

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, KLOOROFORM,
DAN AIR EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KARANDAS (*Carissa
carandas* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**



Oleh :

**Nova Maya Lorensa
21154667A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, KLOOROFORM,
DAN AIR EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KARANDAS (*Carissa
carandas* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Nova Maya Lorensa
21154667A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, KLOOROFORM,
DAN AIR EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KARANDAS (*Carissa
carandas* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

Oleh :

**Nova Maya Lorensa
21154667A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 28 Juni 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.

Penguji

1. Fransiska Leviana S.Farm., M.Sc., Apt.
2. Dr. Ana Indrayati, M.Si.
3. Endang Sri Rejeki, S.Si., M.Si., Apt.
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

HALAMAN PERSEMBAHAN



"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kadar kesanggupannya" (QS. Al-Baqarah: 286)

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap." (QS. Al-Insyirah: 6-8)

Kupersembahkan skripsi ini kepada :

- ♥ Ayah (Bapak Parno) dan Mama tercinta (Ibu Siti Chotimah), kakak (Freudi), mbak (Heni), ponakan aunty yang tersayang (Reyhan), serta seluruh keluarga yang ku sayangi. Terimakasih telah memberikan do'a, semangat, motivasi, dan dukungan baik moril maupun materil. Terimakasih untuk segala bentuk perhatian dan kasih sayang yang kalian berikan untukku. Terimakasih untuk segala pengorbanan kalian untukku meraih masa depan yang lebih baik. Semoga terselesaikannya tugas ini bisa menjadi kado kecil untuk ayah dan mama.
- ♥ Dosen pembimbing tugas akhirku, Ibu Mamik Ponco Rahayu dan Ibu Kartinah, terimakasih telah sabar membimbing dan meluangkan waktu untuk membagi ilmunya.
- ♥ Sahabat dan teman terbaikku khususnya Tantri Agustia, Yoana Kurniawati, Inggit Fajar Dea F, Maria Helena P, Hoyi Hapsari, Veronika Nirmalasari, Winda Aprilyani, Natalis, dan Novi Wunga yang telah menyemangati, membantu, dan selalu ada dalam keadaan sedih maupun senang. Terimakasih

atas do'a dan dukungan yang telah kalian berikan untukku. Teruntuk sahabat dan partner setimku, Theresia Septinueng terimakasih telah berbagi semangat, motivasi, memberikan bantuan dan dukungan. Semoga tali persahabatan ini akan terjalin selamanya dan kelak kita akan tetap saling membantu. Terimakasih atas persahabatan kita.

♥ Almamater, Agama, Bangsa dan Negara.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut 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.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL FRAKSI *n*-HEKSAN, KLOOROFORM, DAN AIR DAUN KARANDAS (*Carissa carandas* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922”** dengan baik dan lancar. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya.
2. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt., selaku Dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, dan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dra. Kartinah WS, SU., selaku Dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat, arahan, dan semangat pada penulis.
6. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan serta saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
7. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
8. Perpustakaan Universitas Setia Budi, tempat mencari informasi dan sumber buku untuk menyelesaikan dan menyempurnakan skripsi ini.
9. Ayah dan Mama tercinta yang telah senantiasa selalu memberikan motivasi, semangat, do'a, dan dukungan baik secara moril dan materil.

10. Teman, sahabat, serta saudara yang telah senantiasa ikut membantu dalam penelitian skripsi ini.

11. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca supaya bisa menambah pengetahuan.

Surakarta, Juni 2019



Nova Maya Lorensa

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Karandas	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Nama daerah.....	6
2.1 Nama lain	6
2.2 Nama lokal.....	7
3. Morfologi tanaman.....	7
4. Khasiat tanaman.....	7
5. Kandungan kimia	7
5.1 Alkaloida.	8
5.2 Saponin.....	8
5.3 Flavonoid.....	8
5.4 Tanin.	9
5.5 Triterpenoid.	9

5.6 Steroid	9
B. Simplisia	10
1. Pengertian simplisia	10
2. Pengumpulan simplisia	10
3. Pengeringan simplisia	11
4. Penyerbukan	11
C. Penyarian	11
1. Ekstraksi	11
2. Maserasi	12
3. Fraksinasi	13
4. Pelarut	13
4.1. Etanol 70%	13
4.2. <i>n</i> -heksan	13
4.3. Kloroform	14
4.4. Air	14
D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	14
1. Fase diam	15
2. Fase gerak	16
3. Pereaksi semprot	16
E. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16
1. Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	16
2. Morfologi dan Identifikasi	17
4. Toksin	18
4.1 <i>Escherichia coli</i> enterotoksigenik (ETEC)	18
4.2 <i>Escherichia coli</i> enteroagregatif (EAggEC)	18
4.3 <i>Escherichia coli</i> enteropatogenik (EPEC)	19
4.4 <i>Escherichia coli</i> enterohemoragik (EHEC)	19
5. Pengobatan	19
F. Antibakteri	19
1. Definisi antibakteri	19
2. Mekanisme kerja antibakteri	20
2.1 Penghambatan sintesis dinding sel	20
2.2 Perubahan permeabilitas membran sel bakteri	20
2.3 Penghambatan sintesis protein	20
2.4 Penghambatan sintesis asam nukleat (DNA/RNA)	21
2.5 Penghambatan sintesis metabolit esensial	21
3. Uji aktivitas antibakteri	21
3.1 Metode difusi	21
3.2 Metode dilusi	21
G. Diare	22
H. Siprofloksasin	23
I. Media	23
J. Sterilisasi	24

K. Landasan Teori	25
L. Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	28
A. Populasi dan Sampel	28
1. Populasi.....	28
2. Sampel	28
B. Variabel Penelitian.....	28
1. Identifikasi variabel utama	28
2. Klasifikasi variabel utama.....	28
2.1 Variabel bebas.	28
2.2 Variabel terkendali.....	29
2.3 Variabel tergantung.....	29
3. Definisi operasional variabel utama	29
C. Alat dan Bahan	30
1. Alat.....	30
2. Bahan.....	30
2.1 Bahan utama.....	30
2.2 Bahan kimia.	30
2.3 Medium.	31
2.4 Bakteri uji.	31
D. Jalannya Penelitian	31
1. Determinasi tanaman	31
2. Pengambilan bahan	31
3. Pembuatan serbuk	31
4. Penetapan kadar air	31
5. Pembuatan ekstrak etanol	32
6. Uji bebas etanol ekstrak daun karandas	33
7. Penetapan susut pengeringan ekstrak daun karandas	33
8. Pengujian kandungan senyawa kimia.....	33
8.1 Identifikasi alkaloid.	33
8.2 Identifikasi flavonoid.	33
8.3 Identifikasi saponin.....	34
8.4 Identifikasi tanin.	34
8.5 Identifikasi steroid/triterpenoid.	34
9. Fraksinasi ekstrak etanol daun karandas.....	34
9.1 Pembuatan fraksi <i>n</i> -heksan ekstrak etanol daun karandas.....	34
9.2 Fraksinasi kloroform daun karandas.	34
9.3 Fraksinasi air daun karandas.	35
10. Sterilisasi.....	35
11. Identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	35
11.1 Isolasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	35
11.2 Identifikasi mikroskopis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram.....	35

11.3 Identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan uji biokimia .	36
12. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	37
13. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari <i>n</i> -heksan, kloroform, dan air dari daun karandas secara difusi.....	38
14. Pengujian aktivitas antibakteri dari daun karandas secara dilusi.....	38
15. Kromatografi Lapis Tipis.....	39
15.1 Identifikasi alkaloid.	39
15.2 Identifikasi flavonoid.	40
15.3 Identifikasi tanin.	40
15.4 Identifikasi triterpenoid.	40
15.5 Identifikasi steroid.	40
E. Analisis Data	41
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
1. Determinasi tanaman	45
2. Pembuatan serbuk daun karandas	45
3. Penetapan kadar air serbuk daun karandas.....	46
4. Pembuatan ekstrak etanol daun karandas	46
5. Uji bebas etanol ekstrak daun karandas	47
6. Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun karandas	48
7. Fraksinasi dari ekstrak etanol daun karandas	48
7.1. Fraksinasi <i>n</i> -heksan.....	49
7.2. Fraksinasi kloroform.....	49
7.3. Fraksinasi air.	49
8. Pengujian kandungan senyawa kimia.....	50
9. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	50
9.1. Identifikasi <i>Escherichia coli</i> secara makroskopis.	50
9.2. Identifikasi <i>Escherichia coli</i> dengan pewarnaan Gram.....	51
9.3. Identifikasi <i>Escherichia coli</i> dengan uji biokimia.	52
10. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	54
11. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	54
12. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi	58
13. Pengujian kandungan senyawa secara KLT	59
13.1 Identifikasi alkaloid.	59
13.2 Identifikasi flavonoid.	60
13.3 Identifikasi tanin.	61
13.4 Identifikasi steroid/triterpenoid.	61
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	64
A. Kesimpulan	64
B. Saran.....	64
 DAFTAR PUSTAKA	65
 LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman karandas (<i>Carissa carandas</i> L.).	6
2. Struktur senyawa (1) asam batulinat, (2) asam oleanolic, (3) asam ursolic	9
3. Struktur senyawa (1) stigmasterol dan (2) β -sitosterol.....	10
4. Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	17
5. Skema pembuatan ekstrak etanol 70% dan fraksinasi daun karandas	42
6. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, kloroform, dan air ekstrak etanol 70% daun karandas terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan metode difusi.....	43
7. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif (<i>n</i> -heksan, kloroform, dan air) dari ekstrak daun karandas terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan metode dilusi	44
8. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 pada media <i>Endo Agar</i>	51
9. Hasil identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram.....	52
10. Hasil identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan uji biokimia	54
11. Profil kromatogram senyawa alkaloid, a) UV254 nm sebelum disemprot; b) UV366 nm sebelum disemprot; c) sinar tampak setelah disemprot pereaksi Dragendrof; x) ekstrak; y) fraksi kloroform	59
12. Profil kromatogram senyawa flavonoid, a) UV254 nm sebelum disemprot; b) UV 366 nm sebelum disemprot; c) sinar tampak setelah disemprot pereaksi Sitroborat; x) ekstrak; y) fraksi kloroform; z) baku kuersetin	60
13. Profil kromatogram senyawa tanin, a) UV254 nm sebelum disemprot; b) UV366nm sebelum disemprot; c) sinar tampak setelah disemprot pereaksi FeCl ₃ ; x) ekstrak; y) fraksi kloroform; z) baku asam galat	61
14. Profil kromatogram senyawa steroid, a) UV254 nm sebelum disemprot; b) UV366 nm sebelum disemprot; c) sinar tampak setelah disemprot pereaksi Lieberman Bourchard; x) ekstrak; y) fraksi kloroform; z) baku stigmasterol	62
15. Profil kromatogram senyawa triterpenoid, a) UV254 nm sebelum disemprot; b) UV366 nm sebelum disemprot; c) sinar tampak setelah disemprot pereaksi Lieberman Bourchard; x) ekstrak; y) fraksi kloroform	62

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun karandas	45
2. Penetapan kadar air serbuk daun karandas	46
3. Rendemen ekstrak daun karandas	47
4. Uji bebas etanol ekstrak daun karandas	47
5. Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun karandas	48
6. Rendemen fraksi <i>n</i> -heksan, kloroform, dan air daun karandas	48
7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun karandas.....	50
8. Identifikasi biokimia <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	52
9. Uji aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 metode difusi.....	55
10. Uji dilusi dari fraksi kloroform daun karandas	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat hasil determinasi tanaman	71
2. Proses pembuatan ekstrak daun karandas	72
3. Proses pembuatan fraksi daun karandas	74
4. Gambar alat autoklaf, timbangan analitik, waterbath, botol gelap, dan ayakan mesh 40	75
5. Gambar alat oven, inkubator, chamber, dan inkas	76
6. Perhitungan rendemen serbuk daun karandas	77
7. Perhitungan penetapan kadar air serbuk daun karandas	78
8. Perhitungan rendemen ekstrak	79
9. Uji bebas etanol ekstrak daun karandas	80
10. Perhitungan penetapan susut pengeringan ekstrak etanol daun karandas	81
11. Perhitungan hasil fraksi ekstrak etanol daun karandas	82
12. Foto larutan stok untuk uji	83
13. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun karandas	84
14. Pembuatan suspensi bakteri dengan standar McFarland 0,5	85
15. Diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri daun karandas secara difusi.	86
16. Uji aktivitas antibakteri fraksi kloroform ekstrak etanol daun karandas secara dilusi	87
17. Perhitungan Rf senyawa	89
18. Perhitungan pengenceran DMSO 5% (<i>Dimethyl Sulfoxida</i>)	90
19. Perhitungan konsentrasi ekstrak dan fraksi untuk uji difusi.....	91
20. Pembuatan larutan stok berbagai konsentrasi metode dilusi	92
21. Pembuatan media agar	94

22. Hasil uji statistik	98
-------------------------------	----

INTISARI

LORENSA, NM., 2019, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, KLOOROFORM, DAN AIR EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KARANDAS (*Carissa carandas* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Daun karandas (*Carissa carandas* L.) dari keluarga Apocynaceae adalah tanaman obat yang dimanfaatkan masyarakat dalam pengobatan diare. Daun karandas mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air ekstrak etanol daun karandas, serta mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif dari daun karandas terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ekstrak daun karandas diperoleh secara maserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, kloroform, dan air. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5%. Fraksi teraktif yang didapat dari metode difusi kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%, dan 0,19%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *one way*. Identifikasi kandungan kimia daun karandas menggunakan uji tabung dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksan, kloroform, dan air memiliki aktivitas antibakteri. Daya hambat paling besar adalah fraksi kloroform dengan rata-rata 13,67 mm pada konsentrasi 50%. Hasil penelitian dengan metode ini menunjukkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi kloroform adalah 6,25%.

Kata kunci : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Carissa carandas*, difusi, dilusi

ABSTRACT

LORENSA, NM., 2019, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *n*-HEXANE, KLOOROFORM, AND WATER EFFECT OF 70% ETHANOL EXTRACTS OF KARANDAS LEAF (*Carissa carandas* L.) ON *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, THE FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Karandas leaves (*Carissa carandas* L.) from the Apocynaceae family are plants that have been widely used by the community in the treatment of diarrhea. Karandas leaves contain alkaloid compounds, flavonoids, saponins, tannins, steroids and triterpenoids. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of *n*-hexan, chloroform, and ethanol extract of carandas leaves, as well as to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericide Concentration (MBC) of the most active fractions of carandas against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Karandas leaves extracted was obtained by maceration with 70% ethanol, then fractionated with *n*-hexane, chloroform, and water solvents. Ethanol extract, *n*-hexane, chloroform, and water fraction were tested for antibacterial activity using disc diffusion method with concentrations of 50%, 25%, and 12,5%. The most active fraction obtained from the diffusion method was then followed by a dilution method with a concentration of 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; and 0,19%. Statistical analysis using *one way* ANOVA, identification of the chemical content of carandas leaves using a tube test and Thin Layer Chromatography (TLC).

The test results showed that 70% ethanol extract, *n*-hexane fraction, chloroform, and water had antibacterial activity. The greatest inhibitory power is the chloroform fraction with an average of 13,67 mm at a concentration of 50%. The results of this study showed that the Minimum Killer Concentration of chloroform fraction was 6,25%.

Keywords: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Carissa carandas*, diffusion, dilution

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian. Angka kejadian pada tahun 2016 terjadi 3 kali KLB diare yang tersebar di 3 provinsi yaitu NTT, Jawa Tengah, dan Sumatera Utara dengan jumlah penderita 198 orang dan kematian 6 orang dengan angka kematian 3,04% (Kemenkes RI 2016). Diare adalah infeksi yang menyebabkan frekuensi defekasi melebihi frekuensi normal dalam waktu 24 jam. Gambaran klinis diare adalah buang air besar dengan frekuensi lebih dari tiga kali sehari sehingga menyebabkan tubuh menjadi lesu, lemas, muntah, dan tidak nafsu makan (Kairupan *et al.* 2014). Salah satu penyebab penyakit diare adalah bakteri *Escherichia coli*.

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif yang paling sering menyebabkan diare diseluruh dunia. Bakteri *Escherichia coli* biasanya hidup dalam usus manusia dan hewan sebagai flora normal dan memiliki peranan dalam beberapa proses pencernaan makanan. *Escherichia coli* dapat berubah menjadi patogen apabila jumlah dalam saluran cerna meningkat atau berpindah tempat dari habitat normalnya di tubuh manusia (Sulastrianah *et al.* 2015). Salah satu penyebab diare karena mengkonsumsi air atau makanan yang tercemar oleh bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan infeksi pada usus. Meskipun penanganan diare sudah menggunakan antibiotik tetapi pada kenyataannya jumlah kasus diare cenderung meningkat. Hal ini disebabkan oleh sanitasi dan kemungkinan terjadinya resistensi (Sasongko 2014). Pengobatan secara tradisional telah lama digunakan, selain pengobatan dengan antibiotik. Masyarakat telah menerima dan membuktikan manfaat dan kegunaan tanaman sebagai obat dan untuk pemeliharaan kesehatan. Sebagai alternatif pilihan pengobatan untuk diare yaitu dengan menggunakan tanaman obat (Defrin *et al.* 2010).

Salah satu tanaman obat yang secara empiris dimanfaatkan sebagai antidiare yaitu daun karandas (*Carissa carandas* L.). Selain digunakan sebagai obat antidiare daun karandas secara tradisional juga digunakan sebagai stomakika dan anthelmintika. Tanaman ini tumbuh pada ketinggian 30-1.800 meter. Pohonnya berkayu setinggi 3 meter, banyak mengandung getah, cabang berduri, daun kasar berwarna hijau gelap, bunga harum, buah berwarna ungu gelap, dan berwarna hitam saat masak. Buah karandas digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, infeksi kulit, luka, untuk menambah nafsu makan, dan sebagai antidiare. Kulit batang digunakan untuk infeksi kulit, dan daun karandas efektif untuk menyembuhkan diare, demam, sakit telinga, nyeri mulut dan tenggorokan, serta penyakit sifilis (Ali *et al.* 2018). Daunnya mengandung triterpenoid, carissin, carandinol, tanin, asam oleanolic, asam ursolic, asam batulinic, stigmasterol, dan β -sitosterol (Siddiqui *et al* 2003; Begum *et al* 2013; Mehmood *et al* 2014). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun karandas mengandung senyawa alkaloida, saponin, terpenoid, flavonoid, tanin, dan steroid (Verma *et al.* 2011).

Menurut penelitian Wong (2012), senyawa metabolit sekunder asam ursolic memiliki aktivitas sebagai antibakteri pada tanaman *Melastoma malabathricum* L. terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian Edilu *et al.* (2015) senyawa β -sitosterol dan stigmasterol memiliki aktivitas antibakteri pada tanaman *Caylusea abyssinica* terhadap bakteri *Escherichia coli*. Setzer *et al.* (2000) melaporkan bahwa asam betulinat, asam oleanolic, dan asam ursolic yang diisolasi dari ekstrak kloroform kulit batang *Syncarpia glomulifera* terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas antibakteri. Senyawa yang termasuk golongan triterpenoid yaitu asam oleanolic, asam ursolic (Shiddiqui *et al.* 2003), carissin (Swami *et al.* 2010), carandinol (Begum *et al.* 2013), asam batulinic (Setzer *et al.* 2000). Stigmasterol dan β -sitosterol termasuk dalam golongan senyawa sterol (triterpena) (Harborne 1987).

Beberapa penelitian tentang pengujian aktivitas antibakteri daun karandas telah banyak dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Agarwal *et al.* (2012) pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etanol, etil asetat daun karandas berpotensi sebagai

antibakteri. Diameter daya hambat yang didapat berturut-turut 21,0 mm; 19,5 mm; 22,0 mm pada konsentrasi 50%. Pada penelitian Verma *et al.* (2011) terhadap bakteri *Escherichia coli*, ekstrak dengan pelarut aseton menunjukkan diameter daya hambat sebesar 9 mm dan pada etanol sebesar 5 mm.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji potensi dari fraksi-fraksi daun karandas. Penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji aktivitas fraksi-fraksi dari ekstrak daun karandas terhadap *Escherichia coli*. Metode penyarian yang digunakan yaitu maserasi menggunakan pelarut etanol 70% karena pelarut ini merupakan cairan penyari yang selektif. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut nonpolar, semipolar, dan polar. Untuk pelarut nonpolar digunakan *n*-heksan, pelarut semi polar digunakan kloroform, dan pelarut polar digunakan air. Tahap fraksinasi ini bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya dan memperoleh senyawa dalam jumlah maksimal.

Pelarut yang digunakan pada tahap fraksinasi yaitu pelarut *n*-heksan, kloroform, dan air. Pelarut *n*-heksan yang dapat menyari senyawa kimia bersifat non polar yaitu steroid, triterpenoid, kumarin, polimetoksi flavon, lipida, resin, xantofil, dan klorofil (Puspodewi *et al.* 2015). Pelarut kloroform bersifat semi polar yang dapat menarik senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid dan terpenoid, diantaranya asam oleanolic, asam ursolic, asam batulinat, stigmasterol, β -sitosterol, dan carandinol. Pelarut air yang bersifat polar dapat menarik senyawa kimia yaitu anthosianin, tanin, saponin, terpenoid, polipeptida, dan lektin (Tiwari *et al.* 2011).

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode difusi dan dilusi (pengenceran). Penggunaan metode kertas cakram/*disc diffusion* bertujuan untuk skrining aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat yang berwarna bening di sekitar cakram, sehingga dapat diketahui fraksi teraktifnya. Fraksi teraktif dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

B. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat ditarik permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Kedua, manakah dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

Ketiga, berapakah nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi paling aktif dari ekstrak etanol daun karandas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, mengetahui manakah yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif diantara ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi paling aktif dari ekstrak etanol daun karandas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan tambahan pengetahuan kepada masyarakat tentang manfaat daun karandas. Daun karandas dimanfaatkan untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* khususnya untuk pengobatan secara tradisional. Menambah wawasan mengenai sumber obat alami dari tanaman yang ada di

Indonesia. Penelitian ini diharapkan berguna bagi penelitian lain sebagai acuan atau tambahan informasi dalam melakukan penelitian terhadap daun karandas sebagai antibakteri.