

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK DAUN PECUT KUDA
(*Stachytarpheta australis*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*
MENGUNAKAN LC-MS/MS**

(Skripsi)

Oleh

Fayza Azzahra



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PROFIL SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK DAUN PECUT KUDA (*Stachytarpheta australis*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* MENGUNAKAN LC-MS/MS

Oleh

FAYZA AZZAHRA

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin meningkat di seluruh dunia sejak beberapa dekade terakhir. Hal ini mendorong para ilmuwan untuk mengeksplor alternatif pengobatan lain yang lebih aman dan efektif, yaitu dengan menggunakan tanaman obat herbal. Salah satu jenis tanaman obat yang telah banyak diteliti dan dilaporkan memiliki efek antibakteri adalah tanaman Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*). Spesies pecut kuda sangat beragam dan diantaranya adalah Pecut Kuda (*Stachytarpheta australis*) yang memiliki bunga berwarna putih, hanya saja informasi mengenai aktivitas antibakterinya masih sangat terbatas. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji potensi ekstrak daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta australis*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode KLT Bioautografi dan metode Difusi Agar, serta menganalisis profil senyawa bioaktif yang terdapat di dalam ekstrak tanaman menggunakan metode *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS). Hasil uji KLT Bioautografi mengindikasikan ekstrak kasar, fraksi butanol kode FPKAB2, dan FPKAB3 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil uji antibakteri metode difusi agar menunjukkan bahwa fraksi FPKAB3 memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong kuat yaitu dengan diameter zona hambat yaitu 12 mm pada bakteri *S. aureus*, dan 16 mm pada bakteri *P. aeruginosa*. Hasil karakterisasi dengan LC-MS/MS diperoleh profil senyawa bioaktif dari ekstrak air daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) yang berperan dalam aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu senyawa *Diethyl bis ([(4-methyl-1,2,5-oxadiazol-3-yl) carbamoyl] oxy)methyl malonate* dengan berat molekul 471,1476 m/z terdeteksi pada waktu retensi 5,44 menit.

Kata kunci : Bakteri patogen, Senyawa bioaktif, Antibakteri, LC-MS/MS

ABSTRACT

PROFILE OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF PECUT KUDA LEAF EXTRACT (*Stachytarpheta australis*) AS AN ANTIBACTERIAL AGAINST PATHOGENIC BACTERIA *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa* USING LC-MS/MS

By

FAYZA AZZAHRA

Cases of bacterial resistance to antibiotics have been increasing around the world since the last few decades. This encourages scientists to explore other safer and more effective treatment alternatives, that was by using herbal medicinal plants. One type of medicinal plant that has been widely researched and reported to have antibacterial effects is the pecut kuda plant (*Stachytarpheta jamaicensis*). Pecut kuda are very diverse and among them is the pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) which has white flowers, but information about its antibacterial activity is still very limited. This study was conducted with the aim of testing the potential of pecut kuda leaf extract (*Stachytarpheta australis*) as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* by the Bioautography TLC method and the Agar Diffusion method, as well as analyzing the profile of bioactive compounds contained in plant extracts using the Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method. The results of the Bioautography TLC test indicated that crude extracts, butanol fractions coded FPKAB2, and FPKAB3 were able to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria. The results of the Agar Diffusion method showed that the FPKAB3 fraction had a relatively strong antibacterial activity, with an inhibitory zone diameter of 12 mm in *S. aureus* bacteria, and 16 mm in *P. aeruginosa* bacteria. The results of characterization with LC-MS/MS obtained a bioactive compound profile of pecut kuda leaf water extract (*Stachytarpheta australis*) which plays a role in antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, namely the compound Diethyl bis(4-methyl-1,2,5-oxadiazol-3-yl)carbamoyl}oxy}methyl) malonate with a molecular weight of 471.1476 m/z was detected at a retention time of 5.44 minutes.

Keyword : Pathogenic bacteria, Bioactive compounds, Antibacterial, LC-MS/MS

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK DAUN PECUT KUDA
(*Stachytarpheta australis*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP
BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*
MENGUNAKAN LC-MS/MS**

Oleh

Fayza Azzahra

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

Judul Penelitian : Profil Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta australis*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan LC-MS/MS.

Nama Mahasiswa : **Fayza Azzahra**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011011

Jurusan : Kimia

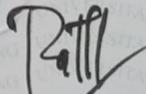
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Bandar Lampung, 13 Agustus 2024

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195809221988111001


Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.
NIP. 197707132009122002

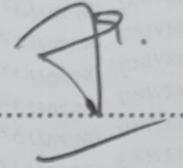
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

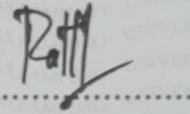
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

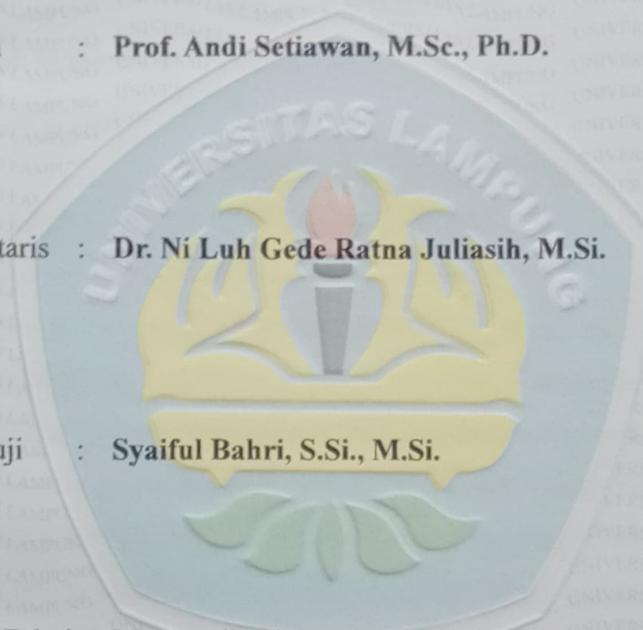
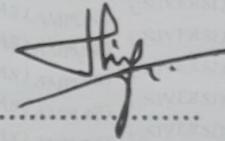
Ketua : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.



Sekretaris : Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.



Penguji : Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Agustus 2024

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fayza Azzahra
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011011
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul "**Profil Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta australis*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan LC-MS/MS**" adalah benar karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2024

Yang menyatakan,



Fayza Azzahra
NPM. 2017011011

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Fayza Azzaahra lahir di Tulang Bawang pada tanggal 23 September 2002 yang merupakan anak sulung dari Bapak Kodir Ahmad Zaelani dan Ibu Hernawati. Penulis mengawali pendidikan di TK Taruna Widiatama dan selesai pada tahun 2008, kemudian melanjutkan pendidikan di SD Negeri 1 Tri Dharma Wirajawa (2008-2014), MTs Diniyyah Putri Lampung (2014-2017), dan SMA Negeri 1 Banjar Agung (2017-2020). Pada tahun 2020 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang S1 di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi sebagai Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (KAMI) periode 2020. Penulis juga pernah aktif sebagai anggota organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) periode 2021. Selain aktif di organisasi lingkup jurusan, penulis juga pernah aktif sebagai anggota Unit Kegiatan Mahasiswa tingkat Fakultas (UKM-F) Rohani Islam, anggota Unit Kegiatan Mahasiswa tingkat Universitas (UKM-U) Birohmah. Selain organisasi, penulis juga pernah mengikuti program Membangun Desa, Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) periode 2022 di Desa Rejomulyo, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan.

Pada Desember 2023, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul “Skrining Antibakteri Ekstrak Air Tanaman Obat Lokal Daerah Tulang Bawang menggunakan Metoda KLT Bioautografi”, setelah itu penulis mulai mengerjakan tugas akhir sebagai salah satu syarat kelulusan sebagai sarjana sains.

MOTTO

“Dan janganlah kamu merasa lemah dan jangan pula bersedih hati, sebab kamulah yang paling tinggi derajatnya jika kamu orang-orang yang beriman”

- QS. Ali Imran:139 -

“Bukan ilmu yang seharusnya mendatangimu, melainkan kamu yang seharusnya mendatangi ilmu”

- Imam Malik -

“Barang siapa keluar untuk mencari sebuah ilmu, maka ia akan berada di jalan Allah hingga ia kembali”

- HR. Tirmidzi -

“Barang siapa keluar untuk mencari sebuah ilmu, maka ia akan berada di jalan Allah hingga ia kembali”

- HR. Tirmidzi -

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang”

Alhamdulillah Puji Syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan nikmat, Kesehatan, dan Kesempatan, serta *Shalawat* beriring salam semoga selalu Tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya ini sebagai wujud cinta, bakti, dan tanggung jawab kepada:

Bunda

Hernawati, Amd. Keb., yang penuh kasih mengajarkanku makna keikhlasan.

Ayah

Kodir Ahmad Zaelani, yang senantiasa mengajarkanku arti sabar dan syukur.

Adik-adikku

Syifa Ruby Zakia, Syafira Nur Azizah, dan Almira Qoiria Adiva, yang semoga senantiasa Allah lindungi dan rodhoi.

Dosen-dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila

atas seluruh ilmu, kebaikan, doa, dan nasihat yang diberikan selama ini.

Sahabat dan teman-temanku Kimia 2020

serta,

Almamaterku Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah *Subhanahu wa ta'ala* atas rahmat dan Ridho- Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Profil Senyawa Bioaktif Ekstrak Air Tanaman Pecut Kuda (*Stachytarpheta australis*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Menggunakan LC-MS/MS”** ini. Shalawat senantiasa penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW semoga kita termasuk golongan yang mendapatkan syafaatnya di Yaumul Qiyamah kelak. *Aamiin*.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa kelancaran dalam pengerjaan skripsi ini tidak luput dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua yang saya sayangi, Ayah Kodir Ahmad Zaelani dan Bunda Hernawati yang tiada henti mendukung, mendo'akan, memotivasi dan memberikan nasihat kepada penulis. Kata terimakasih tidak cukup untuk membalas semua kebaikan yang telah Ayah dan Bunda berikan.
2. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing II atas semua kritik, saran, bimbingan serta motivasi dan nasihat yang selalu diberikan dengan kesabaran dan keikhlasan kepada penulis selama penelitian.

4. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku Pembahas atas segala arahan, koreksi, saran, dan kritik yang bermanfaat kepada penulis.
5. Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc. selaku Pembimbing Akademik atas segala bimbingan, nasihat, serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
10. Adik-adik penulis, Syifa Ruby Zakia, Syafira Nur Azizah, dan Almira Qoiria Adiva yang selalu menghibur dan memberikan semangat kepada penulis melalui candaannya yang lucu.
11. Fathiya Fairuz Nadhira selaku teman seperjuangan yang sudah menemani penulis bahkan dititik terendah.
12. Kak Fendi Setiawan S.Si., M.Si., atas segala ilmu, motivasi, dan sarannya yang sangat bermanfaat.
13. Teman-teman terdekat penulis Umi Latifah dan Anggun Putri Agustin yang selalu mendukung dan memotivasi penulis dalam perkuliahan hingga penyusunan skripsi. Terima kasih untuk segala kebersamaan, tawa, canda, dan air mata.
14. Tim penelitianku ADS Research'20 yaitu Nadira, Adinda, dan Pipit yang telah memberikan semangat, motivasi, dan saran untuk menyelesaikan penelitian.
15. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Kimia LT-SIT, Kimia Anorganik / Fisik, Kimia Dasar, Kimia Organik, Biokimia, teman-teman kelas A yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis. Terima kasih atas kebersamaan selama ini.

16. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2020, terima kasih atas kebersamaan yang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
17. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna, besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua serta dapat memberikan saran yang membangun bagi penulis untuk lebih baik kedepannya.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2024

Yang menyatakan,

Fayza Azzahra

NPM. 2017011011

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan.....	3
1.3. Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tanaman Pecut Kuda.....	4
2.1.1. Taksonomi Tanaman Pecut Kuda	5
2.1.2. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder	5
2.1.3. Aktivitas Farmakologi	6
2.2. Bakteri Resisten.....	7
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
2.3. Antibakteri.....	12
2.4. Ekstraksi	13
2.5. Fraksinasi.....	14
2.6. Kromatografi	15
2.6.1. Kromatografi Kolom.....	16
2.6.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	17
2.6.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi.....	18
2.6.4. <i>Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)</i>	18
III. METODE PENELITIAN	21
3.1. Tempat dan Waktu	21
3.2. Alat dan Bahan	21
3.3. Prosedur Penelitian.....	22

3.3.1.	Pengambilan Sampel.....	22
3.3.2.	Ekstraksi.....	22
3.3.3.	Fraksinasi dan Evaporasi	22
3.3.4.	Kromatografi Kolom.....	23
3.3.5.	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	23
3.3.6.	Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Inokulum.....	24
3.3.7.	Uji KLT Bioautografi	24
3.3.8.	Uji Antibakteri	25
3.3.9.	Analisis LC-MS/MS	25
3.4.	Diagram Alir Penelitian.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		27
4.1.	Hasil Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Bioaktif.....	27
4.2.	Hasil Fraksinasi Ekstrak Pekat	30
4.3.	Hasil Pemisahan dengan Kromatografi Kolom.....	31
4.4.	Hasil KLT Bioautografi.....	32
4.5.	Hasil Uji Antibakteri	35
4.6.	Hasil Analisis LC-MS/MS	37
V. SIMPULAN DAN SARAN		45
5.1.	Simpulan.....	45
5.2.	Saran	45
DAFTAR PUSTAKA		46
LAMPIRAN.....		53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai Rf Hasil Uji KLT Bioautografi sampel FPKAA dan FPKAB.....	33
2. Pengaruh sampel FPKAB3 terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Resisten.	36
3. Klasifikasi Kekuatan Daya Antibakteri Menurut Davis & Stout (1971).	36
4. Profil Senyawa Bioaktif Ekstrak Air Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta Australis</i>)	39
5. Struktur dan Nama Senyawa Bioaktif Ekstrak Air Daun Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta australis</i>)	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman pecut kuda spesies bunga putih (<i>Stachytarpheta australis</i>).	5
2. Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik (Bottery et al., 2021).	8
3. Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i>	10
4. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
5. Mekanisme kerja antibakteri (Neu dan Gootz, 2001).	13
6. Skema kromatografi kolom.....	16
7. Diagram skema LC-MS/MS (Marvin, 2005).....	20
8. Diagram Alir Penelitian	26
9. Sampel Tanaman Pecut Kuda (<i>Stachytarpheta australis</i>).....	27
10. Kromatogram KLT Ekstrak Kasar Daun Pecut Kuda menggunakan UV ₂₅₄ nm (a), Ce(SO ₄) ₂ (b), AlCl ₃ -MeOH (c), dan Vanilin-H ₂ SO ₄ (d).....	28
11. Kromatogram KLT sampel kode FPKAA (a), dan FPKAB (b). Eluen EtOAc: MeOH (5:1).....	30
12. Kromatogram KLT sampel FPKAB1, FPKAB2, FPKAB3, dan FPKAB4.	31
13. Hasil KLT Bioautografi <i>Staphylococcus aureus</i> (a), dan KLT Bioautografi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (b). Eluen EtOAc: MeOH (5:1).	32
14. Hasil KLT Bioautogrifi <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (b).	34
15. Hasil uji difusi agar bakteri <i>S. aureus</i> (a), bakteri <i>P. aeruginosa</i> (b), kontrol (+) Ciprofloxacin, kontrol (-) Metanol, dan Sampel FPKAB3.....	35
16. Kromatogram LC-MS/MS sampel kode FPKAB2 dengan <i>Software Masslynx</i>	38
17. Kromatogram dan Spektra Massa pada Waktu Retensi 5,44	41
18. Struktur Senyawa <i>Diethyl bis({[(4-methyl-1,2,5-oxadiazol-3-yl) carbamoyl]oxy}methyl) malonate</i>	42
19. Struktur 1,2,5-Oxadiazole, Gugus Karbamoil, dan Gugus Dietil Malonat.....	42
20. Mekanisme Antibakteri dari Gugus 1,2,5-Oxadiazol terhadap Enzim Transpeptidase.....	43
21. Reaksi Hidrolisis Dietil Malonat Menjadi Asam Malonat.....	44
22. Reaksi pada Asam Asetat dengan Asam Amino Arginin	44

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin meningkat di seluruh dunia sejak beberapa dekade terakhir. Beberapa bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* telah mengembangkan resistensi terhadap sebagian besar atau bahkan seluruh kelas antibiotik yang tersedia saat ini. Hal ini mengakibatkan pengobatan infeksi menjadi semakin sulit dan membutuhkan antibiotik generasi terbaru yang lebih mahal dan berisiko efek samping yang lebih tinggi (WHO, 2018).

Menghadapi masalah resistensi antibiotik, para peneliti berupaya untuk mengeksplorasi sumber alternatif senyawa antibakteri yang lebih aman dan efektif, salah satunya adalah dengan pemanfaatan tanaman obat. Berbagai metabolit sekunder dari tanaman, seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, telah terbukti memiliki potensi aktivitas antibakteri yang dapat mengatasi bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik konvensional mendorong para ilmuwan untuk mencari alternatif pengobatan yang lebih aman dan efektif serta minim efek samping (Vaou *et al.*, 2021).

Salah satu tanaman yang telah banyak diteliti dan berpotensi sebagai agen antibakteri adalah tanaman pecut kuda bunga ungu (*Stachytarpheta jamaicensis*). Masyarakat menggunakan daun tanaman pecut kuda untuk mengobati beberapa penyakit, seperti anti radang tenggorokan, batuk, peluruh kencing (diuretik) dan rematik (Sufitri, 2015). Di samping itu tumbuhan ini juga bisa mengobati penyakit infeksi oleh mikroorganisme. Ekstrak air daun pecut kuda bunga ungu (*Stachytarpheta jamaicensis*) ini memiliki aktivitas antibakteri pada berbagai jenis bakteri meliputi *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*,

Pseudomonas aeruginosa, dan *Klebsiella pneumonia* dengan level zona hambat yang bervariasi berkisar antara 14.0 mm-25.0 mm (Yuniarni *et al.*, 2013).

Tanaman pecut kuda merupakan kelompok Famili *Verbenaceae* yang terdiri dari beberapa spesies, dan salah satunya adalah pecut kuda bunga putih (*Stachytarpheta australis*). Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilakukan oleh Suhirman (2015) pada daun tanaman pecut kuda bunga putih (*Stachytarpheta australis*), hasil skrining mengindikasikan adanya kandungan alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, dan glikosid. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terindikasi tersebut memiliki gugus hidroksil ($-OH$), gugus amina ($-NH_2$), dan gugus karbonil ($-C=O$) yang mampu berikatan dengan gugus polar pada protein membran sel bakteri patogen, sehingga dapat merusak konformasi protein membran sel dan mengganggu fungsi normal protein membran sel bakteri (Borges *et al.*, 2012).

Informasi mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman pecut kuda bunga putih (*Stachytarpheta australis*) terhadap bakteri patogen masih sangat terbatas. Keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi pada tanaman pecut kuda bunga putih (*Stachytarpheta australis*) menunjukkan adanya potensi pemanfaatan tanaman pecut kuda bunga putih (*Stachytarpheta australis*) sebagai agen antibakteri pada penelitian ini. Oleh karena itu, berdasarkan uraian latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi antibakteri tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) terhadap bakteri resisten.

Pada penelitian ini digunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi yang merupakan kombinasi aplikasi KLT dan uji bioaktivitas secara langsung, sehingga dapat mempercepat proses identifikasi senyawa bioaktif pada tanaman. *Profiling* berbasis *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) pada ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri resisten dapat menambah informasi terkait komponen senyawa bioaktif yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut.

1.2. Tujuan

Berdasarkan latar belakang di atas, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Menguji potensi ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi dan uji difusi agar.
2. Menganalisis profil senyawa bioaktif yang berpotensi antibakteri dengan metoda *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).

1.3. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Menambah informasi baru tentang profil senyawa bioaktif pada daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri patogen.
2. Sebagai dasar kajian lebih lanjut untuk pengembangan potensi sumber daya lokal.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Pecut Kuda

Pecut kuda dengan nama daerah disebut jarong, jarongan, jaronglalaki, daun sangketan, ki meurit beureum (Sunda); biron, karomenal, nyarang, sekar laru, ngadirenggo, remek getih, rumjarum, laler mengeng (Jawa); sui in sui, sangko hidung (Sulawesi); Rai rai, dodinga (Maluku). Tanaman pecut kuda merupakan tumbuhan liar yang sering dijumpai di ladang yang tidak terawat atau di sisi jalan dan merupakan tanaman tera tahunan, tumbuh tegak, dengan tinggi mencapai 50 cm. Pecut kuda termasuk dalam famili *Verbenaceae* (Dalimartha, 2000).

Jenis tumbuhan termasuk tanaman menahun dengan tinggi tumbuhan mencapai 1 m dan tumbuh melebar sampai 2 m. Batang mula-mula tegak kemudian bercabangcabang, batang utama berwarna hijau, bentuk batang bersegi empat, cabang batang yang dekat dengan tanah berwarna hijau keabu-abuan sampai hijau kecokelatan. Daun tunggal berhadapan bentuk helaian daun bulat telur sampai lanset, pertulangan daun menyirip, dan sedikit melengkung di ujung tulang daun. Panjang daun 1 - 4,5 inchi dan lebar daun 0,75 – 2,5 inchi, pangkal runcing, tepi bergerigi, ujung runcing sampai meruncing. Bunga majemuk bulir, panjang ibu tangkai bunga sampai 30 cm. Setiap bunga duduk pada ibu tangkai bunga dengan tangkai bunga yang sangat pendek. Ibu tangkai bunga berbentuk panjang dan melengkung seperti bentuk pecut kuda. Kelopak bunga terdiri atas lima helai berbentuk tabung yang menempel pada ibu tangkai bunga, berwarna hijau.

Mahkota bunga berlekatan membentuk tabung mahkota, berwarna putih-ungu, dengan bagian tengah tabung berwarna putih, ujung tabung mahkota bunga terbagi menjadi 5 lobus (cuping). Tinggi tabung 0,5 – 1,0 cm. Benang sari 5 berseling dengan lobusnya, kepala sari berwarna kuning kecokelatan. Putik

berjumlah 1, terletak di bagian tengah helaian mahkota bunga. Berbunga sepanjang tahun (Backer *and* Brink, 1965). Penampakan fisik tanaman pecut kuda dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Pecut Kuda Spesies Bunga Putih (*Stachytarpheta australis*).

2.1.1. Taksonomi Tanaman Pecut Kuda

Kedudukan taksonomi untuk jenis pecut kuda di dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Sub Kingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Famili : Verbenaceae
Genus : Stachytarpheta
Spesies : *Stachytarpheta australis*

2.1.2. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak terlibat langsung dalam pertumbuhan, perkembangan, atau reproduksi makhluk hidup. Senyawa metabolit

sekunder memiliki fungsi yang berbeda-beda, dan senyawa ini biasa digunakan untuk pertahanan tanaman karena pada umumnya senyawa metabolit sekunder memiliki sifat racun bagi hewan (Kusbiantoro dan Purwaningrum, 2018).

Ekstrak etanol daun pecut kuda dengan peraksi etil asetat diindikasikan mengandung senyawa flavonoid, tannin, sterol dan triterpen (Indrayani dkk., 2006). Ekstrak etanolnya di uji pada bakteri dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai MIC (*Minimum Inhibitory concentration*) 5,00 mg/mL (Sasidharan dan Yoga, 2007). Selain itu berdasarkan penelitian Okoronkwo and Echeme (2015), ekstrak air daun tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri pada berbagai jenis bakteri meliputi *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumonia* dengan level zona hambat yang bervariasi berkisar antara (14.0-25.0 mm).

Hasil skrining Fitokimia terhadap ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) yang dilakukan oleh Indrayani, dkk. (2006) melaporkan fraksi heksana hanya mengandung senyawa sterol dan triterpen; fraksi kloroform mengandung senyawa saponin, sterol, dan triterpen; fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, sterol dan triterpen, sedangkan fraksi metanol mengandung tanin, saponin, sterol, dan triterpen (Indrayani dkk, 2006). Kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin pada daun pecut kuda dapat berfungsi sebagai antiseptik dan mempercepat penyembuhan luka (Sasidharan dan Yoga, 2007).

2.1.3. Aktivitas Farmakologi

Seluruh bagian tanaman pecut kuda spesies bunga ungu (*Stachytarpheta jamaicensis*) bisa dimanfaatkan sebagai obat mulai dari akar, batang, daun dan bunga. Berbagai penelitian ilmiah telah mengungkap potensi farmakologis yang dimiliki oleh tanaman ini. Salah satu aktivitas utama yang banyak diteliti adalah efek anti-inflamasi.

Beberapa studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak daun pecut kuda memiliki kemampuan menghambat mediator-mediator inflamasi, seperti prostaglandin, leukotrien, dan sitokin proinflamasi (Kanaan *et al.*, 2019; Odeyemi & Bradley, 2018). Mekanisme penghambatan ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa fenol, terpenoid, dan flavonoid yang terdapat pada tanaman ini (Kanaan *et al.*, 2018; Gopinath & Kumari, 2014). Selain itu, aktivitas antioksidan yang kuat dari ekstrak pecut kuda juga berkontribusi pada efek antiinflamasinya melalui penangkapan radikal bebas (Gopinath & Kumari, 2014; Sabiu *et al.*, 2015).

Selain efek anti-inflamasi dan antioksidan, tanaman pecut kuda juga telah menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri yang menarik. Beberapa studi melaporkan bahwa ekstrak dari daun, batang, dan akar pecut kuda memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhimurium* (Owolabi *et al.*, 2010; Esimone *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2018). Mekanisme penghambatan diduga melibatkan interaksi senyawa aktif tanaman, seperti alkaloid, terpenoid, dan fenol, dengan komponen vital pada membran sel bakteri (Tiwari *et al.*, 2018; Esimone *et al.*, 2012).

2.2. Bakteri Resisten

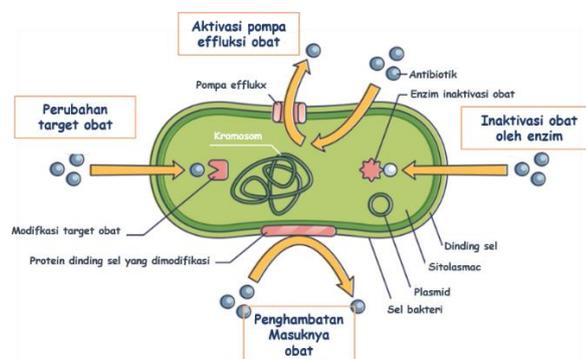
Bakteri merupakan mikroorganisme prokariota yang memiliki ukuran sel berkisar 1 µm. Secara umum, bakteri tidak memiliki klorofil dan proses reproduksinya terjadi secara aseksual melalui pembelahan sel. Bakteri diklasifikasikan menjadi dua, yaitu bakteri Gram-positif dan Gram-negatif yang didasarkan pada responsnya terhadap prosedur pewarnaan Gram. Bakteri Gram-positif akan mempertahankan warna kristal violet pada pewarnaan Gram dan bakteri Gram-negatif warna kristal violet akan menghilang setelah dibilas dengan alkohol dan aseton. Bakteri Gram-positif dan Gram-negatif dibedakan berdasarkan dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram-positif tersusun atas peptidoglikan dan asam teikoat, sedangkan pada bakteri Gram-negatif dinding sel tersusun atas peptidoglikan dan membran luar (Jawetz *et al.*, 2004).

Resistensi merupakan keadaan dimana suatu bakteri menunjukkan ketahanan terhadap suatu antibiotik. Bakteri multiresisten muncul akibat dari penggunaan antibiotik secara terus-menerus, pengobatan mandiri, dan paparan infeksi di rumah sakit. Bakteri multiresisten diketahui bertanggung jawab atas 15,5% infeksi yang terjadi di rumah sakit di seluruh dunia (Mulani *et al.*, 2019). Resistensi bakteri terhadap antibiotik terjadi melalui banyak mekanisme genetik yang berfungsi untuk melawan antimikroba, sehingga bakteri yang resisten cenderung semakin rumit pendeteksiannya.

Spektrum aktivitas setiap obat merupakan hasil gabungan dari beberapa faktor, dan yang paling penting adalah mekanisme kerja obat primer. Demikian pula fenomena terjadinya resistensi obat tidak bersifat universal baik dalam hal obat maupun mikroorganismenya. Menurut Neu dan Gootz, (2001) Perubahan-perubahan dasar dalam hal kepekaan mikroorganisme terhadap antimikroba tanpa memandang faktor genetik yang mendasarinya adalah terjadinya keadaan-keadaan sebagai berikut:

1. Dihasilkannya enzim yang dapat menguraikan antibiotik seperti enzim penisilinase, sefalosporinase, fosforilase, adenilase dan asetilase.
2. Perubahan permeabilitas sel bakteri terhadap obat.
3. Meningkatnya jumlah zat-zat endogen yang bekerja antagonis terhadap obat.
4. Perubahan jumlah reseptor obat pada sel bakteri atau sifat komponen yang mengikat obat pada targetnya.

Secara umum, mekanisme resistensi pada bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik (Bottery *et al.*, 2021).

1. Aktivasi pompa efluksi obat (*Activation of drug efflux pump*)

Bakteri dapat mengaktifkan sistem pompa efluksi untuk mengeluarkan antibiotik dari dalam sel, sehingga konsentrasi antibiotik di dalam sel menjadi rendah dan tidak dapat mencapai target yang diperlukan untuk membunuh bakteri (Fernandez dan Hancock, 2012).

2. Inaktivasi obat melalui enzim (*Inactivation of drug by enzyme*)

Bakteri dapat memproduksi enzim yang dapat memodifikasi atau menghancurkan struktur antibiotik, sehingga antibiotik tersebut tidak dapat lagi berikatan dan menghambat target yang diperlukan bakteri. Contohnya adalah produksi enzim β -laktamase oleh bakteri untuk menghidrolisis antibiotik β -laktam (Drawz dan Bonomo, 2010).

3. Penghambatan masuknya obat (*Inhibition of drug uptake*)

Bakteri dapat mengubah permeabilitas membran sel sehingga menghambat masuknya antibiotik ke dalam sel. Hal ini dapat dilakukan dengan menurunkan ekspresi protein saluran (porin) yang biasanya digunakan untuk transporter antibiotik (Fernandez dan Hancock, 2012).

4. Perubahan target obat (*Alternation of drug target*)

Bakteri dapat mengubah struktur atau ekspresi target antibiotik, sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dan menghambat target tersebut secara efektif. Contohnya adalah perubahan struktur PBP pada *Staphylococcus aureus* yang merupakan target antibiotik β -laktam (Drawz dan Bonomo, 2010).

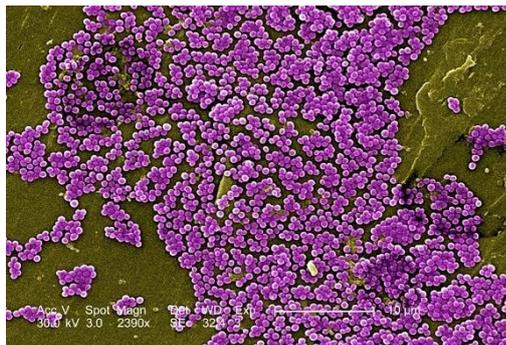
2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Berikut adalah klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Ferianto, 2012) :

Kingdom : Bacteria
 Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales
 Famili : Micrococceae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, Gram positif, non motil, tidak membentuk spora, beberapa strain yang langsung diambil dari penderita membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada *blood agar* dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (pada media MSA berwarna kuning) (Tyasningsih dkk., 2010). Visualisi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) disajikan pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus*

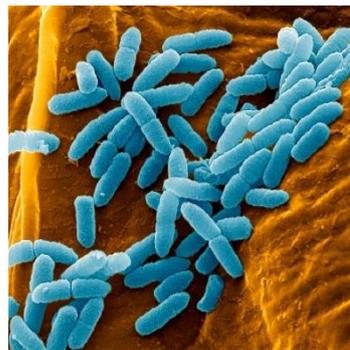
Staphylococcus aureus tumbuh pada suhu 6,5-46 °C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. *Staphylococcus aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning (Dewi, 2013).

2.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Berikut adalah klasifikasi dari *Pseudomonas aeruginosa* menurut Suyono dan Salahudin, (2011) :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang dengan ukuran diameter sekitar 0,5-0,8 mikron, bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (*sheat*), tidak bergerombol tetapi memiliki flagella polar tunggal yang memungkinkannya bergerak dengan cepat (Todar, 2020). Bakteri ini bersifat Gram-negatif, tidak membentuk spora, dan beberapa strain dapat menghasilkan kapsul (Lister *et al.*, 2009). Koloni *Pseudomonas aeruginosa* umumnya berwarna hijau-kebiruan atau biru-hijau akibat pigmen yang dihasilkan, seperti pioverdin dan piosianin (Driscoll *et al.*, 2007). Visualisi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* disajikan pada Gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Strain dari patogen ini memanfaatkan mekanisme resistensi intrinsik tingkat tinggi dan dapat melawan sebagian besar antibiotik. Resistensi yang terjadi pada bakteri ini bersifat multifaktorial dan adaptif. *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan untuk memperoleh mekanisme resistensi baru terhadap antibiotik. Selain itu, *P. aeruginosa* merupakan patogen multifungsi yang memiliki jaringan

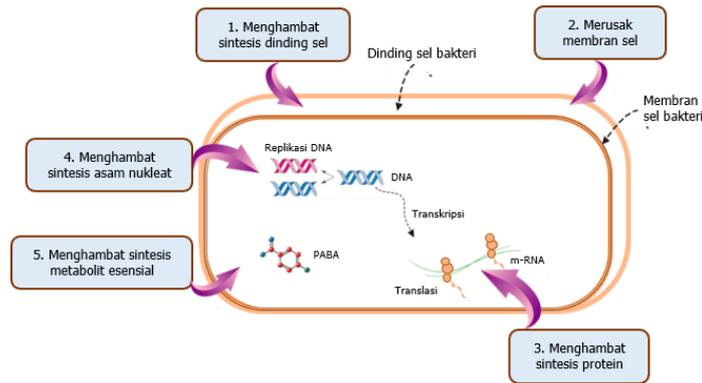
regulasi dengan tingkat kompleksitas tinggi, sehingga efek yang muncul dari adanya gangguan oleh bakteri ini akan menyebabkan efek tidak langsung pada fisiologis seluler dan bahkan komplikasi (Pang *et al.*, 2019).

2.3. Antibakteri

Antibakteri adalah zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang mempunyai khasiat sebagai antimikroba. Berdasarkan mekanisme kerjanya antimikroba mampu menghambat sintesis metabolit esensial, sintesis dinding sel mikroba, sintesis protein, sintesis asam nukleat sel mikroba, dan mampu merusak membran plasma (Pratiwi, 2008). Antibakteri yang ideal menunjukkan toksisitas yang selektif. Seringkali lebih bersifat relatif dan tidak mutlak hal ini menyatakan bahwa konsentrasi obat-obatan yang toleran terhadap inang, mungkin merusak mikroorganisme penyebab infeksi (Jawetz *et al.*, 2005).

Konsentrasi terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), sedangkan konsentrasi terendah yang diperlukan untuk membunuh pertumbuhan mikroba disebut Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dan untuk mengetahui potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal. Zona radikal merupakan suatu daerah di sekitar *disk* yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan zona irradikal yaitu daerah di sekitar disk pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tetapi tidak dimatikan. Pada zona irradikal akan terlihat pertumbuhan bakteri yang kurang subur dibandingkan daerah diluar pengaruh antibakteri tersebut (Jawetz *et al.*, 2005).

Berdasarkan targetnya, mekanisme antibakteri dapat dibagi menjadi 5 yaitu menghambat sintesis dinding sel, merusak membran sel, menghambat sintesis protein, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat sintesis metabolit esensial (Rollando, 2019).



Gambar 5. Mekanisme Kerja Antibakteri (Neu dan Gootz, 2001).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen atau senyawa aktif pada suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi didasarkan pada distribusi senyawa yang terlarut (Khopkar, 2002). Metode ekstraksi yang umum digunakan untuk mengekstrak tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis*) adalah maserasi, dan perebusan / dekoktasi.

1. Maserasi

Metode ekstraksi ini sangat sederhana dan dapat digunakan untuk mengekstraksi zat yang tahan dan tidak tahan proses pemanasan, akan tetapi kekurangannya adalah membutuhkan waktu yang lama hingga beberapa hari serta membutuhkan pelarut dalam jumlah banyak. Kelebihan metode maserasi yaitu mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai, pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel, pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Susanty dan Bachdim, 2016).

2. Perebusan atau Dekoktasi

Menurut Winarti dkk. (2017), metode perebusan atau dekoktasi merupakan teknik ekstraksi sederhana dengan memanfaatkan pelarut air pada suhu tinggi. Metode ekstraksi dekoktasi melibatkan perebusan bahan tanaman dengan air pada suhu mendidih selama waktu tertentu, biasanya berkisar antara 10-30 menit. Proses

perebusan dapat meningkatkan kelarutan senyawa-senyawa polar yang terkandung dalam simplisia tumbuhan, termasuk senyawa fenol, flavonoid, dan tanin (Azwanida, 2015).

Salah satu kelebihan utama dari metode ekstraksi dekoktasi adalah efisiensi dan kemudahannya. Dekoktasi merupakan teknik ekstraksi yang relatif sederhana, tidak memerlukan peralatan khusus, dan dapat dilakukan dengan mudah di lingkungan laboratorium (Azwanida, 2015). Hal ini membuatnya menjadi metode yang efisien dan terjangkau, terutama untuk penelitian skala laboratorium yang menggunakan tanaman obat herbal. Selain itu, air sebagai pelarut polar dapat dengan baik mengekstrak senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar, seperti polifenol, flavonoid, dan glikosida (Nacz & Shahidi, 2006). Senyawa-senyawa polar ini sering kali berkontribusi pada aktivitas farmakologis tanaman obat, sehingga ekstraksi menggunakan air dapat menjadi pilihan yang sesuai.

Penggunaan air sebagai pelarut ekstraksi juga dinilai lebih aman dan ramah lingkungan dibandingkan dengan pelarut organik (Azmir *et al.*, 2013). Hal ini sejalan dengan tren obat herbal yang mengedepankan aspek keamanan dan keberlanjutan. Selanjutnya, ekstraksi dengan air panas dapat mempertahankan integritas struktur senyawa bioaktif tertentu, seperti polisakarida dan glikosida, yang dapat rusak jika diekstraksi dengan pelarut organik (Rajauria, 2015). Hal ini menjadi penting dalam penelitian tanaman obat herbal, di mana keutuhan struktur senyawa dapat mempengaruhi potensi biologisnya. Metode dekoktasi juga mirip dengan cara pengolahan tradisional tanaman obat, sehingga dapat merefleksikan potensi pemanfaatan secara tradisional (Heinrich *et al.*, 2012). Hal ini dapat menjadi pertimbangan penting bagi penelitian yang berfokus pada tanaman obat herbal.

2.5. Fraksinasi

Fraksinasi atau partisi ekstrak adalah metode yang digunakan untuk memisahkan komponen kimia dari ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya. Ekstrak yang diperoleh masih kasar dan memiliki kandungan yang sangat

kompleks, sehingga perlu dilakukan fraksinasi atau partisi cair-cair. Biasanya, ekstrak metanol atau ekstrak etanol dilarutkan dalam air sampai larut dengan baik. Kemudian dipartisi sesuai tingkat polaritas pelarut mulai dari n-heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol (Saifudin, 2014).

Adapun macam-macam metode partisi yaitu partisi cair-cair dan partisi padat-cair. Partisi cair-cair juga dikenal sebagai metode corong pisah. Jika cairan ditambahkan ke ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan cairan yang pertama, maka dua lapisan akan terbentuk. Salah satu komponen campuran akan memiliki kelarutan di kedua lapisan (biasanya disebut fase) (Tobo, 2001). Partisi padat-cair adalah pemisahan satu komponen dari padatan dengan melarutkannya dalam pelarut, tetapi komponen lainnya tidak dapat larut dalam pelarut. Proses ini biasanya dilakukan dalam fase padat, sehingga disebut juga ekstraksi padat-cair. Dalam ekstraksi padat-cair, larutan yang mengandung komponen yang diinginkan harus tidak dapat bercampur dengan cairan lain. Proses ini banyak digunakan dalam pemisahan minyak dari bahan yang mengandung minyak (Aji dkk., 2017).

2.6. Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan komponen-komponen dalam suatu campuran berdasarkan perbedaan laju pergerakannya saat melewati fasa diam (stasioner) akibat perbedaan koefisien partisi atau adsorpsi. Fase diam merupakan zat padat dalam kolom dengan ukuran sama yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa secara maksimal. Fase gerak merupakan cairan atau gas yang melewati fase diam (Wonorahardjo, 2013).

Dalam proses kromatografi, sampel yang mengandung campuran senyawa diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi. Komponen-komponen dalam sampel akan bergerak melalui fase diam dengan kecepatan yang berbeda-beda tergantung pada sifat fisika-kimia masing-masing komponen. Komponen yang lebih mudah berinteraksi dengan fase diam akan bergerak lebih lambat, sementara komponen yang kurang berinteraksi akan bergerak lebih cepat. Pemisahan ini kemudian akan

menghasilkan puncak-puncak kromatografi yang mewakili masing-masing komponen (Synder *et al.*, 2010).

Terdapat beberapa jenis kromatografi yang berbeda berdasarkan fase diam dan fase gerak yang digunakan, di antaranya kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), dan kromatografi cair ultra kinerja (KCU). Setiap jenis kromatografi memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, sehingga pemilihan metode kromatografi yang tepat disesuaikan dengan tujuan analisis dan sifat-sifat senyawa yang dianalisis (Heftmann, 2004).

2.6.1. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan alat yang digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa organik terutama senyawa yang memiliki sifat semi polar pada konstanta dielektrik 2 – 10 (Mamonto *et al.*, 2015). Prinsip dari kromatografi kolom adalah pemisahan yang didasarkan pada pendistribusian analit di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Eluen sebagai fase gerak dalam pemisahan menggunakan kromatografi kolom merupakan hal penting yang berperan dalam keberhasilan isolasi suatu senyawa. Eluen yang dapat digunakan pada pemisahan kromatografi kolom bervariasi, sesuai dengan kebutuhan yang berdasarkan pada tingkat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (Rahmawati, 2017).



Gambar 6. Skema Kromatografi Kolom

Pemisahan menggunakan kromatografi kolom dilakukan dengan melarutkan sampel dalam pelarut dan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi melalui puncak kolom seraya dialiri eluen secara terus-menerus ke dalam fase diam (Silaa *et al.*, 2019). Sampel dalam hal ini akan dibawa oleh eluen, sedangkan kolom yang berisi fase diam akan memisahkan komponen-komponen dalam sampel (Wati, 2016).

2.6.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi sederhana yang sering digunakan dalam tahapan identifikasi awal untuk melihat komponen – komponen yang terdapat dalam suatu sampel berdasarkan noda-noda yang muncul pada kromatogram. Fase diam yang digunakan biasanya berupa alumina atau silika gel. KLT termasuk teknik yang paling efektif dengan biaya murah untuk analisis sampel tanpa perlu melakukan pembersihan sampel dari pengotor. Karena semua sampel terletak di kromatogram, maka teknik ini merupakan teknik paling sesuai untuk pengamatan karakteristik sampel (Poole, 2003).

Komponen-komponen senyawa yang dianalisis dapat dipisahkan dan dibedakan berdasar harga *Retention Factor*/Faktor retensi (Rf). Rf didefinisikan sebagai perbandingan jarak migrasi suatu senyawa dengan jarak migrasi suatu pelarut (eluen) pada suatu waktu yang sama.

$$Rf = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

Harga Rf ini bergantung pada beberapa parameter yaitu sistem pelarut, adsorben (ukuran butir, kandunganair, ketebalan), jumlah bahan yang ditotolkan pada plat, dan suhu (Khopkar, 2002). Penelitian dalam bidang kimia organik khususnya dalam isolasi bahan alam banyak memanfaatkan analisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) karena merupakan teknik yang sederhana dan cepat untuk mengetahui komponen-komponen dalam suatu campuran ekstrak ataupun fraksi (Bele *et al.*, 2011).

2.6.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) bioautografi merupakan teknik analisis yang menggabungkan pemisahan kromatografi dan pengujian aktivitas biologis. Prinsip dasar KLT bioautografi adalah menggabungkan pemisahan senyawa dengan pengujian aktivitas biologis pada kromatogram yang dihasilkan (Dewi *et al.*, 2015; Turkmen *et al.*, 2019). Pertama, sampel dipisahkan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Kemudian, kromatogram tersebut ditempatkan pada media pertumbuhan mikroorganisme uji. Senyawa aktif yang terpisah akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada area-area tertentu, membentuk zona hambat. Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif dalam suatu ekstrak atau fraksi yang memiliki aktivitas biologis tertentu, seperti antibakteri, antifungi, atau antioksidan (Turkmen *et al.*, 2019).

Berikut adalah kelebihan dari metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi menurut Turkmen *et al.* (2019).

1. Metode yang sederhana, cepat, dan efisien.
2. Membutuhkan jumlah sampel yang relatif sedikit.
3. Dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang bertanggung jawab atas aktivitas biologis tertentu.
4. Dapat digunakan untuk memandu isolasi senyawa bioaktif dalam proses pemurnian.

Di sisi lain, metode KLT Bioautografi juga memiliki beberapa kelemahan. Adapun kelemahan dari metode ini antara lain, sensitivitas yang lebih lemah dibandingkan uji aktivitas secara langsung, dan hasil yang diperoleh bersifat kualitatif sehingga tidak dapat memberikan informasi kuantitatif (Dewi *et al.*, 2015).

2.6.4. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) atau Kromatografi cair kinerja ultra tinggi-tandem spektrometri massa (KCKUT-SM/SM) adalah teknik analisis kombinasi dari kromatografi cair sebagai pemisah

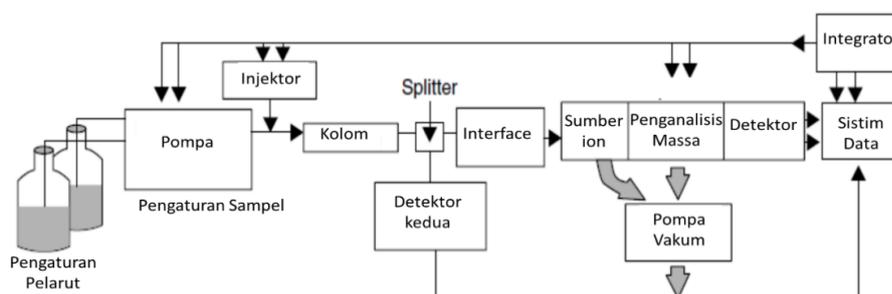
komponen-komponen analit dalam sampel, dengan spektrometri massa sebagai detektor. LC-MS/MS merupakan teknik analisis kualitatif dan kuantitatif yang efektif dengan berbagai aplikasi, seperti aplikasi klinis, termasuk pemantauan terapi obat (TDM), toksikologi, endokrinologi, pediatri, mikrobiologi, dan proteomik (Kade dkk., 2019)

Prinsip *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) didasarkan pada penggunaan dua spektrometer massa bersama-sama untuk menganalisis campuran sampel. Metode ini menggunakan dua penganalisis massa yang disusun secara berurutan dengan sel kolision (*collision cell*) di antara keduanya. Penganalisis massa digunakan untuk memilih rasio massa terhadap muatan (m/z) tertentu. Penganalisis massa pertama menganalisa rasio m/z dari ion induk, kemudian pada sel kolision ion induk bertabrakan dengan molekul gas dan terfragmentasi menjadi ion yang lebih kecil dan diperoleh rasio m/z pada penganalisa masa kedua sebagai ion produk (Kade dkk., 2019).

Keuntungan *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) tidak lepas dari keunggulan tandem spektrometri massa yang memiliki selektivitas yang tinggi karena mampu mengenali dua sifat fisik analit yang dianalisa, yaitu rasio m/z dari ion induk dan ion produk. Penggabungan dengan kromatografi cair mampu mengidentifikasi analit dengan tepat berdasarkan waktu retensi sehingga dapat meningkatkan spesifitas. Sensitivitas dari tandem spektrometri massa menunjukkan fleksibilitas dalam mengembangkan analisa senyawa baru atau biomarker, karena mampu menghasilkan batas deteksi yang lebih rendah dibandingkan metode lain (Kade dkk., 2019).

Manfaat lainnya dari metode *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) adalah tidak ada batasan massa molekul atau polaritas dari senyawa, persiapan sampel lebih sederhana, spesifitas dan sensitivitasnya lebih tinggi. Kemampuan untuk melakukan analisis multikomponen secara simultan mengidentifikasi dan mengukur beberapa analit yang dianalisa secara bersamaan dapat menurunkan biaya terutama dalam proses preparasi sampel dalam matriks biologi (Voseger dan Parhofer, 2007).

Penyiapan sampel dapat disederhanakan dengan metode ekstraksi cair-cair atau pengendapan protein, dibandingkan dengan metode preparasi sampel yang memakan waktu dan mahal seperti ekstraksi fase padat atau derivatisasi. Kolom sebagai fase diam dan fase geraknya adalah larutan yang disuntikkan. Hasil dari analisis LC-MS adalah kromatogram berupa *peak* (puncak) dan bobot molekul dari suatu senyawa sehingga dapat diketahui jenis senyawa yang dianalisis (Mangurana dkk., 2019).



Gambar 7. Diagram Skema LC-MS/MS (Marvin, 2005).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengujian, Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung pada bulan Oktober 2023 – Mei 2024. Pengambilan sampel dilaksanakan di Desa Tri Darma Wira Jaya, Kabupaten Tulang Bawang. Analisis LC-MS/MS dilaksanakan di Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) Sentul – Bogor.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, aluminium foil, neraca analitik (Wigen Hausser JD-300-3), sentrifus, laminar *air flow* (Esco), *rotary evaporator Buchii/R-210*, kolom kromatografi, tabung sentrifus, plat kaca Silika Gel 60 F₂₅₄, lampu UV Kohler, *chamber*, kertas saring, pinset, cawan petri, *oven* (Precision *Vacuum Oven*), *autoclave* (Tomy SX-700 *High Preassure Steam Sterilizer*), inkubator (Mememert *CO₂ Incubator*), mikropipet 10-100 µL dan 200-1000 µL (DragonLab), tip mikropipet (OneMed), *ring* sumuran, spatula, *hot plate stirrer* (Sojikyoo HS-12), bunsen, jarum ose, korek api, dan *liquid chromatography – mass spectroscopy* (LC-MS) ACQUITY UPLC® H-Class System (Waters, Beverly, MA, USA).

Sedangkan bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta australis*), akuades, etanol p.a, metanol p.a, etil asetat, pereaksi Ce₂SO₄, pereaksi AlCl₃-MeOH, pereaksi vanilin-H₂SO₄, kolom C₁₈ (oktadesil silika), media MH (*Mueller Hinton*), media TSB (*Trypticase Soy Broth*), pereaksi resazurin 0.05%, ciprofloxacin, suspensi bakteri

Staphylococcus aureus, dan *Pseudomonas aeruginosa* (dari deposit Laboratorium Organik Universitas Lampung).

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan merupakan bagian daun dari tanaman pecut kuda (*Stachytarpheta australis*). Sampel diambil secara acak di sepanjang jalan daerah Banjar Agung, Tulang Bawang. Sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama ± 4 hari di atas lembar plastik. Sampel daun yang sudah kering diblender hingga diperoleh serbuknya. Serbuk ditimbang dan disimpan dalam wadah kaleng tertutup untuk percobaan selanjutnya.

3.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi dengan metode perebusan atau dekoktasi mengacu pada Susanty dkk., (2019) dengan modifikasi. Serbuk tanaman kering sebanyak 20g diekstrak dengan pelarut air sebanyak 250 mL menggunakan suhu 100°C hingga air mendidih. Ekstraksi dilakukan ± 2 jam hingga volume air menyusut hingga 200 mL dan diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak dipisahkan dari endapan menggunakan sentrifus, dan kemudian disimpan pada suhu 4°C (dalam *refrigerator*) untuk penggunaan lebih lanjut.

3.3.3. Fraksinasi dan Evaporasi

Metode fraksinasi mengacu pada prosedur yang dikemukakan oleh Harborne (1998) dengan modifikasi. Fraksinasi atau partisi dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan corong pisah ukuran 250 mL. Sebanyak 30 mL ekstrak air diambil dan dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambahkan 10 mL butanol. Campuran dikocok hingga homogen dan dibiarkan selama 1 jam hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah adalah fraksi air dan lapisan atas adalah fraksi butanol. Masing-masing fraksi disimpan dalam vial. Fraksi air dimasukkan

kembali ke dalam corong, kemudian ditambahkan 10 mL butanol, dan diulangi lagi prosedur yang sama hingga total butanol yang digunakan adalah 30 mL. Fraksi butanol dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Fraksi butanol yang sudah dievaporasi hingga kering dilarutkan dengan metanol sebanyak 2-3 tetes.

3.3.4. Kromatografi Kolom

Pemisahan dengan kromatografi kolom mengacu pada metode Hostettmann *et al.* (1998) dengan modifikasi. Pemisahan kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan pelarut Metanol : Air (7:3) dan kolom C₁₈ (oktadesil silika). Kolom kromatografi diisi dengan fase diam C₁₈ yang telah diaktivasi. Sampel yang akan dipisahkan dilarutkan dalam pelarut Metanol : Air (7:3) dan dituangkan ke atas permukaan fase diam secara bertahap. Elusi dilakukan dengan menggunakan campuran pelarut yang sudah disiapkan yaitu MeOH : Air (7:3). fraksi-fraksi yang keluar dari kolom ditampung pada vial terpisah berdasarkan perbedaan warnanya.

3.3.5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang digunakan mengacu pada prosedur yang dikemukakan oleh Wagner dan Bladt (1996) dengan modifikasi. Analisis KLT dilakukan dengan menggunakan plat kaca Silika Gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam dan campuran pelarut etil asetat dan metanol dengan perbandingan 5:1 (v/v) serta campuran diklorometana dan metanol dengan perbandingan 2:1 (v/v) sebagai fase gerak. Sampel ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan fase gerak yang sesuai. Setelah proses elusi, plat diamati di bawah sinar *ultraviolet* (UV) pada panjang gelombang 254 nm untuk mendeteksi senyawa yang dapat menyerap sinar UV.

Selanjutnya, plat disemprot dengan pereaksi penampak bercak, yaitu serium sulfat, vanilin sulfat, dan larutan AlCl₃-metanol. Pengamatan dilakukan kembali di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm untuk mendeteksi senyawa yang memberikan reaksi positif dengan pereaksi penampak bercak

tersebut. Hasil analisis KLT yang diperoleh kemudian digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel.

3.3.6. Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Inokulum

Peremajaan bakteri mengacu pada Hidayatullah dkk., (2015) dengan modifikasi yaitu sebanyak 1 ose bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing dibiakkan dalam 20 mL kultur media MH (*Mueller Hinton*) pada cawan petri. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembuatan larutan standar suspensi bakteri dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1 ose bakteri uji pada cawan petri untuk diinokulasi pada 2 mL media inokulum TSB (*Trypticase Soy Broth*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam atau sampai diperoleh tingkat kekeruhan yang sama dengan standar.

3.3.7. Uji KLT Bioautografi

Uji KLT Bioautografi menggunakan metode agar *overlay* Nuthan *et al.*, (2020) dengan modifikasi. Sebanyak ± 20 mm sampel ditotolkan pada *bottom spot* plat SiO₂ Gel F₂₅₄. Sampel ditetaskan pada plat dan dielusi dengan pelarut Etil asetat : Metanol (5:1) dan diamati komponen UV-Aktif dan CeSO₄. Setelah didapatkan kondisi elusi yang sesuai, dilakukan prosedur yang sama tanpa menggunakan pereaksi untuk uji bioautografi. Plat yang telah dielusi tanpa diberikan pereaksi diletakkan di permukaan cawan petri steril, dengan posisi spot menghadap ke atas. Sebanyak 10 mL MH agar dengan campuran 100 mL bakteri 0.5 McFarland dituangkan ke dalam cawan berisi plat, dan ditunggu 5 menit hingga agar mengeras. Cawan petri diinkubasi selama 18 jam, pada suhu 37°C.

Pemeriksaan hasil uji dilakukan menggunakan pereaksi warna resazurin. Sebanyak 100 mL resazurin 0.05% disemprotkan diatas permukaan agar dan ditunggu 15 menit. Perubahan warna diamati, warna ungu mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan oleh sampel, sedangkan warna merah muda mengindikasikan bakteri tumbuh. Tidak terjadi proses reduksi akibat adanya enzim yang dihasilkan oleh bakteri sehingga terjadi reduksi warna menjadi merah muda.

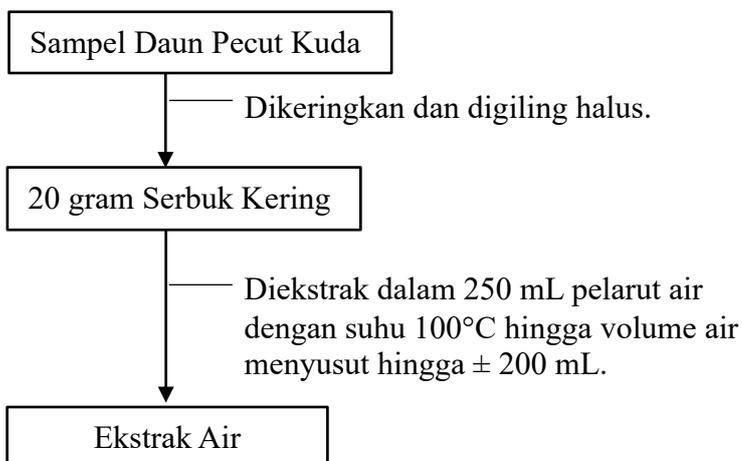
3.3.8. Uji Antibakteri

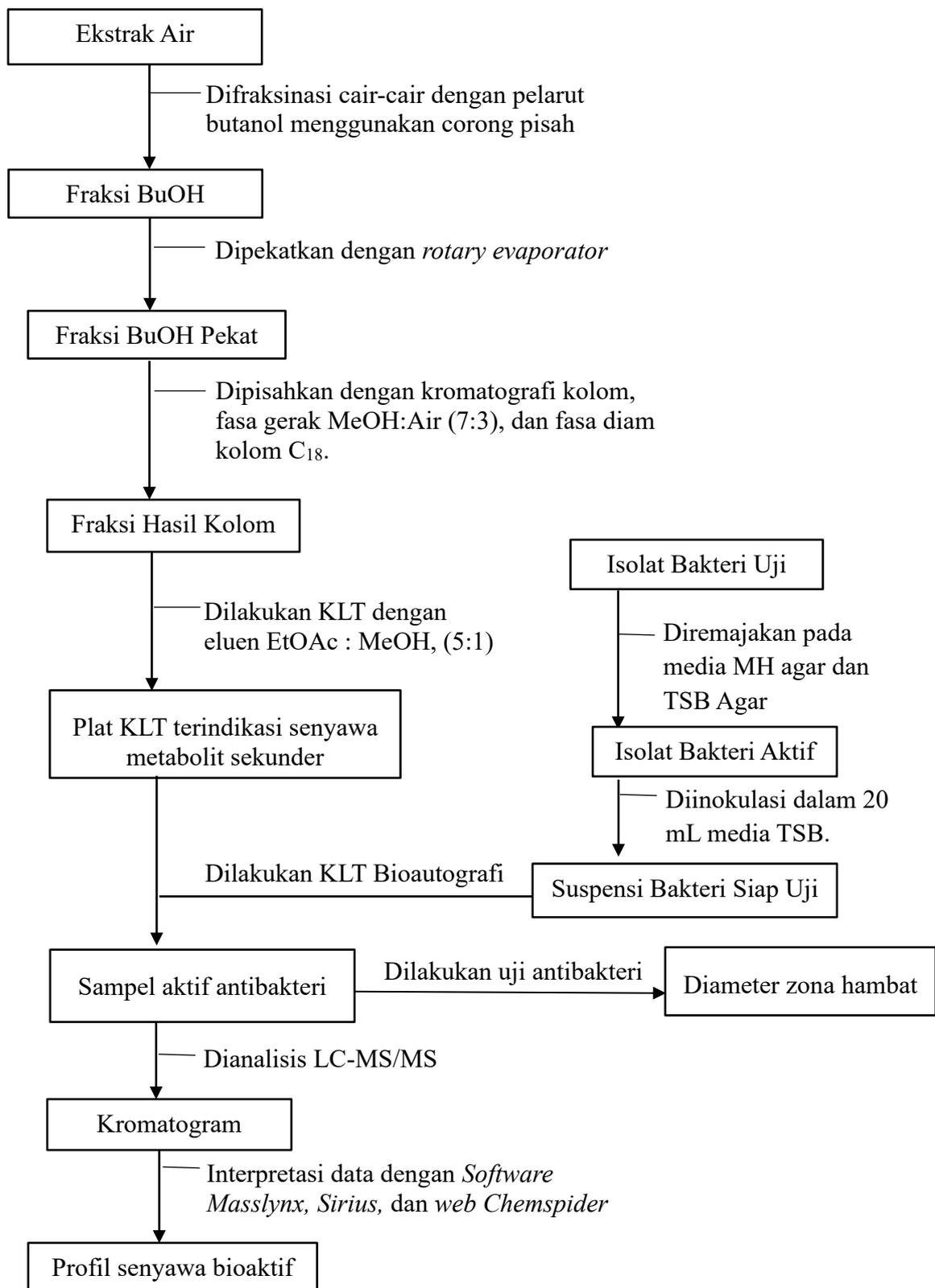
Metode difusi sumur agar mengacu pada metode sebelumnya (Perez *et al.*, 1990). Secara sederhana 0,1 mL inokulum encer (10^5 CFU/ml) organisme uji disebarakan pada pelat MHA (Hi-Medis Pvt Ltd., Mumbai, India). Sumur berdiameter 8 mm dilubangi ke dalam media agar dan diisi dengan 50 mL ekstrak tumbuhan konsentrasi 2 mg/ml dan blanko pelarut (metanol) secara terpisah. Larutan stok antibiotik (ciprofloxacin) dibuat pada konsentrasi 100 mg/ml, selanjutnya digunakan dalam sistem pengujian sebagai kontrol positif (2 mg/ml).

3.3.9. Analisis LC-MS/MS

Sampel hasil kolom dipekatkan dengan nitrogen hingga didapat larutan 2 mg/ml. Larutan sampel dianalisis dengan *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) dalam mode positif menggunakan peralatan ACQUITY UPLC Sistem H-Class (Waters, Beverly, MA, USA), kolom ACQUITY UPLC HSS C18 (1,8 mm, 2,1 nm x 100mm) (Waters, Beverly, MA, USA), menggunakan fase gerak metanol air (MeOH/H₂O) dan dideteksi menggunakan detektor Xevo G2-S Qtof Mass Spectro (Waters, Beverly, MA, USA).

3.4. Diagram Alir Penelitian





Gambar 8. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh beberapa poin kesimpulan sebagai berikut.

1. Ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) fraksi butanol FPKAB memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, namun tidak terdeteksi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* melalui metode KLT bioautografi. Sampel kode FPKAB3 memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong kuat, yaitu dengan diameter zona hambat yaitu 12 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*, dan 16 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* melalui uji difusi agar.
2. Diperoleh profil senyawa bioaktif dari ekstrak air daun pecut kuda (*Stachytarpheta australis*) yang berperan dalam aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yaitu senyawa *Diethyl bis(4-methyl-1,2,5-oxadiazol-3-yl) carbamoyl]oxy)methyl)malonate* dengan berat molekul 471,1476 m/z terdeteksi pada waktu retensi 5,44.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu adanya kajian lebih lanjut mengenai uji toksisitas dan keamanan dari senyawa yang teridentifikasi sebelum diaplikasikan pada manusia. Hasil dari penelitian ini dapat dikembangkan sebagai bahan baku produk farmasi, seperti obat-obatan antibakteri, dan produk kosmetik, seperti antiseptik alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, A., Bahri, S., dan Tantalia. 2017. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi HCL Untuk Pembuatan Pektin dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*). *Tekno Kimia UNIMAL*. 6(1), 33–44.
- Akhtar, M. J., Khan, S. A., Ali, Z., Rashid, U., Mahmood, T., Anwar, S., & Rehman, A. 2018. Synthesis, Molecular Docking and Antibacterial Evaluation of 1,2,5-Oxadiazole Derivatives. *Bioorganic Chemistry*. 79, 277–285.
- Alagarsamy, V. 2016. *Textbook of Medicinal Chemistry Volume II*. Elsevier.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., & Omar, A.K.M. 2013. Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117(4), 42–436.
- Azwanida, N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 4(3), 1–6.
- Bele, A., Khale, A., & Archana, M. 2011. an Overview on Thin Layer Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2 (2), 256–267.
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simoes, M. 2012. Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance*. 19(4), 256–265.
- Bottery, M. J., Pitchford, J. W., & Friman, V. P. 2021. Ecology and Evolution of Antimicrobial Resistance in Bacterial Communities. *ISME Journal*. 15 (4). 939–948.
- Coskun, O. 2016. Separation Techniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*. 3 (2). 156.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Trubus Agriwidya. Jakarta. 146–148.
- Davis, W. W. dan Stout, T. R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology*. 659–665.

- Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. 2010. Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(1), 160–201.
- Fernandez, L., & Hancock, R. E. 2012. Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 25(4), 661–681.
- Gandjar, I. G., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gopinath, S.M., & Kumari, S.S. 2014. Pharmacognostical and phytochemical evaluation of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6(3), 559–567.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer.
- Hasibuan, P. A., Mahmudah, F. N., & Siahaan, J. L. 2018. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl Leaf Extracts. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 5(1), 26–31.
- Heftmann, E. 2004. *Chromatography: Fundamentals and Applications of Chromatography and Electrophoresis*. Elsevier.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E.M. 2012. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Elsevier Health Sciences.
- Hidayah, N. 2016. Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11(2), 89–98.
- Hidayatullah, Syarifull, A., & Muhammad, R.T. 2015. Profil Kandungan Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Bamban (*Donax canniformis* (G. Forst) K. Schum.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *GALENKA Journal of Pharmacy*. 1(2), 141–148.
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. 2011. A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables. *Food Chemistry*. 126(4), 1823–1835.
- Illing, L., Wulan, S., & Erfiana. 2017. Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *Jurnal Dinamika*. 8(1), 54–67.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., & Sihasale L. 2006. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina leach*. *Berk Penel. Hayati*. 57–61.
- Jaradat, N. A., Zaid, A. N., Al-Ramahi, R., Alqub, M. A., Hussein, F., Hamdan, Z., & Mustafa, M. 2019. Ethnopharmacological Survey of Traditional

- Medicine Practiced Along the Eastern Coast of the West Bank, Palestine. *European Journal of Integrative Medicine*. 33–50.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw-Hill Companies Inc. 327–329.
- Kade, H., Yahdiana, H., & Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penerbitan. Jakarta Barat.
- Kanaan, H., Khattab, A., Sabbah, M., Najjar, R., & Estfan, N. 2018. In Vitro Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Ethanolic Extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl Leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Khopkar, S.M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh A. Saptorahardjo. Universitas Indonesia. Jakarta. 84–311.
- Kon, K. V., & Rai, M. K. 2012. Plant Essential Oils and Their Constituents in Coping with Multidrug-Resistant Bacteria. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 10(7), 775–790.
- Kumar, K. J., & Vijayan, V. 2014. *An Overview of Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy Instrumentation*.
- Kusbiantoro, D., & Purwaningrum, Y. 2018. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Kunyit dalam Mendukung Peningkatan Pendapatan Masyarakat. *Jurnal Kultivasi*. 17(1), 544–549.
- Mamonto, K. D., Ramadhan, A. M., & Rijai, L. 2015. Profil Kromatografi Lapis Tipis Metabolit Sekunder Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 100–107. <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.14>
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., & Sahidin, S. 2019. Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*) dan Metabolit Sekunder serta Potensi Antibakteri Ekstrak N-Heksana Spons *Callispongia aerizusa* yang Diambil pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang yang Berada di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis*. 19(2), 131–141.
- Martins, L. R., Martins, P. R., Nascimento, A. G., & Salgado, H. R. 2020. Phytochemical and Pharmacological Aspects of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown: A review. *Phytotherapy Research*. 34(4), 755–769.
- Marvin, C. M. 2005. *LC/MS – A Practical User's Guide*. John Wiley & Sons Inc. Canada.
- Maryani, Ratnasari, I., & Handayani, T. 2020. Pemanfaatan Tanaman Obat Sebagai Upaya Swamedikasi Di Kelurahan Tangkiling Kecamatan Bukit

- Batu Kota Palangka Raya. *Jurnal Layanan Masyarakat (Journal of Public Service)*. 4 (1), 84–90.
- Molyneux, R. J., Gardner, D. R., James, L. F., & Colegate, S. M. 2002. Polyhydroxy Alkaloids: Chromatographic Analysis. *Journal of Chromatography*. 967(1), 57–74.
- Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A review. *Frontiers in Microbiology*.
- Neu HC, Gootz TD. 2001. *Antimicrobial Chemotherapy*. Medmicro.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In-vitro*. *Jurnal MIPA*. 2(2), 128–132.
- Nuthan, B.R., Rakshith, D., Marulasiddaswamy, K.M., Rao, H.Y., Ramesha, K.P., Mohana, N.C., Siddappa, S., Darshan, D., Kumara, K.K.S. & Satish, S. 2020. Application of Optimized and Validated Agar Overlay TLC–Bioautography Assay for Detecting the Antimicrobial Metabolites of Pharmaceutical Interest. *Journal of Chromatographic Science*. 58 (8), 737–746.
- Odeyemi, S., & Bradley, G. 2018. Medicinal Plants Used for the Traditional Management of Diabetes in the Eastern Cape, South Africa: Pharmacology and Toxicology. *Molecules*. 23(11), 37–59.
- Pang, Y., Zhu, L., & Lu, Z. 2016. The Applications and Features of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in The Analysis of Traditional Chinese Medicine. *Evid. Based Complement. Altern. Med*.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. 2019. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and Alternative Therapeutic Strategies. *Biotechnology Advances*. 37 (1), 177–192.
- Paputungan, W., Lolo, W., & Siampa, J. 2019. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora Pierre ex A. Froehner*). *PHARMACON*. DOI:[10.35799/pha.8.2019.29325](https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325)
- Patel, M. B., Patel, K. D., Patel, J. A., & Patel, H. D. 2016. Recent Developments in the Synthesis and Biological Activity of 1,2,5-Oxadiazole Derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 25(9), 1767-1800.
- Poole, C. F. 2003. Thin-Layer Chromatography: Challenges and Opportunities. *Journal of Chromatography*. 1000 (1–2), 963–984.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen terhadap Antibiotik. *Journal Pro-Life*. 4 (2), 418–429.

- Radji, M., Ahmad, S., & Malik, A. 2013. Antimicrobial Activity of Green Tea Extract against Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(8), 663–667.
- Rahmawati, D., Pratiwi, R., & Widyastuti, N. 2020. Antibacterial Activity of *Stachytarpheta jamaicensis* Leaf Extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Biodjati*. 5(1), 64–72.
- Rahmawati, Y. D. 2017. Variasi Eluen pada Pemisahan Senyawa Triterpenoid dan Steroid Alga Merah *Euclima spinosum* Menggunakan Kromatografi Kolom Basah. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Rajauria, G. 2015. Seaweed Polysaccharides: Structural Diversification and Their Applications. In: Karunaratne, D.N., Pamunuwa, G. (eds). *Advances in Food and Nutrition Research*. 8(2), 346–353.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Seribu Bintang.
- Sabiu, S., Garuba, T., Sunmonu, T., Ajani, E., Sulyman, A., Nurain, I., & Balogun, A. 2015. Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperata*. *Toxicology Reports*. 2, 261–267.
- Safitri, Okti Mindi, Nurhamidah, & Amir, Hermansyah. 2018. Potensi Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Daun *Laportea interrupta* (L.) Chew. (Jelatang Ayam) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2(2), 175–183.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian, Edisi I*. Deepublish. Jakarta. 78.
- Sapara, T.U., Waworuntu, Olivia, & Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5 (4), 10–17.
- Silaa, A. E., Paransa, D. S., Rumengan, A. P., Kemer, K., Rumampuk, N. D., & Manoppo, H. 2019. Pemisahan Jenis Pigmen Karotenoid dari Kepiting Grapsus sp Jantan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 7(2), 121.
<https://doi.org/10.35800/jplt.7.2.2019.24247>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. 2014. *Principles of Instrumental Analysis (6th ed.)*. Cengage Learning.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. John Wiley & Sons.

- Sufitri, R.A., Nurdiana, & Krismayanti, L. 2015. "Uji Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L) Vahl) Sebagai Penghambat Bakteri *Staphylococcus aureus*". *Jurnal Tadris IPA Biologi FITK IAIN Mataram*. 7 (2), 199–201.
- Suhirman, S. 2015. Skrining Fitokimia pada Beberapa Jenis Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl). *Prosiding Seminar Nasional Swasembada Pangan Politeknik Negeri Lampung*. 93–97.
- Sulistiyawati, E., Yuniastuti, A., & Iswari, R.S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal MIPA*. 41(2), 103–108.
- Sundari, E., Kusriani, D., & Fajriah, S. 2020. Identification of Chemical Compounds and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl Leaves. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 9(1), 9–15.
- Susanty, & Bachdim, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Konversi*. 5 (2), 87–93. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Susanty, S, A, Y., & M. Bahrul, I. 2019. Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi dari Ekstrak Daun Kelor. *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*. 8(2).
- Tyasningsih, W., Ratih, R., Erni, R.S.I., Suryanie., Hasutji, E.N., Sri, C., & Didik, H. 2010. *Buku Ajar Penyakit Infeksius I*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*. 9(10), 2041. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Vogeser, M., & Parhofer, K. G. 2007. Liquid Chromatograph Tandem-Mass Spectrometry (LC-MS/MS) Technique and Applications Endocrinology. *Experimetal and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 115 (9), 559–570.
- Wagner, H., & Bladt, S. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Springer Science & Business Media.
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.)). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(2), 188–193.
- Wati, N. F. N. 2016. Peningkatan Kualitas Minyak Nilam Melalui Proses Adsorpsi Menggunakan Adsorben Alumina dengan Sistem Flow. *Indonesian Journal*

of Chemical Research. 2(1), 84–95.

<https://doi.org/10.20885/chemical.vol2.iss1.art10>

- Winarti, C., Yuliana, N. D., Spirawati, T., & Broto, W. 2017. Ekstraksi Antimikroba dari Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Menggunakan Metode Dekoktasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6(3), 125–130.
- Wonorahardjo, S. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia*. Akademia Permata. Jakarta.
- Yoyon, S. & Farid, S. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. *Jurnal Biopropal Industri*. 2(1).