

**POTENSI ANTIBIOFILM FRAKSI DAUN BINTARO
(*Cerbera odollam*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 6538**



THERESIA CHANDITYA FANIA

2443013123

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**POTENSI ANTIBIOFILM FRAKSI DAUN BINTARO
(*CERBERA ODOLLAM*) TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
ATCC 6538**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

**THERESIA CHANDITYA FANIA AYUNINGTYAS
2443013123**

Telah disetujui pada tanggal 22 Mei 2017 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I,



Lisa Soegianto, M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

Pembimbing II,



Dra. Hj. Liliek S. Hermanu, MS., Apt.
NIK. 241.15.0838

Mengetahui,
Ketua Penguji



Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.98.0351

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **POTENSI ANTIBIOFILM FRAKSI DAUN BINTARO (*Cerbera odollam*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 6538** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 22 Mei 2017



Theresia Chanditya Fania
2443013123

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
Adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 22 Mei 2017



Theresia Chanditya Fania
2443013123

ABSTRAK

POTENSI ANTIBIOFILM FRAKSI DAUN BINTARO (*Cerbera odollam*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

THERESIA CHANDITYA FANIA AYUNINGTYAS
2443013123

Biofilm *Staphylococcus aureus* adalah pertahanan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik, sehingga *Staphylococcus aureus* menjadi resisten terhadap antibiotik. Penelitian tentang bahan alam sebagai antibiofilm sangat diperlukan untuk menyelesaikan masalah tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibiofilm fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun bintaro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 serta mengetahui golongan senyawa apa dalam fraksi aktif daun bintaro yang mempunyai aktivitas antibiofilm. Metode maserasi dengan pelarut etanol 96% digunakan untuk ekstraksi daun bintaro, lalu difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Setiap fraksi diuji antibiofilm pada *microplate* mulai konsentrasi 300000 ppm dengan pengenceran berderet. Antibiotik pembanding yang digunakan dalam penelitian adalah tetrasiklin HCl dengan konsentrasi 1500 ppm dengan pengenceran berderet. Pembacaan uji antibiofilm dibantu dengan larutan kristal violet 1% pada panjang gelombang 595 nm dengan metode spektrofotometri. Data hasil pengujian aktivitas antibiofilm fraksi daun bintaro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 berupa % penghambatan biofilm. Persen penghambatan biofilm terbesar pada fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air berturut-turut 73,05% (4687,5 ppm), 97,25% (150000 ppm), dan 96,289% (75000 ppm). Fraksi etil asetat sebagai fraksi dengan aktifitas terbesar daun bintaro menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin steroid, tanin/polifenol, dan saponin triterpenoid.

Kata kunci : Biofilm, fraksi daun bintaro, *Staphylococcus aureus*, KLT, metabolit sekunder

ABSTRACT

ANTIBIOFILM POTENTIAL OF THE FRACTION OF BINTARO (*Cerbera odollam*) LEAVES AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

THERESIA CHANDITYA FANIA AYUNINGTYAS
2443013123

Staphylococcus aureus's biofilms are difficult to eradicate, so that *Staphylococcus aureus* become resistance towards antibiotics. Research on natural ingredients as antibiofilm is necessary to support this issue. This study aimed to determine antibiofilm activity of the *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of bintaro leaves against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 as well as knowing what class of compounds in the active bintaro leaves fraction that have antibiofilm activity. Bintaro leaves were extracted using maceration method with 96% ethanol, followed by fractionation using *n*-hexane, ethyl acetate and water. Each fraction was tested with antibiofilm in microplate, started with concentration of 300000 ppm by dilution in a row. Comparator antibiotic that was used in the study was tetracycline HCl at a concentration of 1500 ppm. Antibiofilm activity observation was assisted with a solution of 1% crystal violet in wavelength of 595 nm using spectrophotometric method. The testing result of antibiofilm activity from Bintaro Leaves Fraction against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 showed in% inhibition of biofilm. The inhibition percentage of biofilm on *n*-hexane, ethyl acetate and water fraction were 73.05% (4687.5 ppm), 97.25% (150000 ppm), and 96.289% (75000 ppm), respectively. Ethyl acetate fraction as the most active fraction contained flavonoids, alkaloids, steroidal saponins, tannins / polyphenols and saponins triterpenoids.

Keywords: biofilms, bintaro leaves fraction, *Staphylococcus aureus*, TLC, secondary metabolite.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan bimbingannya, saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul Potensi Antibiofilm Fraksi Daun Bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan serta motivasi dari berbagai pihak sejak masa perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, rasa terima kasih yang sebesar-besarnya hendak disampaikan kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat, rahmat, perlindungan dan penyertaan-Nya selama pengerjaan skripsi ini.
2. Orang tua Agus Chandra Kusuma dan Agnes Dina Sudihastuti, adik-adik dan semua keluarga besar yang telah memberikan banyak dukungan baik secara moral, material maupun spiritual serta memberikan semangat agar skripsi ini dapat terselesaikan dengan sebaik-baiknya.
3. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing I dan kepala Laboratorium Mikrobiologi, yang telah meluangkan waktu, pikiran serta tenaga dalam memberikan bimbingan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Hj. Liliek S.Hermanu, M.S., Apt, selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran serta tenaga untuk memberikan bimbingan, dukungan baik moral maupun spiritual serta motivasi yang tinggi dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Martha Ervina, S.Si, M.Si., Apt selaku Dosen Penguji I yang telah memberikan bimbingan serta waktu selama pengujian berlangsung, terima kasih atas saran serta dukungan selama penulisan skripsi ini
6. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt selaku Dosen Penguji II dan Dekan Fakultas Farmasi yang telah memberikan bimbingan serta waktu selama pengujian berlangsung, terima kasih atas saran serta dukungan selama penulisan skripsi ini.
7. Dra. Idajani Hadinoto, MS., Apt., selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan dukungan selama perkuliahan dan skripsi ini.
8. Seluruh laboran Laboratorium khususnya Mas Antok, Mas Dwi, Mas Tri, dan lainnya yang turut membantu penyelesaian naskah skripsi ini.
9. Juan Satria Gendra yang telah menemani dan memberi dukungan serta menjadi teman yang sangat baik bagi penulis.
10. Teman-teman seperjuangan, Dwi Rahma Suci Lestari, Billy Surya Saputra, Maria Virra Reda Radja, Oda Shantina Prasetya, Made Uthari, Sondha Tabita, Fhillania Kanja, Suwandi Wonowijaya, Dwi Augusnita Sari, Cynthia Christy Santoso, Venny Fransiska Soewanko, Nancy Grace Silalahi yang telah memberikan semangat dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Mengingat bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dikarenakan skripsi ini merupakan pengalaman belajar sehingga kritik dan saran dari semua pihak sangat diharapkan bagi penulis. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis Penelitian	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Infeksi	9
2.2 Biofilm	9
2.2.1 Definisi Biofilm	9
2.2.2 Struktur Biofilm	10
2.2.3 Pembentukan Biofilm	11
2.2.4 Pematangan Biofilm	13
2.2.5 Pengendalian Biofilm	14
2.3 Hubungan Pembentukan Biofilm dan Penyakit	16
2.3.1 Permukaan Abiotik	16
2.3.2 Permukaan Biotik	17

	Halaman
2.4 Resistensi Antibiotik terhadap Biofilm	18
2.5 Antibiotik Pembanding Tetrasiklin HCl	19
2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.7 Tinjauan tentang Tanaman Bintaro	21
2.7.1 Taksonomi	22
2.7.2 Morfolgi	22
2.7.3 Kandungan kimia	23
2.7.4 Kegunaan	23
2.8 Metode Ekstraksi	24
2.8.1 Ekstraksi dengan menggunakan pelarut	24
2.8.2 Destilasi uap	25
2.8.3 Cara ekstraksi lainnya	26
2.9 Kromatografi Lapis Tipis untuk Tanaman Bintaro	27
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian	29
3.2 Variabel penelitian	29
3.2.1 Variabel bebas	29
3.2.2 Variabel terkendali	29
3.2.3 Variabel terikat	30
3.3 Bahan dan Alat Penelitian	30
3.3.1 Alat penelitian	30
3.3.2 Tanaman Uji	30
3.3.3 Bakteri Uji	30
3.3.4 Bahan lainnya	31
3.4 Rancangan Penelitian	31
3.5 Metode Penelitian	32

	Halaman
3.5.1 Pemeriksaan Makroskopis Daun Bintaro	32
3.5.2 Pengambilan Daun Bintaro (<i>Cerbera odollam</i>)	32
3.5.3 Pemeriksaan Mikroskopis Daun Bintaro	32
3.5.4 Pembuatan Serbuk Daun Bintaro	33
3.5.5 Standarisasi Mutu Simplisia	33
3.5.6 Proses Esktraksi Daun Bintaro	35
3.5.7 Standarisasi Ekstrak	35
3.5.8 Skrining Fitokimia Ekstrak Kental Daun Bintaro	37
3.5.9 Proses Fraksinasi Ekstrak Daun Bintaro	39
3.5.10 Pembuatan 0.5 <i>Mc.Farland I</i>	40
3.5.11 Pemeriksaan <i>Bakteri Staphylococcus aureus</i>	40
3.5.12 Pembuatan Suspensi Bakteri	41
3.5.13 Pembuatan Media	42
3.5.14 Pembuatan Larutan Pembanding/Antibiotik ...	42
3.5.15 Uji Aktivitas Penghambatan Pembentukan Biofilm	42
3.6 Uji KLT Fraksi Daun Bintaro	44
3.7 Analisis Data	44
3.8 Skema Kerja	45
3.9 Desain Pengisian <i>Microplate</i>	37
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	50
4.1 Hasil Penelitian	50
4.1.1 Hasil Makroskopis Daun Bintaro	50
4.1.2 Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Daun Bintaro.....	51

	Halaman
4.1.3 Proses Pembuatan Serbuk Bunga Bintaro dan Standarisasi	52
4.1.4 Hasil Standarisasi Simplisia Tanaman Uji	53
4.1.5 Ekstraksi Ekstraksi Tanaman Uji	54
4.1.6 Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Tanaman Uji	55
4.1.7 Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Bintaro	57
4.1.8 Hasil Pemeriksaan Bakteri Uji	58
4.1.9 Pembuatan Sampel Uji	59
4.1.10 Uji Aktivitas Antibiofilm Fraksi Daun Bintaro	59
4.1.11 Hasil Skrining KLT	62
4.2 Pembahasan Hasil Penelitian	64
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76
LAMPIRAN	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Proses pembentukan biofilm	12
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> dilihat dibawah mikroskop cahaya dengan Pengecatan Gram	21
2.3. Daun Bintaro (<i>Cerbera odollam</i> Gaertn.)	21
2.4. Struktur Cerberin, Struktur Deasetiltanghinin, Struktur Nerifolin	23
3.1. Skema kerja penelitian	45
3.2. Skema kerja pembuatan serbuk dan ekstraksi	46
3.3. Skema kerja fraksinasi	47
3.4. Skema kerja uji antibiofilm <i>Microplate U-Bottom 96 well</i> ...	48
3.5. Desain pengisian dua <i>Microplate U-Bottom 96 well</i>	49
4.1. Bintaro(<i>Cerbera odollam</i>)	51
4.2. Simplisia kering daun bintaro	53
4.3. Serbuk simplisia daun bintaro	54
4.4. Ekstrak kental daun bintaro (<i>Cerbera odollam</i>).....	55
4.5. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun bintaro (<i>Cerbera odollam</i>) Fraksi <i>n</i> -heksan, Fraksi etil asetat, Fraksi air	58
4.6. Pengamatan makroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> pada media MSA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C	59
4.7. Pengamatan mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pengecatan Gram (perbesaran 10x100)	59
4.8. Grafik persentase penghambatan biofilm fraksi pada berbagai konsentrasi	62
4.9. Grafik persentase penghambatan biofilm antibiotik Tetrasiklin HCl pada berbagai konsentrasi	62

4.10. Hasil uji KLT fraksi etil asetat daun bintaro dengan fase gerak toluen : etil asetat (4:6) 63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1. Keterangan desain pengisian <i>microplate</i>	49
3.2. Keterangan desain konsentrasi dan pengenceran bertingkat larutan uji pengisian <i>microplate</i>	49
4.1. Hasil pengamatan morfoologi daun bintaro	51
4.2. Hasil pengamatan makroskopis daun bintaro segar	52
4.3. Hasil standarisasi serbuk daun bintaro	55
4.4. Hasil standarisasi ekstrak etanol daun bintaro	56
4.5. Hasil skrining ekstrak etanol daun bintaro	57
4.6. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun bintaro	57
4.7. Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi ekstrak ekstrak etanol daun bintaro	58
4.8. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	60
4.9. Persentase penghambatan biofilm bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	61
4.10. Harga <i>Rf</i> kromatografi lapis tipis fraksi etil asetat daun bintaro	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Surat determinasi UPT Materia Medica Malang	83
B. Perhitungan standarisasi simplisia	84
C. Perhitungan rendemen ekstrak daun bintaro	86
D. Perhitungan stadarisasi ekstrak	87
E. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun bintaro.....	89
F. Perhitungan rendemen fraksinasi	90
G. Hasil Inkubasi Uji Antibiofilm dan Hasil Pewarnaan dengan Kristal violet 1%	91
H. Persentase Persen Penghambatan Biofilm.....	93