

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI
BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. Indica) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



Oleh :

**Ary Krisbianto
21154498A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI
BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. *Indica*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Ary Krisbianto
21154498A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI
n-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI
BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. *Indica*) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Oleh:

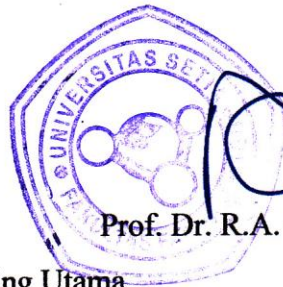
Nama : Ary Krisbianto

NIM : 21154498A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 16 Juli 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Univeritas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Titik Sunarni., S.Si., M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si.

Penguji :

1. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt
2. Dr. Ana Indrayati, S.Si., M.Si
3. Dr. Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt
4. Dr. Titik Sunarni., S.Si., M.Si., Apt.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 16 Juli 2019



Ary Krisbianto

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. *Indica*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Titik Sunarni., M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, nasehat dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Terima kasih bapak, ibu, dan semua keluarga atas do'a, dukungan dan semangat yang diberikan.
7. Segenap dosen, staff, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 16 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Beras Hitam.....	4
1. Sistematika beras hitam (<i>Oryza sativa</i> L. <i>Indica</i>)	4
2. Nama lain	5
3. Deskripsi tanaman.....	5
4. Khasiat tanaman.....	5
5. Kandungan kimia	5
B. Simplisia.....	6
1. Definisi simplisia	6
2. Pengeringan.....	6
C. Ekstrak.....	7
1. Pengertian ekstrak.....	7
2. Metode ekstraksi	7
3. Pelarut	9
D. Kromatografi Lapis Tipis	10
E. Sterilisasi	11
F. Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1. Sistematika bakteri.....	12
2. Morfologi bakteri	12
3. Patogenesis.....	12

G.	Antibiotik.....	13
1.	Definisi antibiotik	13
2.	Mekanisme kerja antibiotik.....	13
3.	Ciprofloxasin.....	16
H.	Media.....	16
1.	BHI (Brain-Heart Infusion).....	16
2.	MHA (Mueller Hinton Agar).....	17
3.	VJA (Vogel Johnson Agar).....	17
I.	Uji Aktivitas Bakteri	17
1.	Metode difusi	17
2.	Metode dilusi	18
J.	Landasan Teori	18
K.	Hipotesis.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		21
A.	Populasi dan Sampel	21
B.	Variabel Penelitian	21
1.	Identifikasi variabel utama.....	21
2.	Klasifikasi variabel utama.....	21
3.	Definisi operasional variabel utama.....	22
C.	Bahan dan Alat	22
1.	Bahan.	22
2.	Alat.....	23
3.	Sterilisasi.....	23
D.	Jalannya Penelitian	24
1.	Identifikasi beras hitam.....	24
2.	Pembuatan ekstrak etanol beras hitam	25
3.	Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak beras hitam.....	25
4.	Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak beras hitam....	25
5.	Penetapan bobot jenis ekstrak beras hitam.....	26
6.	Identifikasi senyawa kimia ekstrak beras hitam.....	26
7.	Fraksinasi ekstrak beras hitam	27
8.	Pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
9.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	28
10.	Pengujian antibakteri beras hitam secara difusi	29
11.	Pengujian antibakteri beras hitam secara dilusi	29
12.	Identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara KLT .	30
E.	Analisis Data	31
F.	Skema Jalannya Penelitian	32
1.	Ekstraksi beras hitam	32
2.	Fraksinasi ekstrak etanol beras hitam	33
3.	Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan dilusi	34
4.	Uji aktivitas antibakteri metode difusi	35
5.	Uji aktivitas antibakteri metode dilusi	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		37
A.	Penyiapan Bahan	37
1.	Hasil determinasi beras hitam	37
2.	Hasil pengambilan bahan dan pembuatan serbuk beras hitam....	38

B.	Ekstraksi dan Fraksinasi	38
1.	Hasil pembuatan ekstrak etanol beras hitam.....	38
2.	Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak beras hitam.....	39
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak beras hitam	39
4.	Hasil penetapan bobot jenis ekstrak beras hitam	40
5.	Hasil identifikasi senyawa ekstrak beras hitam	40
6.	Hasil fraksinasi ekstrak etanol beras hitam	41
C.	Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	42
1.	Pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	42
2.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	42
3.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi beras hitam secara difusi.	44
4.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif secara dilusi.	48
D.	Hasil Identifikasi Senyawa dengan KLT.....	50
1.	Identifikasi flavonoid	50
2.	Identifikasi tanin	51
3.	Identifikasi triterpenoid.....	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		52
A.	Kesimpulan.....	52
B.	Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA		53
LAMPIRAN		58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. (a) Tanaman beras hitam, (b) Padi beras hitam, (c) Beras hitam pecah kulit, (d) Serbuk beras hitam.....	4
2. Ekstraksi beras hitam.	32
3. Fraksinasi ekstrak etanol beras hitam.	33
4. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan dilusi.	34
5. Uji aktivitas antibakteri metode difusi.	35
6. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi.	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil perhitungan rendemen serbuk beras hitam	38
2. Hasil perhitungan rendemen ekstrak beras hitam	38
3. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak beras hitam	39
4. Hasil penetapan susut pengeringan	39
5. Hasil penetapan bobot jenis	40
6. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	41
7. Hasil fraksinasi ekstrak beras hitam.....	41
8. Hasil Identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	43
9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol beras hitam, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air beras hitam terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	45
10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat secara dilusi	49
11. Hasil identifikasi flavonoid secara KLT.	50
12. Hasil identifikasi tanin secara KLT.....	51
13. Hasil identifikasi triterpenoid secara KLT.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi.....	59
2. Perhitungan rendemen serbuk dan ekstrak beras hitam.....	60
3. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak beras hitam.....	61
4. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak beras hitam.....	63
5. Penetapan bobot jenis ekstrak beras hitam.....	64
6. Gambar hasil penetapan karakteristik beras hitam.....	65
7. Identifikasi senyawa kimia ekstrak beras hitam	66
8. Hasil fraksinasi beras hitam	67
9. Gambar hasil fraksinasi.....	69
10. Perhitungan seri konsentrasi ekstrak etanol, fraksi n-heksan, air, etil asetat dan DMSO.....	70
11. Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	72
12. Diameter zona hambat aktivitas antibakteri fraksi dan ekstrak beras hitam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 metode difusi.....	73
13. Gambar hasil uji dilusi dari fraksi teraktif beras hitam.....	76
14. Hasil identifikasi senyawa dengan KLT	77
15. Analisis statistik aktivitas antibakteri metode difusi.....	80

INTISARI

KRISBIANTO, A., 2019, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI *n*-HEKSANA, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI BERAS HITAM (*Oryza sativa* L. Indica) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica) mengandung senyawa flavonoid dan tanin yang memiliki mekanisme sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari beras hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Beras hitam diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Hasil ekstrak dan fraksi dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20%. Kontrol negatif digunakan DMSO 7% dan sebagai kontrol positif digunakan Siprofloksasin. Pengujian aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode difusi cakram dan dilusi.

Hasil penelitian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari beras mempunyai aktivitas antibakteri. Fraksi etil asetat konsentrasi 20% merupakan fraksi teraktif dengan rata-rata diameter zona hambat 13,06 mm dan nilai KBM 5%. Hasil Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan fraksi etil asetat memiliki senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid.

Kata kunci: antibakteri, beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica), fraksinasi

ABSTRACT

KRISBIANTO, A., 2019, ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT, *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTION OF BLACK RICE (*Oryza sativa* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Black rice (*Oryza sativa* L.) contains flavonoid and tannin which have mechanism as antibacterial. The purpose of this study is to determine antibacterial activity of ethanolic extract, *n*-hexane, ethyl acetate, and water fraction from black rice against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Black rice was extracted by maceration using 96% ethanol solvent and fractionated using *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvents. The results of extracts and fractions were tested for antibacterial activity using 10%, 15% and 20% concentrations. Negative control used 7% DMSO and Ciprofloxacin as a positive control. Antibacterial activity determined by using disc diffusion and dilution method.

The results of the antibacterial activity showed that ethanol extract, *n*-hexane, ethyl acetate, and water fraction from black rice had antibacterial activity. Ethyl acetate fraction with 20% concentration is the most active fraction with an average diameter inhibition zone of 13.06 mm and 5% of MBC. Thin Layer Chromatography results showed that ethyl acetate fraction has flavonoid, tannin and triterpenoid compounds.

Kata kunci: antibacterial, black rice (*Oryza sativa* L. Indica), fractionation

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengatasi masalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik merupakan senyawa yang berfungsi dalam menghambat pertumbuhan maupun mematikan bakteri dengan beberapa mekanisme. Mekanisme kerja antibiotik diantaranya menghambat sintesis dinding sel, menghambat fungsi membran sitoplasma, menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat.

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan infeksi ringan sampai berat. Penggunaan antibiotik untuk penyakit infeksi terkadang menimbulkan terjadinya resistensi bakteri akibat penggunaan yang kurang rasional. Bakteri menjadi resisten untuk dapat bertahan hidup setelah melalui proses tertentu akibat paparan antibiotik yang penggunaannya kurang diperhatikan oleh masyarakat.

Pengembangan bahan alam sebagai alternatif untuk dikembangkan menjadi obat herbal alami sudah dimanfaatkan sejak zaman dahulu dengan efek samping dan biaya yang relatif lebih murah dibandingkan obat konvensional. Beberapa jenis beras, seperti beras hitam, beras merah, beras coklat dan beras putih mempunyai senyawa metabolit sekunder yang bervariasi, semakin pekat warnanya maka semakin banyak pula senyawa yang terkandung di dalamnya. Beras hitam merupakan tanaman yang mudah ditemui di Indonesia mengingat fungsinya sebagai bahan pangan. Beras hitam diketahui memiliki kandungan antosianin tinggi, kaya akan vitamin, protein dan mineral. Pada beberapa penelitian menunjukkan beras hitam memiliki aktivitas antioksidan (Tan, Mayulu, & Kawengian 2016), antiinflamasi (Hartati 2016), antidiabetes (Wardani 2010) dan antikanker (Hui *et al.* 2010).

Penelitian aktivitas antibakteri beras berpigmen telah dievaluasi sebelumnya oleh Pornpan & Natthanej (2013). Ekstrak etanol beras hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM 125 µg/ml dan KBM 250 µg/ml. Sedangkan pada beras ketan, beras merah dan beras coklat memiliki nilai KHM 250 µg/ml dan KBM 500 µg/ml.

Kandungan senyawa pada beras hitam terdapat senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin (Sari & Ayuhecaria 2017). Warna hitam pada beras hitam diketahui mengandung antosianin yang termasuk dalam kelas flavonoid (Yodmanee *et al.* 2011). Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran metabolit penting, nukleotida dan asam amino merembes keluar, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Volk *et al.* 1998). Senyawa alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan karena dinding sel bakteri tidak terbentuk sempurna (Cowan 1999). Senyawa tanin dapat mengerutkan dinding sel bakteri mengakibatkan permeabilitas sel terganggu, sehingga pertumbuhan bakteri dapat dihambat (Jones *et al.* 1994).

Berdasarkan uraian di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol beras hitam diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Maka dasar penelitian ini adalah dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Hasil fraksinasi akan didapatkan 3 jenis fraksi dengan polaritas yang berbeda. Sehingga dengan adanya penelitian ini bisa menjadi dasar untuk isolasi senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi bisa dilakukan dengan menggunakan sumuran maupun kertas cakram untuk mendapatkan fraksi teraktif dalam mengambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh minimum (KBM).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka permasalahan yang terjadi dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol beras hitam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, manakah fraksi dari ekstrak etanol beras hitam yang teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah nilai KBM dan KHM fraksi teraktif dari ekstrak etanol beras hitam terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dibuat, maka tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol beras hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak etanol beras hitam dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui nilai KBM dan KHM fraksi teraktif dari ekstrak etanol beras hitam terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, pemanfaatan ekstrak beras hitam sebagai antibakteri alami untuk mencegah terjadinya infeksi akibat bakteri.

Kedua, ekstrak senyawa antibakteri dapat dikembangkan menjadi obat antibakteri.

Ketiga, sebagai dasar penelitian pemanfaatan beras hitam sebagai antibakteri.