (*Hydrolea spinosa* L.) memiliki metabolit sekunder flavonoid, triterpen, saponin dan tanin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Darsono & M, 2020).

Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang digambarkan sebagai efek bakteriostatik. Sedangkan metode dilusi padat digunakan untuk mengukur Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang digambarkan sebagai efek bakterisida (Selpiah & Ustiawaty, 2021). Metode

dilusi dapat digunakan untuk menentukan kemampuan suatu senyawa antibakteri secara kualitatif dan kuantitatif, sedangkan metode difusi khusus menentukan kemampuan senyawa antibakteri secara kuantitatif (Zada, 2021). Adapun hasil uji KHM ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu L.*) dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat pada tabel 3. Nilai KHM terdapat pada konsentrasi 500mg/ml yaitu dengan ditunjukkan kejernihan pada ekstrak bunga pinang. Berdasarkan analisis dengan Kruskal Wallis diperoleh nilai $p=0.074$ artinya aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang tidak berpengaruh terhadap *E. coli*. Berdasarkan uji homogenitas data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *S. aureus* homogen dengan nilai $p=0,086$ dan data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *E. coli* tidak homogen dengan nilai $p=0.005$.

Adapun hasil uji KHM ekstrak biji buah pinang (*Areca catechu L.*) dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dapat dilihat pada tabel 4. Nilai KHM terdapat pada konsentrasi 700mg/ml yaitu dengan ditunjukkan kejernihan pada ekstrak bunga pinang. Berdasarkan analisis ANOVA diperoleh nilai $p=0.001$ artinya ekstrak bunga pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus*. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan Tukey HSD konsentrasi 100, 300, 500, control positif, 1000, dan 700 memiliki aktivitas antibakteri yang sama terhadap *S. aureus* sedangkan kontrol negative memiliki aktivitas antibakteri yg berbeda. Berdasarkan uji lanjut diperoleh nilai $p=0.160$ artinya aktivitas antibakteri tidak ada perbedaan secara signifikan antar masing-masing konsentrasi.

Pengujian daya bunuh bakteri dilanjutkan dari hasil KHM yang di dapat sebelumnya dengan metode dilusi cair dan dilakukan pengujian KBM dengan metode dilusi padat atau *spread plate* bertujuan untuk mengukur Kadar Bunuh

Minimum (KBM) untuk memberikan gambaran sebagai efek bakteriosida atau kemampuan untuk membunuh bakteri baik secara *reversibel* dan *irreversibel* KBM didapat dengan melihat konsentrasi terkecil yang sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Fitriana et al., 2020). Pada penelitian ini tidak ditemukan nilai KBM pada bakteri *S. aureus* dan *E.coli*.

Aktivitas antibakteri pada sampel tidak ditemukan KBM karena di pengaruhi oleh beberapa faktor seperti lingkungan dan tempat tumbuh dari tanaman, dimana lokasi tanaman serta pengambilan sampel secara acak dan tidak memperhatikan waktu panen. Dimana faktor tersebut dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang berbeda sehingga aktivitas daya bunuh pada sampel akan berbeda (Rahardjo et al., 2017). Penelitian ini menggunakan larutan DMSO sebagai kontrol negatif serta pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel yang akan diuji. Pelarut tersebut digunakan untuk pembandingan agar tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri dari sampel yang akan diuji (Utomo et al., 2018). Penggunaan kontrol positif sebagai pembandingan untuk melihat potensi daya antibakteri yang terkandung di dalam sampel. Pada penelitian ini kontrol positif menggunakan kloramfenikol (Fitriana et al., 2020).

Aktivitas antibakteri tersebut berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder pada ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tannin dan saponin. Mekanisme kerja Alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara

utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Baiti et al., 2018). Mekanisme lain dari aktivitas antibakteri alkaloid adalah dengan menghambat topoisomerase sel bakteri (Erlina et al., 2021). Flavonoid berpotensi sebagai antibakteri dengan cara gugus fenol dari senyawa flavonoid dan polifenol berikatan dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen, sehingga struktur protein pada sel bakteri menjadi rusak (Mappasomba et al., 2020). Flavonoid juga memiliki mekanisme kerja berupa membentuk senyawa kompleks protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri menjadi rusak, rusaknya sel bakteri menyebabkan masuknya air ke dalam sel bakteri menyebabkan pembengkakan dan akhirnya sel bakteri pecah (Erlina et al., 2021). Tannin memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan hidrogen antara tannin dengan protein sehingga protein akan terdenaturasi dan metabolisme bakteri menjadi terganggu (Darsono & M, 2020). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajow et al., 2013). Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktivasi adhesin sel mikroba juga menginaktivasi enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Nurjannah et al., 2018).

Saponin mempunyai aktivitas antibakteri karena sifatnya yang sama dengan detergen, sehingga saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel meningkat dan menyebabkan kebocoran sel, sehingga senyawa intraseluler akan keluar dan menembus ke dalam sel dengan cara melarutkan lapisan lipidnya. Saponin beraksi dengan sel bakteri menyebabkan bakteri tersebut lisis atau pecah (Fadia et al., 2020). Saponin juga mempunyai aktifitas

farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol (Firawati & Pratama, 2018).

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

Dari hasil fitokimia yang didapatkan bahwa ekstrak bunga pinang memiliki potensi sebagai agent antimikroba. Analisis dengan Kruskal Wallis diperoleh nilai $p=0.074$ artinya aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang tidak berpengaruh terhadap *E. coli*. Berdasarkan uji homogenitas data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *S. aureus* homogen dengan nilai $p=0,086$ dan data aktivitas antibakteri ekstrak bunga pinang terhadap *E. coli* tidak homogen dengan nilai $p=0.005$. analisis ANOVA diperoleh nilai $p=0.001$ artinya ekstrak bunga pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus*. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan Tukey HSD konsentrasi 100, 300, 500, control positif, 1000, dan 700 memiliki aktivitas antibakteri yang sama terhadap *S. aureus* sedangkan kontrol negative memiliki aktivitas antibakteri yg berbeda. Berdasarkan uji lanjut diperoleh nilai $p=0.160$ artinya aktivitas antibakteri tidak ada perbedaan secara signifikan antar masing-masing konsentrasi.

B. Saran

Berdasarkan penelitian ini, diperlukan penelitian lanjutan terhadap ekstrak bunga pinang (*Areca catechu* L.) untuk mengetahui potensi bunga pinang (*Areca catechu* L.) selain sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad A R, juwita, Ratulangi S A D, Malik A. 2015. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharm Sci Res ISSN*. 2(1): 1-10. Tersedia pada: <http://psr.ui.ac.id/index.php/journal/article/view/3481>. [Diakses 24 Januari 2020].
- Alwi. 2017. Validasi metode analisis flavonoid dari ekstrak etanol kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara spektrofotometri uv-vis. [skripsi]. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Tersedia pada: <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/5779/>. [Diakses 19 Februari 2020].
- Andriani A. 2011. Skrining fitokimia dan uji penghambatan aktivitas α -glukosidase pada ekstrak etanol dari beberapa tanaman yang digunakan sebagai obat antidiabetes. [Skripsi]. Depok: Univesitas Indonesia. Tersedia pada: <http://journal.ui.ac.id/index.php/mik/article/view/3793> [Diakses pada 20 Mei 2020].
- Arel A, Wardi E S, Oktaviani Y. 2018. Profil metabolit sekunder ekstrak daun berenuk (*Crescentia cujete* L.) dan uji sitotoksi dengan metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Katalisator*. 3(2): 82-88. Tersedia pada: <http://ejournal.kopertis10.or.id/index.php/katalisator/article/view/3165>. [Diakses 26 Februari 2020].
- Atmajani W. 2019. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun dan akar beluntas (*Pluvheas indica* (L.)) terhadap sel kanker kolon WiDr. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Tersedia pada: <http://eprints.ums.ac.id/70871/5/NASKAH%20PUBLIKASI.pdf>. [Diakses 23 Februari 2020].
- Azwar S. 2012. *Metode Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar

Baiti, Mi., Elfrida, S., & Lipinwati, L. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Biji Buah Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Secara in Vitro. *JAMBI MEDICAL JOURNAL "Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan,"* 6(1), 10–19. <https://doi.org/10.22437/jmj.v6i1.4817>

Centers for Disease Control and. (2019). Antibiotic resistance threats in the United States. In *U.S Department of Health and Human services*. https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html

Clarke, D., Tyuftin, A. A., Cruz-Romero, M. C., Bolton, D., Fanning, S., Pankaj, S. K., Bueno-Ferrer, C., Cullen, P. J., & Kerry, J. P. (2017). Surface attachment of active antimicrobial coatings onto conventional plastic-based laminates and performance assessment of these materials on the storage life of vacuum packaged beef sub-primals. *Food Microbiology*, 62, 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.022>

Costelloe, C., Metcalfe, C., Lovering, A., Mant, D., & Hay, A. D. (2010). Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)*, 340(7756), 1120. <https://doi.org/10.1136/bmj.c2096>

Darsono, P. V., & M, M. F. T. (2020). AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DADANGKAK (*Hydrolea spinosa*) TERHADAP BAKTERI *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 5(1), 117–127. <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.398>

Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Cetakan Keenam. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Djohari, M., Lestari, R., & Hasti, S. (2018). Identifikasi dan uji aktivitas daya hambat ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap isolat bakteri gusi. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2), 61–69.

Erlina, M., Farmasi, F., & Surakarta, U. M. (2021). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Umbi Porang (*Amorphophallus Muelleri* Blume), Suweg (*Amorphophallus Paeoniifolius*), Iles-Iles (*Amorphophallus Oncophyllus*) dan Walur (*Amorphophallus Campanulatus*)*. 622–631.

Fadia, F., Nurlailah, N., Helmiah, T. E., & Lutpiatina, L. (2020). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L) Sebagai Antibakteri *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 158–168. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.104>

Firawati, & Pratama, M. I. (2018). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Daun Bungkus (*Smilax rotundifolia*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Ultraviolet. *Jf Fik Uinam*, 6(2), 115–121.

Firdaus A F, Kencanawati CIPK, Priambadi IGN. 2019. Pengaruh variasi fraksi volume serat kulit buah pinang dengan getah pinus sebagai biocompositeterhadap kekuatan tarik dan porositas. *Jurnal Ilmiah Teknik Desain Mekanika*. 8(2): 629-632. Tersedi pada: <file:///C:/Users/USER/Documents/SKRIPSI/jurnal%20pinang/53587-577-126311-1-10-20191007.pdf>. [Diakses 7 Februari 2020].

Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar

- Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108.
<https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Jaiswal, P., Kumar, P., Singh, V. K., & Singh, D. K. (2011). Areca catechu L.: A valuable herbal medicine against different health problems. In *Research Journal of Medicinal Plant* (Vol. 5, Issue 2, pp. 145–152).
<https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.145.152>
- Mappasomba, M., Malaka, M. H., Hamsidi, R., Zulbayu, L. O. M. A., & Sahidin, S. (2020). Aktivitas Antimikroba dan Skrining Fitokimia Beberapa Tanaman Berkhasiat Obat di Kota Kendari. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 6(1), 20. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v6i1.11445>
- Muharni, Fitriya, & Farida, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 127–135.
<https://doi.org/10.22435/jki.v7i2.6070.127-135>
- Nursidika, P., Saptarini, O., & Rafiqua, N. (2014). Aktivitas Antimikrob Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (Areca catechu L) pada Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. *Majalah Kedokteran Bandung*, 46(2), 94–99. <https://doi.org/10.15395/mkb.v46n2.280>
- Talib, W. H., & Mahasneh, A. M. (2010). Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine. *Molecules*, 15(3), 1811–1824. <https://doi.org/10.3390/molecules15031811>
- Wardhani, R. A. P. & Supartono. 2015. Uji aktivitas ekstrak kulir buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada bakteri. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 4(1): 46-51.
<http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs/article/view/4766/4382>

Wendelindia V T T. 2017. Pengaruh pemberian air rebusan biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap infeksi cacing *Ascari suum* secara *in vivo* pada babi. [skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin. Tersedia pada: http://digilib.unhas.ac.id/uploaded_files/temporary/DigitalCollection/ZTU2NWZiZjJlZDRhZTUyZjc5OWIxNDZjZGY0NmZlZGQxNDFjYzgwMA==.pdf.

Wibowo S. 2016. *ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga* 25. 1–118.

Yanuartono, Purnamaningsih H, Nururrozi A, Indarjulianto S. 2017. Saponin: dampak terhadap ternak (ulasan). *Jurnal Perternakan Sriwijaya*. 6(2): 79-90. Tersedia pada: <https://ejournal.unsri.ac.id/index.php/peternakan/article/view/5083/2754>.

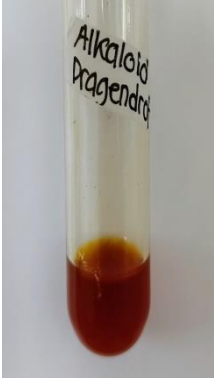
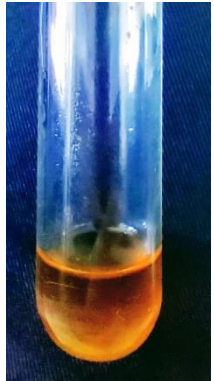

Yuda P. E. S. K, Cahyaningsih E, & Winariyanthi N. L. P.Y. 2017. skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Medicamento*. 3(2): 61-70. Tersedia pada: <http://journal.farmasisaraswati.ac.id/index.php/mento/article/view/patikankebo>

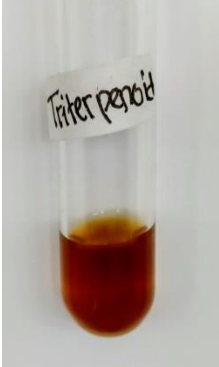

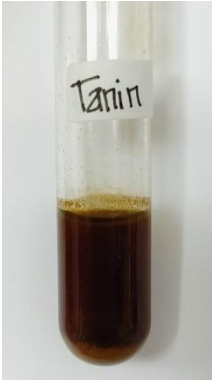
LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Skrining Fitokimia

a. Uji dengan Pereaksi Warna

Tabel 1. Uji dengan Pereaksi Warna

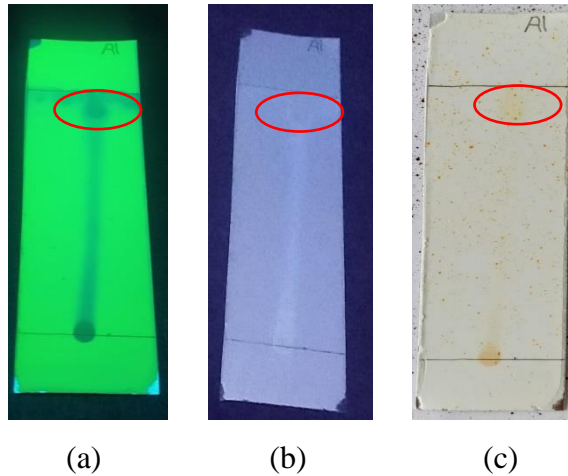
No.	Golongan Senyawa	Pereaksi	Gambar	Keterangan (Hasil Uji)
1.	Alkaloid	Dragendroff		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Alkaloid Terbentuk warna orange mendekati merah (Dragendorff)
		Mayer		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Alkaloid Terbentuk endapan putih (Mayer)
2.	Flavonoid	Mg + HCl Pekat		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Terbentuk warna jingga

3.	Triterpenoid	SbCl ₃ dalam kloroform + asam anhidrat		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (-) Terbentuk warna merah muda
4.	Steroid	Kloroform + asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Terbentuk cicin warna hijau kebiruan
5.	Tannin	FeCl ₃ 5%		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Terbentuk warna biru atau hitam kehijauan
6.	Saponin	Aquadest panas + HCl 2 N		<ul style="list-style-type: none"> • Hasil (+) Terbentuk busa setinggi 1 cm

				
--	--	--	--	--

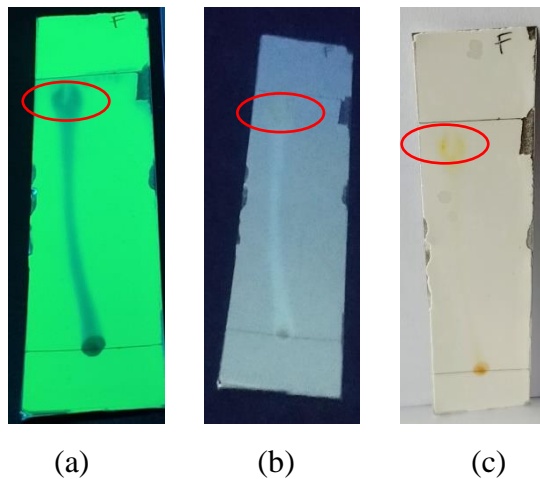
b. Uji KLT

1) Hasil KLT alkaloid



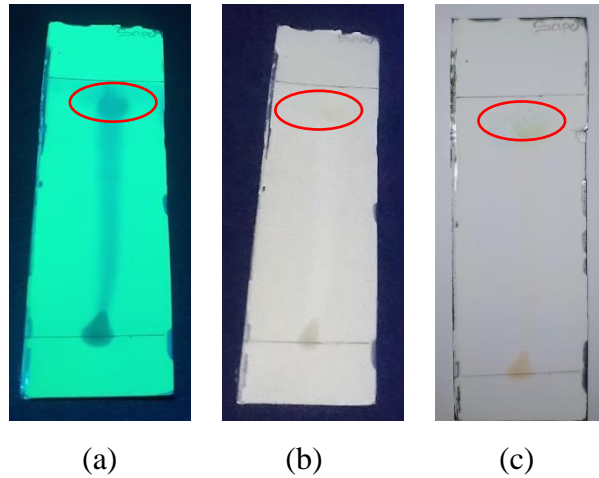
Hasil KLT dengan eluen etil asetat : metanol : air (6:4:2) menunjukkan adanya alkaloid ditandai dengan muncul bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna jingga setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

2) Hasil KLT flavonoid



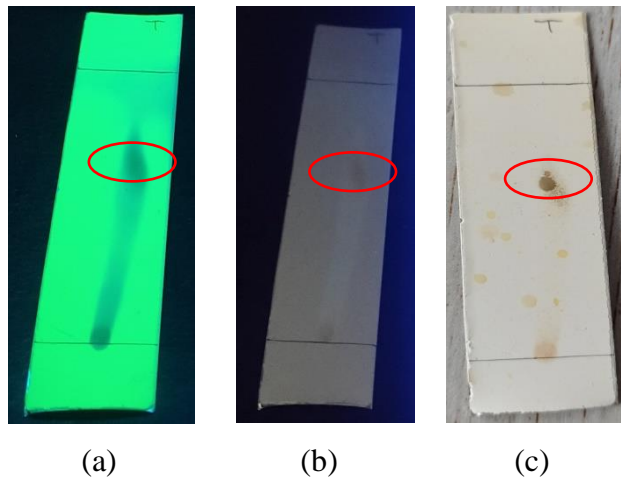
Hasil KLT dengan eluen kloroform : etil asetat : butanol (1:4:5) menunjukkan adanya flavonoid ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan pereaksi AlCl_3 .

3) Hasil KLT saponin



Hasil KLT dengan eluen N-butanol : air (4:4) menunjukkan adanya tannin ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm, (b) bercak pada sinar UV 366 nm, (c) bercak berwarna hitam setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman burchard.

4) Hasil KLT tannin



Hasil KLT dengan eluen metanol : etil asetat (4:1) menunjukkan adanya tannin ditandai dengan munculnya bercak, (a) bercak pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot, (b) bercak pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot, (c) bercak berwarna hitam setelah disemprot dengan pereaksi FeCl₃.

Lampiran 2. Perhitungan Nilai Rf KLT setiap Senyawa

$$Rf = \frac{\text{Jarak rambat senyawa dari titik awal penotolan hingga pusat bercak}}{\text{Jarak rambat fase gerak dari titik awal penotolan hingga garis depan}}$$

a. Alkaloid

$$Rf = \frac{5,4 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,67 \text{ cm}$$

b. Flavonoid

$$Rf = \frac{5,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,65 \text{ cm}$$

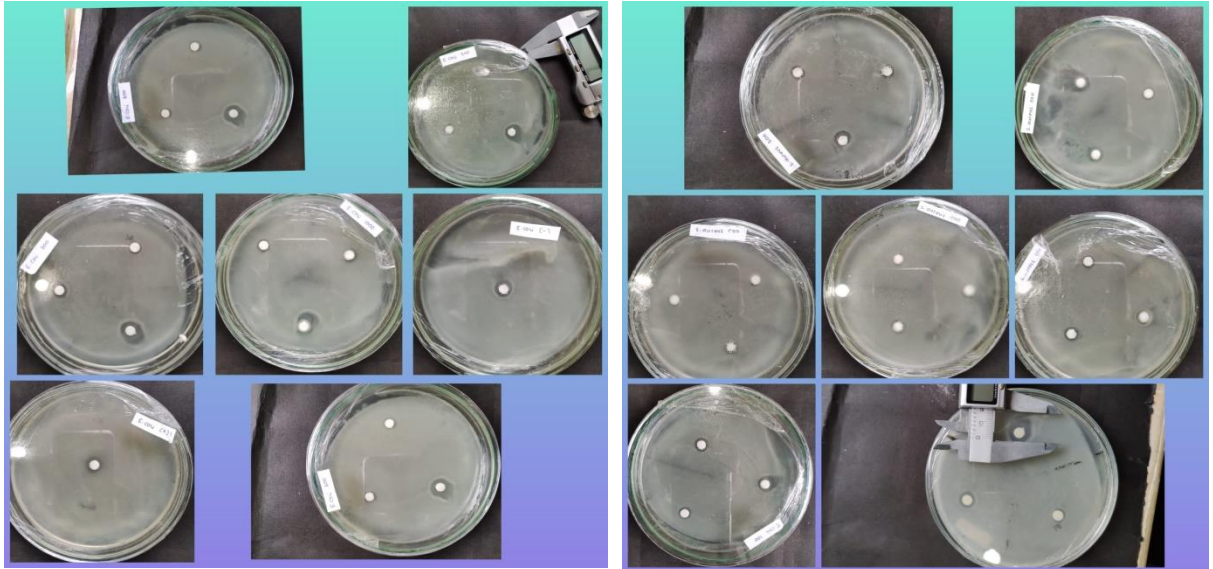
c. Tannin

$$Rf = \frac{3,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,4 \text{ cm}$$

d. Saponin

$$Rf = \frac{4,9 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,61 \text{ cm}$$

Lampiran 3. Zona Hambat metode Difusi dari ekstrak bunga pinang terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

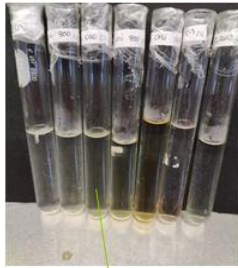


Gambar 1. Zona hambat difusi pada *E. coli*

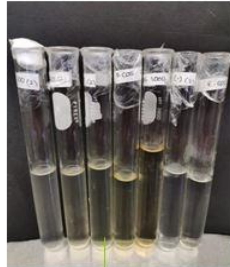
Gambar 2. Zona hambat difusi pada *S. aureus*

Lampiran 4. KHM dari ekstrak bunga pinang terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

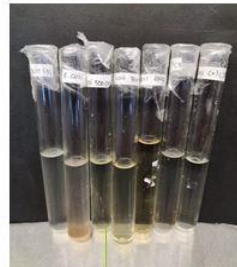
KHM *E. coli*



500mg/ml

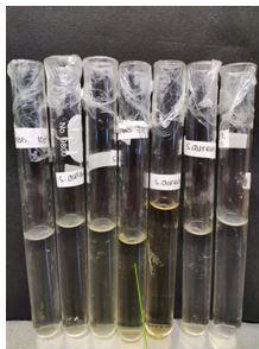


500mg/ml

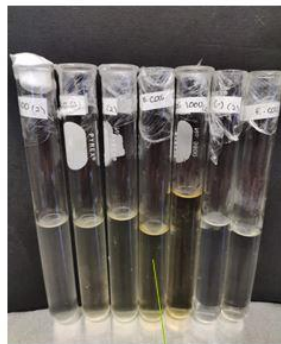


500mg/ml

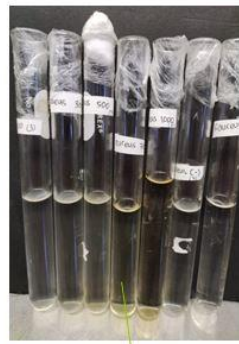
KHM *S.aureus*



700mg/ml

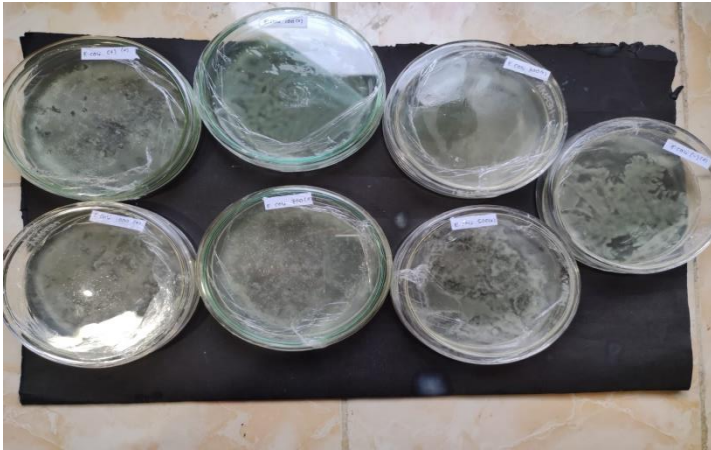


700mg/ml

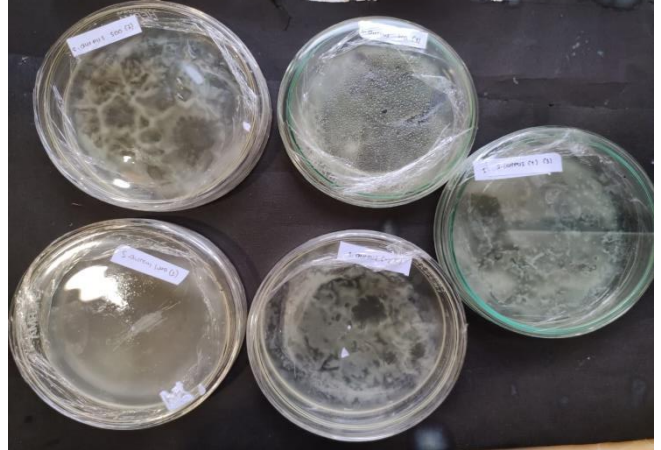


700mg/ml

Lampiran 4. KBM dari ekstrak bunga pinang terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*



Gambar 3. KBM *E.coli*



Gambar 3. KBM *S.aureus*