

**EKSPLORASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK,
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN
*ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***

SKRIPSI

Oleh
MEIFIA HASYIMI
2018031009



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**EKSPLORASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK,
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN
ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION**

Oleh

Meifia Hasyimi

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

pada

**Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : **EKSPLORASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *Ultrasound Assisted Extraction***

Nama Mahasiswa : **Meifia Hasyimi**

No. Pokok Mahasiswa : 2018031009

Program Studi : Sarjana Farmasi

Fakultas : Kedokteran



apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc

Femmy Andrifanie, S.Farm., M.Farm

NIP. 19862052022031003

NIP. 199009222022032013

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M.Sc

NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. **Tim Penguji**

Ketua

: apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc



Sekretaris

: Femmy Andrifanie, S.Farm., M.Farm



Penguji

Bukan Pembimbing

: apt. Ramadhan Triyadi, S.Farm., M.Si



2. **Dekan Fakultas Kedokteran**



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M.Sc

NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 Januari 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul **“EKSPLOKASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarism. Hal intelektual atas karya ilmiah ini disertakan sepenuhnya kepada Universitas Lampung,

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 23 Januari 2025

Pembuat Pernyataan



Meifia Hasyimi

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tanjung Karang pada tanggal 22 Mei 2002 sebagai anak kedua dari 3 bersaudara pasangan Bapak Hasyimi dan Ibu Sri Nusilawati. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di selesaikan di SDN 3 Bukit Kemuning pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2017, serta Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Bukit Kemuning pada tahun 2020.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2020. Selama menjadi mahasiswa penulis turut aktif dalam organisasi kemahasiswaan diantaranya di Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) sebagai anggota pada tahun 2022-2023 dan juga aktif dalam organisasi LUNAR-MRC (*Medical Research Community*) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai anggota divisi MEDJUR (*Media and Journalistic*) pada tahun 2021-2022.

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan atas kehadiran Allah SWT, atas rahmat, nikmat, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“EKSPLOKASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION”**. Shalawat serta salam tak lupa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, pembelajaran, dorongan, serta kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E,A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr Evi Kurniawaty, S.Ked, M.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M selaku Ketua Program Studi Farmasi;
4. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc selaku Pembimbing I yang telah banyak sekali membimbing, memberi arahan, dorongan, dan motivasi bagi penulis. Terimakasih atas ilmu serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini dan selama penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. Femmy Andrifianie, S.Farm., M.Farm selaku Pembimbing II yang banyak menyempatkan waktu untuk membimbing penulis serta juga memberikan motivasi, masukan, serta kritikan yang baik dalam penyusunan skripsi;

6. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm, M.Si selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ulasan serta bimbingan guna penyelesaian skripsi ini;
7. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., selaku pembimbing akademik, penulis mengucapkan banyak terimakasih untuk waktu, tenaga, bimbingan, motivasi serta nasihat selama penulis mengemban akademik;
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu serta bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan;
9. Seluruh staff dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses perkuliahan serta proses penyusunan skripsi ini;
10. Orang tua penulis, Cinta pertama dan panutanku Ayahanda Hasyimi dan pintu surgaku Ibunda Sri Nusilawati yang telah memberikan semangat dan dorongan yang sangat besar kepada penulis, penulis juga turut mengucapkan selamat karena telah menjadi orang tua yang sangat hebat karena telah mendidik penulis dengan sangat baik, serta sudah sangat mengedepankan pendidikan penulis. Skripsi ini dipersembahkan untuk Mama dan Ayah, kelak anakmu menjadi orang-orang hebat seperti kedua orang tuanya;
11. Kakak penulis, Alifia Hasyimi yang telah mendukung secara moril maupun material serta memberikan semangat bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi;
12. Adik penulis, Selfia Hasyimi yang telah mendukung dan memberikan semangat bagi penulis;
13. Keluarga Besar Hatta Kontar dan Ishak yang telah memberikan banyak dorongan serta motivasi penulis dalam proses menuntaskan jenjang Pendidikan;
14. Para sahabat penulis, Nadia, Nafisa, Dina, Gemi dan Elmira yang sangat berharga bagi penulis dalam menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
15. Kepada Kradiceck Nozky Danit, yang telah menjadi bagian penting bagi penulis dalam proses perjalanan penulis menyusun skripsi, Berkontribusi dalam menemani, memberi motivasi, meluangkan waktu, serta menjadi pendengar yang baik bagi penulis;

16. Teman-teman Farmasi angkatan 2020 yang saling memberikan dukungan dan motivasi;
17. Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang pernah memberikan kesempatan penulis dalam menjadi ketua himpunan dan memberikan ruang bagi penulis dalam mengembangkan banyak *skill* di dalamnya;
18. Keluarga besar LUNAR-MRC yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengembangkan diri;
19. Sahabat KKN Ngambur, Seka, Viza, Lusi, Dheby, Farqi, dan Devan yang memberikan dukungan sejak KKN hingga saat ini;
20. Sahabat semasa Sekolah Menengah Atas, Wulan Nabila, Salsabilla, GS Afifah Suryana dan Rikeu Astri Annur Nugraha yang memberikan saran, dukungan, serta motivasi penulis dalam menjalankan perkuliahan dan penyusunan skripsi;
21. Keluarga T20MBOSIT angkatan 2020 sebagai teman seperjuangan di bangku perkuliahan;
22. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis.

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Peneliti berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 23 Januari 2025

Penulis,

Meifia Hasyimi

ABSTRAK

EKSPLORASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION

Oleh

MEIFIA HASYIMI

Latar Belakang: Resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetis menjadi ancaman global, khususnya dalam pengobatan infeksi oleh *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Alternatif pengobatan tradisional menggunakan tanaman obat, seperti ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*), yang kaya akan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan senyawa fenolik, menunjukkan potensi besar sebagai alternatif pengobatan tradisional.

Metode: Pengkajian ini berupa eksperimen laboratorium, metode Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) diterapkan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif, yang berperan sebagai antioksidan dan antibakteri alami, Total fenolik diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu, sementara uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan teknik DPPH sementara aktivitas antibakteri diuji dengan metode sumuran untuk menilai diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*.

Hasil: Hasil menunjukkan ekstrak etanol daun bayam merah memiliki kandungan fenolik tinggi, aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,086 mg/L, dan zona hambat antibakteri efektif terhadap kedua bakteri uji, terutama pada konsentrasi tertentu. UAE terbukti lebih efisien dibanding metode konvensional dalam waktu dan rendemen ekstraksi.

Kesimpulan: ekstrak etanol daun bayam merah berpotensi sebagai sumber antioksidan dan antibakteri alami, serta dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan herbal untuk mengatasi resistensi bakteri.

Kata Kunci: *Amaranthus Tricolor*, Aktifitas farmakologi, *Ultrasound-Assisted Extraction*.

ABSTRACT

EKSPLORASI KARATERISTIK FITOKIMIA, TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor*): EKSTRAKSI MENGGUNAKAN ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION

By

MEIFIA HASYIMI

Background: The results showed that ethanol extract of red spinach leaves had high phenolic content, strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 3.086 mg/L, and effective antibacterial inhibition zones against both test bacteria, particularly at certain concentrations. UAE proved to be more efficient than conventional methods in terms of time and extraction yield

Methods: This study is a laboratory experiment where the Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) method was applied to enhance the efficiency of bioactive compound extraction, functioning as a natural antioxidant and antibacterial agent. Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity was assessed using the DPPH technique, and antibacterial activity was tested using the well diffusion method to evaluate the inhibition zone diameter against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Results: The results showed that ethanol extract of red spinach leaves had high phenolic content, strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 3.086 mg/L, and effective antibacterial inhibition zones against both test bacteria, particularly at certain concentrations. UAE proved to be more efficient than conventional methods in terms of time and extraction yield.

Conclusion: Ethanol extract of red spinach leaves has potential as a source of natural antioxidants and antibacterial agents and can be developed as an herbal alternative to address bacterial resistance..

Keywords: *Amaranthus Tricolor*, Pharmacological Activity, *Ultrasound-Assisted Extraction*.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat bagi peneliti.....	7
1.4.2 Manfaat bagi institusi	7
1.4.3 Manfaat bagi masyarakat.....	7
1.4.4 Manfaat Bagi Penelitian Selanjutnya	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bayam merah (<i>Amaranthus Tricolor</i>)	8
2.1.1 Taksonomi	8
2.1.2 Morfologi bayam merah (<i>Amaranthus tricolor</i>).....	9
2.1.3 Manfaat bayam merah <i>Amaranthus tricolor</i>).....	10
2.1.4 Kandungan kimia bayam merah (<i>Amaranthus tricolor</i>)	10
2.1.5 Zat antimikroba bayam merah (<i>Amaranthus tricolor</i>)	11

2.2 <i>Escherichia Coli</i>	12
2.2.1 Definisi dan morfologi	12
2.2.2 Taksonomi	14
2.2.3 Patogenesis	15
2.3 <i>Staphylococcus Aureus</i>	17
2.3.1 Definisi dan morfologi	17
2.3.2 Taksonomi	17
2.3.3 Patogenesis	18
2.3.4 Senyawa Metabolit Sekunder	18
2.4 Senyawa Fenolik	19
2.4.1 Definisi	19
2.4.2 Struktur dan Klasifikasi	20
2.4.3 Biosintesis	21
2.5 Antioksidan	21
2.5.1 Definisi	21
2.5.2 Klasifikasi	22
2.5.3 Mekanisme Kerja	22
2.5.4 Uji Antioksidan	23
2.6 Ekstraksi	24
2.6.1 Definisi	24
2.6.2 Pelarut Ekstraksi	24
2.6.3 Metode	25
2.7 Antibakteri	26
2.7.1 Definisi	26
2.7.2 Metode Pengujian	27
2.8 Kerangka Teori	29
2.9 Kerangka Konsep	30
2.10 Hipotesis	30
2.10.1 Hipotesis Null (H ₀)	30
2.10.2 Hipotesis Alternatif (H _a)	30

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	31
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.2.1 Tempat Penelitian	31
3.2.2 Waktu Penelitian	32
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.3.1 Alat Penelitian	32
3.3.2 Bahan Penelitian	32
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	32
3.4.1 Variabel Bebas.....	32
3.4.2 Variabel Terikat.....	32
3.5 Prosedur Penelitian	33
3.5.1 Determinasi Tanaman.....	33
3.5.2 Preparasi Sampel	33
3.5.3 Pembuatan Ekstrak	33
3.5.4 Uji Fitokimia	34
3.6 Pengukuran Total Fenolik	35
3.7 Uji Aktivitas Antioksidan.....	36
3.8 Uji Aktivitas Antibakteri	37
3.9 Alur Penelitian.....	40
3.10 Analisis Data.....	41
3.11 Analisis Data.....	41
3.11.1 Analisis Univariat.....	41
3.11.2 Analisis Bivariat.....	42
3.12 Etika Penelitian.....	42

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	43
4.1.1 Hasil Detreminasi Tanaman	43
4.1.2 Hasil Rendemen Ekstrak	43
4.1.3 Rendemen Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amarhantus Tricolor</i>)	44
4.1.4 Hasil skrinning fitokimia.....	45

4.1.5 Kadar Total Fenolik.....	46
4.1.5.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	47
4.1.5.2 Hasil Penentuan Kurva Baku Asam Galat	48
4.1.5.3 Hasil Penetapan Kadar Total Fenolik Sampel	49
4.1.6 Uji Aktivitas Antioksidan.....	49
4.1.6.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	50
4.1.6.2 Hasil Penentuan Kurva Baku Asam Askorbat	51
4.1.7 Uji Aktivitas Antibakteri	53
4.1.7.1 Hasil Uji Diameter Zona Hambat	54
4.2 Pembahasan	58
4.2.1 Ekstraksi Daun Bayam Merah	58
4.2.2 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Bayam Merah	60
4.2.3 Kadar Total Fenolik Daun Bayam Merah.....	61
4.2.4 Uji Antioksidan Daun Bayam Merah.....	64
4.2.5 Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> dan <i>Escheria Coli</i>	67

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan.....	70
5.2 Saran	71

DAFTAR PUSTAKA	72
-----------------------	----

LAMPIRAN	78
-----------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Struktur dan Klasifikasi Senyawa Fenolik	20
Tabel 2 Nilai Rendemen Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amarhantus Tricolor</i>)....	44
Tabel 3 Hasil skrining Fitokimia daun Bayam Merah (<i>Amaranthus Tricolor</i>)....	46
Tabel 4 Hasil Penentuan Kurva Baku Asam Galat	48
Tabel 5 Hasil Pengukuran Kadar Total Fenolik Ekuivalen Asam Galat (GAE) Ekstrak Daun Bayam Merah (<i>Amarhantus Tricolor</i>)	49
Tabel 6 Hasil absorbansi, % inhibisi dan IC ₅₀	52
Tabel 7 Hasil pendahuluan aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> dan <i>Esheria Coli</i> ekstrak etanol daun bayam merah	54
Tabel 8 Hasil Diameter Uji Pendahuluan Zona Hambat Bakteri Etanol 96% Daun Bayam	55
Tabel 9 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 96% <i>Staphylococcus Aureus</i> terhadap <i>Escheria coli</i>	56
Tabel 10 Hasil Uji Friedman	56
Tabel 11 Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Bayam merah (<i>Amaranthus Tricolor</i>)	8
Gambar 2 <i>Escherichia Coli</i>	15
Gambar 3 <i>Staphylococcus Aureus</i>	18
Gambar 4 Kerangka Teori	29
Gambar 5 Kerangka Konsep.....	30
Gambar 6 Alur Penelitian	40
Gambar 7 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	47
Gambar 8 kurva standar asam galat.....	48
Gambar 9 Panjang Gelombang Maksimum DPPH	50
Gambar 10 Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	51
Gambar 11 Kurva standar vitamin C	53
Gambar 12 Kurva standar Ekstrak Bayam Merah.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik (Ethical Approval).....	79
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman	80
Lampiran 3. Sertifikat Hasil Penelitian Antibakteri	81
Lampiran 4. Kegiatan Penelitian	82
Lampiran 5. Hasil Skrinning Fitokimia	83
Lampiran 6. Perhitungan Rendaman Ekstrak.....	84
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH	85
Lampiran 8. Hasil Pembacaan Absorbansi Asam	86
Lampiran 9. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Asam Galat	87
Lampiran 10. Hasil Pengukuran Kurva Baku Asam Galat	88
Lampiran 11. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Daun Bayam Merah Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	89
Lampiran 12. Hasil Pengujian Antibakteri	90

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan satu jenis penyakit yang paling banyak dialami oleh masyarakat Indonesia yang disebabkan oleh masih kurangnya kesadaran masyarakat Indonesia mengenai kebersihan dan cara hidup yang sehat, salah satu infeksi bakteri yang paling banyak terjadi pada masyarakat adalah diare. Kurangnya pengetahuan masyarakat mengenai cara penanganan penyakit yang disebabkan oleh virus dan bakteri, dimana masih banyak yang menggunakan obat anti bakteri dalam bentuk kimia sintetik dapat menyebabkan resistensi bakteri apabila penggunaan obat antibakteri tersebut tidak tepat. Dengan alasan tersebut, maka mulai dikembangkannya pengobatan dengan cara tradisional (Radji, 2011).

Data nasional menyebutkan bahwa di Indonesia terdapat 100.000 balita yang meninggal dunia yang diakibatkan oleh penyakit diare. Kasus seperti ini masih banyak terjadi pada negara berkembang yang memiliki standar hidup rendah, (Sampul *et al*, 2015). Diare dapat menjadi sangat fatal dan harus sangat diwaspadai terutama pada balita dan anak-anak, hal ini dikarenakan diare dapat menyebabkan dehidrasi pada tubuh yaitu kurangnya cairan yang menyebabkan kekeringan pada tubuh, adanya kekurangan kalium (hipokalemia) dan acidosis atau pengasaman darah, yang dapat berujung dengan terjadinya shock dan yang paling fatal yaitu kematian. Bakteri penyebab diare adalah bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus* (Oroh *et al*, 2014).

Bakteri *Escherichia Coli* , yang termasuk dalam kategori gram negatif, memiliki morfologi berupa batang pendek dengan panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , dan lebar 0,4-0,7 μm . Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan membentuk koloni yang berbentuk bundar, cembung, serta memiliki tepi yang jelas (Jawetz, 2005). *Escherichia Coli* umumnya hidup dalam rentang suhu 20-40°C, dengan suhu optimum pada 37°C. Bakteri ini biasanya ditemukan dalam usus besar manusia, di mana beberapa di antaranya berperan dalam proses penguraian sisa-sisa makanan. Meskipun sebagian besar *Escherichia Coli* bersifat non-patogen, sebagian kecil dapat menjadi patogen. Penyebaran bakteri *Escherichia Coli* dapat terjadi melalui berbagai cara, seperti kontak antar manusia, konsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi, atau melalui hewan. Bakteri ini dapat ditemukan di berbagai tempat, termasuk pada kondisi di mana tangan menjadi kotor, yang dapat memicu terjadinya infeksi bakteri. *Escherichia Coli* yang bersifat patogen dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia. Jika tubuh manusia terinfeksi oleh bakteri *Escherichia Coli* , dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan, seperti diare atau yang dikenal sebagai Gastroenteritis (Pelezar, 1988).

Staphylococcus Aureus ialah bakteri gram positif yang memiliki sifat patogen, disebabkan oleh efek enterotoksin stafilokokal. Orang yang terinfeksi oleh bakteri ini umumnya mengalami gejala seperti mual parah, muntah, dan diare (Brooks, Butel, 2005). Pengobatan untuk bakteri ini masih menjadi tantangan karena terjadinya resistansi terhadap beberapa jenis obat, seperti MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*). *Staphylococcus Aureus* dapat ditemukan di lingkungan sekitar dan juga pada manusia, terutama pada kulit dan selaput lendir (seringkali di daerah hidung) pada sebagian besar individu yang sehat. *Staphylococcus Aureus* umumnya tidak menimbulkan infeksi pada kulit yang dalam kondisi sehat. Tetapi, apabila bakteri ini berhasil masuk ke dalam aliran darah atau jaringan internal, dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi yang memiliki potensi serius. (Lowy, 1998). Penularan pada bakteri ini biasanya melalui

kontak langsung. Namun, beberapa infeksi dapat ditularkan melalui metode lain (Rasigade, 2014).

Pengobatan diare umumnya melibatkan penggunaan antibiotika, sulfonamida, dan senyawa kinolon sebagai obat kimia buatan. Namun, penggunaan antibiotik dalam penanganan diare sering kali tidak efektif ketika digunakan secara sembrono, tidak sesuai dosis, atau berlebihan, yang dapat menimbulkan masalah kesehatan, terutama resistensi terhadap antibiotik. Untuk mengatasi tantangan ini, telah dilakukan penelitian guna menemukan solusi pengobatan yang lebih efektif, yakni menggunakan obat herbal. Pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional menjadi salah satu upaya untuk mengurangi tingginya tingkat resistensi terhadap antibiotik (Puteri dan Milanda, 2021).

Tumbuhan obat sering dimanfaatkan sebagai komponen dalam obat tradisional karena dianggap cukup efektif dengan efek samping yang minimal, dan harganya terjangkau. Bagian-bagian dari tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan obat meliputi buah, batang, daun, akar, dan umbi (Ajizah, 2004). Contoh tumbuhan yang memiliki potensi sebagai bahan obat adalah bayam, yang mengandung karotenoid dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Selain itu, bayam juga memiliki senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu fungsi membran sitoplasma (Dewi, 2015).

Bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) merupakan jenis sayuran yang populer karena kandungan gizinya yang tinggi, harga yang terjangkau, dan warnanya yang menarik. Selain itu, tanaman ini memiliki berbagai manfaat kesehatan, seperti kemampuannya untuk mengobati berbagai penyakit, membersihkan darah setelah melahirkan, memperkuat akar rambut, mengatasi disentri, dan meredakan anemia (Bria, 2016). Bayam merah adalah salah satu jenis sayuran yang kaya gizi, dengan daunnya mengandung karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral, termasuk zat besi.

Penelitian fitokimia pada ekstrak etanol akar bayam merah menunjukkan keberadaan alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin (Pebrianti dkk., 2015)

Selain memiliki aktivitas antibakteri, bayam merah juga menunjukkan efek farmakologis sebagai antioksidan. Antioksidan adalah substansi yang memberikan perlindungan terhadap tekanan oksidatif baik dari sumber internal maupun eksternal dengan menetralkan radikal bebas (Lai-Cheong et al., 2017). Kandungan antioksidan dalam ekstrak tanaman diyakini dapat mengurangi reaksi oksidasi dengan menanggulangi radikal bebas, baik yang berasal dari lingkungan maupun yang dihasilkan secara alami oleh tubuh (Parwata, 2016). Dengan dasar penjelasan sebelumnya, bayam merah mengandung senyawa flavonoid yang berperan sebagai metabolit sekunder untuk menghambat radikal bebas, menjadikannya bahan yang berguna dalam pengembangan obat herbal (Rahayu et al., 2013).

Aktivitas antibakteri dari bayam merah telah terbukti melalui beberapa penelitian. Studi yang dilakukan oleh Putri (2015) menunjukkan bahwa perasan akar bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) memiliki efek terhadap pertumbuhan *Escherichia Coli*. Pada konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, dan 60%, perasan akar bayam merah mampu membunuh bakteri *Escherichia Coli*, sementara pada konsentrasi 50%, 40%, 30%, 20%, dan 10%, perasan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Sejalan dengan temuan tersebut, penelitian oleh Lio et al. (2020) menyajikan hasil zona hambat ekstrak bayam merah terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* pada konsentrasi 60%, 70%, dan 80%, dengan ukuran zona hambat masing-masing adalah 23,625 mm, 16,625 mm, dan 13,375 mm. Hasil zona hambat tersebut diklasifikasikan sebagai kategori sensitif.

Meskipun metode maserasi umumnya digunakan dalam proses ekstraksi sampel, metode ini memiliki beberapa kelemahan, seperti

rendemen yang cenderung rendah, kebutuhan akan volume pelarut yang lebih besar, waktu ekstraksi yang relatif lama, dan risiko oksidasi yang lebih tinggi terutama pada suhu yang tinggi (Sholihah et al., 2017). Oleh karena itu, sebagai alternatif, dilakukan modifikasi ekstraksi menggunakan metode yang lebih modern, salah satunya adalah *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). UAE termasuk teknik yang lebih sederhana, ekonomis, dan mudah dilakukan. Metode ini membutuhkan volume pelarut ekstraksi yang lebih sedikit, meningkatkan efisiensi ekstraksi, dan mengurangi waktu ekstraksi secara signifikan (Chemat et al., 2017).

Prinsip *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) adalah menggunakan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan penetrasi larutan ke dinding membran sel, sehingga mendukung pelepasan komponen. Hingga saat ini, UAE telah sukses diterapkan dalam mengekstraksi senyawa bioaktif dari berbagai jenis tanaman yang memiliki komponen bioaktif medis (Andini, 2022). Penelitian sebelumnya belum pernah dilakukan untuk menilai kadar total fenolik dan aktivitas antibakteri pada bayam merah dengan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Oleh karena itu, peneliti bertujuan untuk mengeksplorasi karakteristik ekstraksi bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) dengan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) guna menentukan kadar total fenolik, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri tertinggi yang terkandung dalam bayam merah.

1.2 Rumusan Masalah

Melalui penjabaran tersebut, sehingga rumus masalah pengkajian ini berupa:

1. Bagaimanakah profil kandungan metabolit sekunder ekstrak daun bayam merah bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*?
2. Bagaimanakah potensi antioksidan daun bayam merah bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*?

3. Bagaimanakah efek kegiatan antibakteri daun bayam merah pada bakteri *Escherichia Coli* bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*?
4. Bagaimanakah efek kegiatan antibakteri daun bayam merah pada *Staphylococcus aureus* bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*?
5. Bagaimanakah jumlah fenolik daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*) bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Target pengkajian ini guna mengamati kandungan metabolit sekunder, total fenolik, aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidan ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor*) bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun beberapa tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengamati kandungan zat metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun bayam merah yang di ekstraksikan bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.
2. Mengamati potensi antioksidan daun bayam merah bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.
3. Mengamati efek aktivitas antibakteri bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) terhadap bakteri *Escherichia Coli* bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.
4. Bagaimanakah efek aktivitas antibakteri bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.
5. Mengetahui total fenolik daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi peneliti.

Diinginkan pengkajian ini bisa meningkatkan ilmu serta data mengenai aktivitas *antioksidan*, antibakteri, dan total fenolik ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*) bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*.

1.4.2 Manfaat bagi institusi

Diinginkan pengkajian ini menjadi acuan guna melaksanakan pengestraksian bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction*, terlebih guna lanjutan pengkajian di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Diinginkan pengkajian ini bisa memotivasikan warga bila daun bayam merah bisa dijadikan sebagai tanaman obat yang merupakan solusi antibakteri alami melalui bahan alam.

1.4.4 Manfaat Bagi Penelitian Selanjutnya

Diinginkan pengkajian ini bisa menjadi acuan dan dasar penelitian selanjutnya, dengan *in slico*, *vivo* serta *vitro*, maupun penelitian klinis lainnya dari ekstrak daun bayam merah.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bayam merah (*Amaranthus tricolor*)

2.1.1 Taksonomi

Melalui Putri (2015) taksonomi tanaman sungkai berupa:

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kingdom	: <i>Plantae</i>
Ordo	: <i>Caryophyllales</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Genus	: <i>Amaranthus</i>
Spesies	: <i>Amaranthus tricolor</i>
Famili	: <i>Amaranthaceae</i>



Gambar 1. Bayam merah (*Amaranthus tricolor*).

Amaranthus Tricolor atau Bayam merah berasal dari wilayah beriklim tropis di Amerika. Tumbuhan ini awalnya dikembangkan melalui suku Aztec di Meksiko, dan sejarahnya mencakup ribuan tahun. Masuknya bayam ke Indonesia

diperkirakan terjadi sekitar abad ke-19 atau sekitar tahun 1900, seiring dengan aktivitas perdagangan internasional yang membawa barang dagangan (Rizki, 2013). Bayam budidaya dapat dibedakan menjadi dua jenis utama, yaitu *Amaranthus hybridus* & *tricolor*. *Amaranthus Tricolor* berciri hijau keputihan serta merah yang mendominasi warnanya. Varietas bayam dengan batang warna merah dikatakan sebagai bayam merah (*Amaranthus Tricolor*), sementara yang memiliki batang warna putih dikatakan bayam putih, yaitu *Amaranthus hybridus*. *Amaranthus hybridus* ditandai oleh daun yang lebar, bagian bunga yang besar, serta penataan yang beraturan didaun ujungnya (Rukmana, 2006).

2.1.2 Morfologi bayam merah (*Amaranthus tricolor*)

Tanaman bayam merah memiliki ciri-ciri yang mudah dikenali, dengan batang yang serat tebal, tumbuh tegak serta disebagian tipenya memiliki duri. Bentuk daunnya bervariasi, sementara bunganya bergerigi dan timbul dipucuk tumbuhan serta dibagian daunnya. Bijinya hitam yang kilap sendiri serta skalanya kecil (Bandini, 2001). Tumbuhan bayam tingginya kisaran 1,5 – 2 m, dan tanaman ini bersifat semusim atau bisa lebih. Sistem perakarannya tersebar luas dan dangkal, dengan kisaran kedalamannya 20 – 40 cm, serta memiliki akar tunggang. Bayam merah tergolong kategori bayam cabut. Tanaman ini umumnya ditanam didarat yang rendah-menengah, khususnya dikisaran tinggi 5 – 2000 meter. Tanaman bayam memerlukan sinar matahari yang tinggi, dengan pertumbuhan optimal dikisaran temperature 20 – 30° C, kisaran curah hujannya 1000 – 2000 mm, serta lembabnya diatas 60%. Bayam tumbuh dengan baik jika ditanam di lahan terbuka yang berselimut awan & terpapar sinar matahari serta tidak ada air yang menggenang (Azis, 2001).

2.1.3 Manfaat bayam merah (*Amaranthus tricolor*)

Umumnya, *Amaranthus Tricolor*, atau yang dikenal sebagai bayam merah, memiliki manfaat dalam meningkatkan fungsi ginjal dan memperbaiki sistem pencernaan. Akar tumbuhan terbukti bermanfaat menjadi pengobatan untuk disentri. Bayam ini merupakan sumber serat yang dapat membantu melancarkan BAB. Kandungan serat ini sangat disarankan guna dikonsumsi individu yang menghadapi tantangan kesehatan seperti diabetes, kanker usus besar, hipertensi, obesitas & kolesterol tinggi. Melainkan, daun bayam memiliki manfaat membuat darah bersih pasca melahirkan, menanggihkan akar rambut, mengatasi kekurangan darah, serta masalah gagal ginjal. Namun, penting diingat bahwa untuk pengidap asam urat tinggi serta rematik, sebaiknya tidak memakan bayam secara berlebihan sebab kadar purin yang relative besar bayam bisa dimetabolisme menjadi asam urat dalam tubuh.

2.1.4 Kandungan kimia bayam merah (*Amaranthus tricolor*)

Daun bayam merah terdapat kadar berbagai zat metabolit sekunder berupa flavonoid, antosianin, saponin, skualen & tanin (Adhi Pradana, 2017). Beberapa senyawa dengan potensi antioksidan yang terkandung di dalamnya meliputi vitamin C, antosianin, dan flavonoid (Sulastri, 2015). Aktivitas antioksidan bayam merah sangat kuat, diindikasikan oleh nilai sebesar 4.32 $\mu\text{g/mL}$. Penilaian kekuatan antioksidan senyawa diukur dalam ppm, di mana senyawa dikategorikan sebagai lebih tangguh bila nilainya dibawah 50 ppm, kisaran tangguh 50-100 ppm, sedang kisaran 100-150 ppm, serta lemah pada kisaran 151-200 ppm. Semakin rendah nilai, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Badarinath et al., 2010). Komposisi bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) juga mencakup rutin, amarantin, hentriakontan,

spinasterol, kalium nitrat, tannin, zat besi, garam fosfat juga vitamin B6 & A, C, K, (Redaksi argomedia, 2008)

2.1.5 Zat antimikroba bayam merah (*Amaranthus tricolor*)

Bayam merah terdapat zat kimia aktif ialah flavonoid & tanin (Anonim, 2006).

1. Tanin

Berupa zat organik yang dapat ditemukan pada sebagian jenis buah, sayuran, serta tumbuhan lain, dan dapat diperoleh melalui proses sintesis. Dalam sayuran & buah, tanin membagikan rasa yang khas, berupa sepat dianggur serta teh. Jika total tannin melampaui ambang pada tubuh, ialah sekitar 35 ML per KG berat badan, dapat menimbulkan efek karsinogenik & toksik. Kemampuannya memberikan warna coklat membuat tanin sering dimanfaatkan dalam proses pencoklatan, seperti dalam pewarna kain, industri kayu serta menjadi pengganti fenol serta perekat (Zulaikha, 2006).

Tanin biasa dijumpai ditanaman (Gil-Martín et al., 2022). Jenis tanin yang ada ditumbuhan tergolong tannin terhidrolisis serta terkondensasi (Cardoso-Gutierrez et al., 2021). Tanin terhidrolisis terdapat alcohol/glukosa polihidrat yang terjadi esterifikasi pada asam heksahidroksidifenat (ellagitanin) & galat (gallotanin). Lalu tanin terkondensasi mencakup polimer & flavolan flavan 3:4-diols (leucoanthocyanidins) / flavan-3-ols (catechins) (Das et al., 2020). Cara kerja antibakteri tanin adalah dengan mengecilkan dan menghambat membrane serta dinding sel, menyebabkan kendala permeabilitas sel tersebut. sebab terkendalanya permeabilitas, sel tidak bisa melaksanakan perannya maka perkembangannya terkendala hingga mati (Ajizah, 2004).

2. Flavonoid

Senyawa fenol menunjukkan sejumlah zat kimia yang unik. Fenol memainkan kunci peran untuk beragam sifat farmakologis & biologis, termasuk sifat antikanker, anti-inflamasi, antialergi, antimikroba, antitrombotik, antivirus, aditif makanan, antivirus juga berperan menjadi molekul sinyal, serta lainnya (Kumar & Goel, 2019). Radikal bebas yang berasal melalui fenol memiliki umur panjang serta elektron yang terdelokalisasi. Sebagian zat fenolik bersifat sebagai antioksidan yang sangat optimal, bisa mengalami oksidasi, mampu mengelatkan ion logam, serta bisa melihat kelemahan asam sifatnya (Cheynier et al., 2013).

Tatacara aksi flavonoid menjadi agen antibakteri terjadi melalui pembentukan zat kompleks berprotein ekstraseluler, yang mengakibatkan gangguan pada integritas membran sel bakteri. Cara kerjanya melibatkan denaturasi protein sel bakteri serta kerusakan pada membran sel, yang tidak bisa direvisi kembali (Juliantina, 2008).

2.2 *Escherichia Coli*

2.2.1 Definisi dan morfologi

Hal ini berupa bagian dari flora normal yang biasanya hadir diusus. Sementara bakteri enterik lainnya, seperti *enterobacter*, spesies *proteus*, *margonella*, *klebsiella*, *citrobacter*, *providencia* serta *serratia*, bisa dijumpai menjadi bagian melalui flora normal diusus, namun secara umum tidak sering daripada *Escherichia Coli*. Bakteri enterik umumnya hadir pada total minim menjadi cakupan melalui flora normal dialat kelamin serta pernapasan. Biasanya, bakteri ini tidak menimbulkan penyakit, sebab bisa membagikan peran seimbang serta kontribusi dalam hal nutrisi. Saat terjadi infeksi klinis, infeksi umumnya dikarnakan *Escherichia Coli*,

meskipun bakteri enterik lainnya juga dapat menjadi penyebab infeksi yang dialami di lingkungan RS serta terkadang dapat menyebabkan infeksi yang didapati melalui komunitas.

Bakteri sebagai patogen saat meraih akses di luar lingkungan usus normal atau area di mana flora normalnya lebih jarang ditemui. Lokasi yang paling umum mengidap infeksi klinis ialah disaluran air kemih, sistem biliar, serta lainnya dirongga perut. Namun, sebagian ranah anatomi berupa kelenjar prostat, bakterimia, tulang, selaput otak & paru-paru juga bisa sebagai lokasi penyakit. Sebagian bakterinya mencakup *Enterobacter aerogenes* & *Serratia marcescens*, termasuk dalam kategori patogen oportunistik. Saat pertahanan normal tubuh tuan rumah tidak optimal, terutama terhadap lansia serta bayi, ketika penyakit terminal lain, setelah menerima *immunosuppressant*, serta memakai kateter vena atau uretra yang tertanam, infeksi lokal yang signifikan secara klinis bisa dialami. Bakteri kemudian dapat masuk ke darah serta menyebabkan sepsis (Jawetz, 2005).

Genus *Escherichia Coli* menyertakan 1 jenis bakteri yang selalu diisolasi melalui sampel klinis, ialah *Escherichia Coli*. *Escherichia Coli* umumnya dipakai menjadi subjek pada pengkajian ilmiah lebih sering daripada mikroorganisme lainnya. Bakteri ini menjadi pengidap pokok di usus besar serta berupa isolat utama sebab infeksi pada pneumonia, saluran kemih, septisemia & meningitis. Pengkajian lain melihat bila galur spesifik melalui *Escherichia Coli* memiliki potensi patogen intestinal serta bisa mengakibatkan beragam penyakit gastrointestinal. Selain *Escherichia Coli*, beberapa spesies lain pada genus *Escherichia* dapat diisolasi dari penyakit pada manusia. *Escherichia Coli* dianggap sebagai kuman oportunistik yang umumnya terdapat di usus besar individu menjadi bagian dari flora normal. Keunikan sifatnya

terletak pada kemampuannya untuk menyebabkan infeksi utama di usus, seperti diare pada anak-anak dan traveler's diarrhea, sekaligus keahliannya memunculkan infeksi disel tubuh di luar usus. Genus *Escherichia* mencakup 2 jenis pokok, yakni *Escherichia hermannii* & *coli* (Sjoker, 2003).

Bakteri *Escherichia Coli* terkenal menjadi sebuah penyebab terkendalanya pencernaan individu. Bakterinya tergolong berbatang pendek serta memiliki kondisi optimal ditemperatur 20 – 40°C. Meskipun bakteri ini bisa mengakibatkan masalah pencernaan, hanya sebagian minim tipe bakteri ini yang bersifat membuat rugi individu. Bakteri ini biasanya dijumpai didinding usus besar individu, berperan dalam mengurai selisih pangan yang tidak tercerna ditubuh. Ketika memisah makananya, bakteri mengeluarkan bau serta gas yang selalu diidentifikasi secara kentut. Melainkan memiliki dampak negatif, *Escherichia Coli* juga memiliki manfaat pada sector medis, dipakai untuk tahap media kloning & rekayasa genetika (Naim, 2011).

Fisiologi & Morfologi bakteri ini termasuk keluarga *enterobacteriaceae*. Bakterinya berupa Gram negatif berbatang pendek disempurnakan flagel, berskala kisaran 0,4 – 0,7 µm x 1,4 µm, serta memiliki simpul. Bakteri ini berkembang nyaris diseluruh jenis media pertumbuhan, memiliki kemampuan untuk memetabolisme laktosa, dan bersifat mikroaerofilik (Radji, 2011).

2.2.2 Taksonomi

Menurut Putri (2015) penjabaran mengenai *Escherichia Coli* berupa:

Filum : Proterobacteria
Superdomain : Phylogenetica
Ordo : Enterobacteriales

Kelas : Gamma Proteobacteria
Genus : Escherichia
Species : *Escherichia Coli*
Family : Enterobacteriaceae



Gambar 2. *Escherichia Coli*.

2.2.3 Patogenesis

Escherichia Coli dapat menjadi patogen ketika jumlahnya melebihi batas normal dalam tubuh dan dapat menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare (Jawetz dkk, 2005). Strain *E. coli* yang berkembang dan memiliki virulens dapat menginfeksi host mereka, dan melalui patogenitasnya, *E. coli* bisa digolongkan sebagai (Riedel et al., 2019).

- a. *A. E. Coli enteropatogenik* (EPEC): EPEC mempunyai dampak yang signifikan pada konflik penyakit diare dinegara yang tidak maju dengan mempengaruhi mukosa saluran kemih. Gejala infeksi EPEC antara lain demam dan menggigil, yang bisa terjadi secara spontan atau berpotensi menjadi kronis. Penggunaan antibiotik bisa memperpendek durasi EPEC serta memperpendek durasi kronis (Brooks et al., 2007).
- b. *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC): ialah sebab utama diare turis & bayi, terutama dinegara berkembang. Sebagianya memperoleh exotoxin (LT) yang dapat dipanaskan (HL) yang berhubungan pada gangliosida GM1 di sel epitel usus halus, yang

menyebabkan peningkatan sekresi air dan klorida serta diare yang berkepanjangan. Sebagiannya memperoleh enterotoxin STa yang stabil di panas, yang meningkatkan sekresi cairan (Brooks et al., 2007).

c. *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) menghasilkan verotoxin, yang memiliki efek sitotoksik disel Vero, sekelompok sel ginjal yang ditemukan pada monyet hijau Afrika. EHEC dikaitkan dengan kolitis hemoragik, sindrom uremik hemolitik, trombositopenia & anemia hemolitik mikroangiopati. Untuk mengidentifikasi strain EHEC O157:H7, antiserum digunakan. EHEC O157:H7 tidak tumbuh pada tes MUG serta tidak berkembang supaya sorbitol MacConkey, di mana sorbitol berfungsi menjadi perubah laktosa.

d. *Enteroinvasive E. coli* (EIEC)

Berkewajiban terhadap penyakit yang selaras pada shigellosis. Anak-anak & pelancong yang ada dinegara berkembang dominan mengidap penyakit tersebut yang berupa fermenter laktosa akhir, nonmotil & nonlaktosa (Brooks et al., 2007).

e. *Enteraggregative E. coli* (EAEC)

Enteroinvasive E. coli (EIEC) menyebabkan penyakit dengan gejala yang nyaris selaras pada shigellosis. Orang yang tinggal dinegara berkembang, terutama pelancong dan anak-anak, lebih rentan terhadap infeksi ini. EAEC mengakibatkan kekronisan diare akut terhadap individu yang ada dinegara berkembang (Brooks et al., 2007).

Tatalaksana infeksi yang disebabkan E. coli bisa diatasi memakai antibiotik. Utamanya guna dituliskan bila E. coli mempunyai resistensi intrinsik pada penisilinbenzil. Biasanya E. coli peka pada antibiotik mencakup tetrasiklin, ampisilin, trimetoprim, sefalosporin & aminoglikosida. Tapi sebab resistensi antibiotik bisa dibagikan dari plasmid, total E. coli yang resisten pada tetrasiklin & streptomisin bisa menaik (Percival et al., 2004).

2.3 *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Definisi dan morfologi

Hal ini berupa bakteri oportunistik yang selalu membuat hidung depan infeksi. Lalu bisa mengkontaminasikan produk pangan sejak pemrosesan serta persiapan, namun tidak memperoleh spora. Hal ini bisa berkembang diberagam temperatur (7 °C - 48,5°C; optimalnya 30 °C-37°C), kandungan natrium klorida 15% & rentang pH (4,2-9,3). Hal ini juga berupa bakteri yang bisa tahan pada kekeringan, yang berpotensi diranah yang stress serta sering mencakup dikulit, hidung (Lin et al., 2016).

Bakteri ini mempunyai morfologi bulat berskala kisaran 0,8-1 mikron, berwujud gumpalan mirip untaian anggur, sifat positif pada gram serta tidak berwujud spora juga sebagian strain yang diisolasi langsung melalui pengidapnya bisa berwujud susunan yang nyaris kaya kapsul. Koloni berwarna kuning emas, mengakibatkan hemolisis didarah, serta berkembang pada media yang ada kadar natrium klorida sampai 15% (Tyasningsih et al., 2010). Karakteristiknya berskala besar, halus pada teksturnya berwarna kuning keemasan. Warna tersebut dikarnakan staphyloxanthin (karotenoid) yang diperoleh bakteri, berperan guna menjaga mikroorganisme melalui fagositosis (Rasheed et al., 2021). Pemakaian mediumnya bisa dibandingkan melalui (*Staphylococcus epidermidis*), yang tidak melaksanakan fermentasi mannitol (Rasheed et al., 2021).

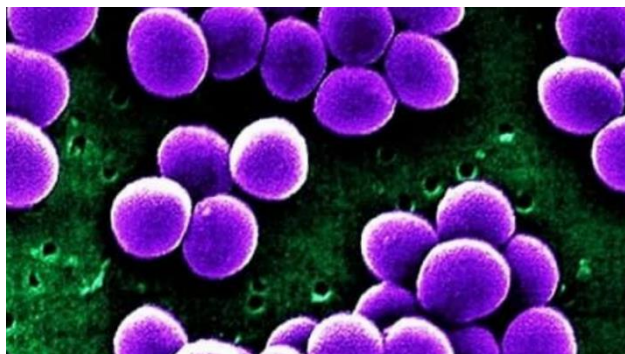
2.3.2 Taksonomi

Taksonomi bakteri (*Staphylococcus aureus*) berupa:
(Dewi., 2013).

Kingdom : *Eubacteria*
 Domain : *Bacteria*
 Famili : *Micrococcaceae*
 Domain : *Bacteria*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Genus : *Staphylococcus*



Gambar 3. *Staphylococcus aureus*.

2.3.3 Patogenesis

Karakteristiknya ialah terdapat radang nanah diakses lokalan yang berpotensi sebagai abses. Manifestasi klinis biasanya mencakup furunkel diimpetigo & kulit. Infeksi di sisi kulit ini bisa meluas ke akses mendalam, mengakibatkan artritis, osteomyelitis, terbentuknya abses & endocarditis diberagam sisi tubuh mencakup paru-paru, otak, kelenjar mammae & ginjal. Pneumonia yang dikarnakan (*Staphylococcus aureus*) selalu dialami menjadi infeksi sekunder sesudah virus influenza. Hal ini diketahui juga menjadi bakteri yang selalu mengkontaminasi luka pasca bedah, bisa memunculkan beragam komplikasi (Deleo et al., 2009). Tahap patogenesis infeksi mengaitkan kaitan antar beragam protein dasar bakteri secara beragam reseptor didasar sel inang (Deleo et al., 2009).

2.3.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Tanaman memperoleh 2 tipe zat berupa metabolit sekunder serta primer. Melalui tipe primer esensial serta meluas guna kegiatan sel (Aminah et al., 2021). Melainkan tipe sekunder sudah diberi fakta berfungsi untuk beragam kegiatan tanamannya dengan tidak langsung tipe sekunder dominan ikut dipertumbuhannya guna

menaikan keberlangsungan hidup serta menyempurnakan kaitan penyerbukan. Melainkan tipe sekunder tumbuhan mempunyai antibakteri serta bisa menjadi solusi penyembuhan infeksi bakteri (Birchfield & McIntosh, 2020). Seluruh tipe tumbuhan yang ada kadar beragam tipe sekunder, mencakup terpenoid, tannin, flavonoid & alkaloid yang sudah mempunyai kegiatan antibakteri melalui pengkajian invitro (Kumari et al., 2021). Susunan pokok yang biasanya dijumpai berupa zat ada yang kadar N, benzenoid, fenilpropanoid, terpen & flavonoid (Wang et al., 2019).

2.4 Senyawa Fenolik

2.4.1 Definisi

Zat ini berasal melalui tumbuhan yang umumnya mencakup cincin aromatik yang terkait pada 1 gugus hidroksil. Mempunyai massa fenol melampaui 20.000 Da (Kofron et al., 2022). Tumbuhannya terkandung dominan zat fenolik yang beragam serta totalnya terus menaik. Tahap asilasi, metilasi & glikosilasi bisa dialami dizat fenol, yang berupa kegiatan biologisnya serta zat kimianya (Cheynier et al., 2013). Melainkan berperan guna menjaga tumbuhan melalui hama serta predator, zat ini utama guna tumbuh kembang sebuah tumbuhan (Vuolo et al., 2019). Fenol pada beratannya yang minim gampang mempunyai bau serta menguap. Zat ini warnanya putih kekuningan serta merah, ungu serta biru (Cheynier et al., 2013).

Fenol mempunyai beragam sifat kimia yang unik. Melalui Goel & Kumar (2019), fenol berperan utama guna beragam sifat farmakologis & biologis, tergolong antikanker, anti-inflamasi, antialergi, antimikroba, antitrombotik, antivirus, aditif makanan, hepatoprotektif serta molekul sinyal. Radikal bebas fenol & Elektron bebas terdelokalisasi berusia lama. Sebagian zatnya mempunyai sifat asam lemah, keahlian guna merekat ion logam, serta antioksidan yang optimal (Cheynier et al., 2013).

2.4.2 Struktur dan Klasifikasi

Cincin aromatik yang terdapat sebagian kadar substituen hidroksil berwujud susunan zat fenolik. Terdapat dominan tipe fenol, berawal melalui molekul fenolik sederhana sampai polimer. Zat fenolik selalu berhubungan pada polisakarida & mono yang mempunyai sebagian gugusnya dengan alami. Melainkan zat ini bisa dihubungkan pada ester serta metil ester (Del Rio et al., 2013). Beragam tipe zatnya dijumpai dialam sebab beragamnya susunannya. Sekarang ini kisaran 8.000 susunannya sudah diperoleh (Vuolo et al., 2019). Zatnya bisa digolongkan terhadap tipe kelasnya berupa.

Terdapat sebagian tehnik guna menjabarkan zatnya secara membandingkan sifat kimianya, berupa total karbon dikerangka, cincin aromatik, kelarutan, gugus hidroksil serta lainnya (Kolton et al., 2022).

Kelas	Struktur
Simple phenolics, benzoquinones	C6
Hydroxybenzoic acids	C6-C1
Hydroxycinnamic acids, phenylpropanoids	C6-C3
Acetophenones, phenylacetic acids	C6-C2
Xanthones	C6-C1-C6
Stilbenes, anthraquinones	C6-C2-C6
Flavonoids, isoflavonoids	C6-C3-C6
Lignans, neolignans	(C6-C3) ₂
Lignins	(C6-C3) _n
Condensed tannins (proanthocyanidins or flavolans)	(C6-C3-C6) _n

Tabel 1. Struktur dan Klasifikasi Senyawa Fenolik.

Ada beberapa cara untuk mengklasifikasikan senyawa fenolik dengan mempertimbangkan sifat kimianya, seperti jumlah cincin aromatik, jumlah karbon dalam kerangka, jumlah gugus hidroksil, kelarutan, dan lain-lain (Kofton et al., 2022).

2.4.3 Biosintesis

Hal ini bersumber melalui akses metabolisme primer, tergolong asetil-KoA, glikolisis serta akses pentosa fosfat. Fosfoenolpiruvat melalui eritrosa-4-fosfat & glikolisis melalui fase pentosa fosfat berfungsi untuk memperoleh asam shikimat dari akses shikimat. Ditahap ini terwujud asam amino aromatik, tergolong L-fenilalanin. Tahap selanjutnya mengaitkan akses fenilpropanoid barawal mula terwujudnya p-coumaroyl CoA. Zatnya dipakai untuk monolignol & sintesis fenilpropanoid. Sesudah terjadi kondensasi pada 3 molekul asam malonat, terwujud zat fenolik yang sangat kompleks, berupa flavonoid serta stilben (Kofton et al., 2022).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi

Hal ini berupa tipe zat kimia yang murni ada dipangan serta bisa menangkal serta menyusuti stres oksidatif difisiologis. Tubuh dengan berkala memperoleh radikal bebas sebab pemakaian oksigen, yang bisa merusak sel serta berpartisipasi terhadap beragam konflik medis khususnya sakit diabetes, jantung, kanker serta degenerasi makula (Brar et al., 2014). Peran pokoknya ialah menjaga sel yang rusak sebab tidak seimbangnya molekul. Kerusakan ini bisa mengacukan kanker. Sebagian contohnya mencakup likopen, beta-karoten, serta vitamin C, E, A, (Chemistry, 2010).

Melalui kaitan kimia, antioksidan berupa molekul yang bisa menangkal oksidasi molekul lain. Oksidasi ialah efek kimia yang membagikan elektron melalui sebuah zat kepengoksidasi. Reaksi ini bisa memperoleh radikal bebas, yang membuat efek berantai yang bisa membuat sel rusak. Sehingga antioksidan berfungsi menjadi agen pereduksi, mencakup asam askorbat, tiol serta polifenol (Chemistry, 2010). Fungsi lainnya menjadi perangkap radikal bebas serta merevisi sel yang rusak (Brar et al., 2014). Tubuh individu dengan murni menyajikan beragam sifat antioksidan serta nutrisi yang memperoleh enzim antioksidan guna mengontrol efek berantai yang membuat rusak tersebut mencakup vitamin E & C, asam lipoat & karoten (Dontha, 2016).

2.5.2 Klasifikasi

Antioksidan digolongkan 2 tipe pokok melalui perolehannya ialah antioksidan sintesis serta alami (Brar et al., 2014).

2.5.3 Mekanisme Kerja

Antioksidan pada minil berat molekulnya ialah molekul minim yang berpotensi masuk ke sel, mengkalkulasikan ditaraf konsentrasi yang besar di suatu kompartemen yang terkait pada rusaknya oksidatif, lalu direvisi sel tersebut. melalui kaitanya terhadap individu, antioksidan berat molekul rendah (LMWAs) seluler bisa didapati melalui beragam sumber, tergolong nicotinamide adenine dinucleotide, Glutathione (GSH), asam urat (UA), carnosine yang disintesis oleh sel serta bilirubin yang berupa hasilkan melalui metabolisme tokoferol, dan sel asam askorbat (AA) serta polifenol (Haedi, 2022). Dominan LMWAs mempunyai kisaran kehidupan yang pendek. Sehingga, efektivitasnya tidak hanya berkaitan terhadap konsentrasi radikal bebas & antioksidan, namun berkaitan terhadap faktor yang terhubung pada susunan kimianya (Francenia Santos-Sánchez et al., 2019).

2.5.4 Uji Antioksidan

Terdapat golongan ujinya yang bisa dijelaskan berupa : (Dontha, 2016).

1. Uji Hidrogen Atom Transfer (HAT) guna mengukur keahlian mentransfer atom hidrogen melalui zat antioksidan secara efek ET berkaitan proton, ujinya dilandaskan terhadap efek antar probe molekuler 28 generator radikal bebas sintetik yang bisa dioksidasi, serta oksidan. Tesnya berupa :
 - a. Tehnik pengais radikal (ABTS)
 - b. Daya serap radikal oksigen (ORAC)
 - c. Aktivitas Pengaisan radikal hidroksil
 - d. Parameter antioksidan penjebak radikal total (TRAP)
 - e. Uji kapasitas penghambatan LPO (LPIC)
 - f. Kapasitas pencegahan radikal hidroksil (HORAC)
 - g. Pengambilan oksigen terhambat (IOC)
 - h. Pengaisan radikal H-O
 - i. Uji -karoten–asam linoleat (linoleat)
 - j. Uji Photochemiluminescence (PCL) (Dontha, 2016).
2. Uji Electrons Transfers (ET). Tes ini mengukur daya zat antioksidan. Dilandaskan terhadap efek redoks sederhana, yang mana zatnya menyusuti teroksidasi &radikal bebas. Reduksi zat antioksidan menyebabkan berubahnya warna. Tesnya berupa: (Dontha, 2016).
 - a. Uji pengaisan radikal anion superoksida
 - b. Uji pengaisan radikal bebas DPPH
 - c. Kapasitas antioksidan ekivalen Trolox (TEAC), menggunakan ABTS
 - d. Daya antioksidan pereduksi ion besi (FRAP)
 - e. Reagen Folin-Ciocalteu (FCR), uji total fenol
 - f. Uji kapasitas antioksidan pengurang ion tembaga (CUPRAC).
 - g. Uji N,N-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD)

- h. Mengurangi uji daya
- i. Uji zat reaktif asam tiobarbiturat (TBARS) (Dontha, 2016).

2.6 Ekstraksi

2.6.1 Definisi

Hal ini berupa sebuah tehnik disektor farmasi yang mengacu terhadap tahap dipisahanya zat aktif obat melalui tanaman serta akses hewan memakai larutan selektif selaras pada rancangan ekstraksi standar (Rasul, 2018). Ketika langkah ekstraksi, dialami kaitan antar pelarut serta bahan. Tahap ini biasanya tergolong 3 jenis, dimana larutan yang selaras bisa membuat dindingan sel rusak, lalu melaruti zat metabolit sekunder, yang akhirnya, dipisah guna memperoleh ekstrak yang hendak dipakai (Agung, 2017).

Ekstraksi ialah tehnik yang dipakai guna memisah unsur berkhasiat obat melalui tumbuhan secara memakai suatu pelarut rancangan standar (Azwanida, 2015). Pada kaitanya, ekstraksi bisa dijabarkan menjadi perlakuan bahan tumbuhan secara larutanya aktif dilarutkan (Swamy & Akhtar, 2019). Target pokoknya ialah membuat terpisahnya metabolit tumbuhan yang larut melalui residu yang tidak larut maka bisa didapati zat yang dihendaki (Azwanida, 2015). Larutan yang dipakai mencakup menstruum, melainkan bahanan inert yang tetap tidak melarut sesudahnya dikatakan marc (Swamy & Akhtar, 2019). Tahapanya tergolong pada larutan yang tembus dimatriks padat (Zhang et al., 2018).

2.6.2 Pelarut Ekstraksi

Hal utama guna menentukan larutan yang cocok guna tahap ekstraksi ialah mengaitkan perbandingan berupa kelarutan, selektivitas, keamanan & biaya (Zhang et al., 2018). Ketika menentukan larutan, faktor mencakup kepolaritas unsur yang dihendaki serta tidak (Zampar et al., 2022). Beragam tipe larutanya

bisa berdampak signifikan terhadap perolehan minyak essential serta taraf bioaktif yang dihendaki (Daud et al., 2022).

2.6.3 Metode

Terdapat sebagian teknik yang bisa dipakai guna membuat terpisahnya zat alami melalui tanaman ialah modern serta konvensional. Melalui cara konvensional meliputi sokletasi, maserasi, infus, perkolasi, digesti, serial exhaustive extraction & rebusan. Melalui tipe modern meliputi Microwave-Assisted Extraction (MAE), Supercritical CO₂ Extraction (SC-CO₂), Enzyme-Assisted Extraction (EAE), Pressurized Fluid Extraction (PFE) & *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) (Alara et al., 2021). Cara konvensional sering dilaksanakan terhadap tekanan atmosfer, melainkan cara modern dilaksanakan ditekanan tinggi (Rasul, 2018).

1) Sokletasi

Sokletasi berupa cara mengekstraksikan berkala yang optimal, membutuhkan periode serta larutan yang minim daripada perkolasi & maserasi (Zhang et al., 2018). Pada cara ini, sampel dibungkuskan memakai selulosa serta tangguh serta kertas saring, lalu diletakan dithimble. Tahapanya berawal mula secara memanasi larutan ekstraksi dilabu, mengembun dikondensor, menguap ke arah sampel dalam thimble lalu balik kemenetes pada labu (Aziz et al., 2021). Alat nya mencakup (Swamy & Akhtar, 2019):

- a. Ekstraktor soxhlet.
- b. Labu berisi pelarut mendidih.
- c. Kondensor yang mana uap larutan akan mengeluarkan embun yang kembali kelarutan.

2). *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Hal ini sering dikatakan menjadi sonikasi & ekstraksi ultrasonik, berupa cara ekstraksi yang memfungsikan energi yang bersumber melalui gelombang ultrasonik (Zhang et al., 2018). Teknik ini diasumsikan menjadi green extraction technology (Tiwari, 2015). Dasar perbandingannya antar suara yang sering didengarkan serta *ultrasound* ada direkuensi gelombangnya, meraih 18 gelombang. Ketangguhan pendukung pokok cara UAE ini ialah kavitasi akustik (Torres et al., 2017).

Ada beberapa jenis peralatan UAE melalui wujud alatnya:

- a) Water Bath berupa cara yang mana sebuah bejana yang terdapat kolaborasi bahan direndamkan ke wadah pada bahan baja yang terisi air serta tahan karatan (Mandal et al., 2015). Dominannya berkeaktifan difrekuensi kisaran 40 KHz. Kesuksesan caranya didorong biaya yang ekonomis, keahlian mengelola sampel serta adanya fasilitas yang utuh (Khadhraoui et al., 2019).
- b) Probe berwujud tongkat pada ujungnya disempurnakan transduser yang sering dibenam serta direndam dikomposisi media cair memperoleh gerak langsung gelembung kavitasi melalui ujung probe (Khadhraoui et al., 2019).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Definisi

Hal ini berupa substansi yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian pada bakteri. Secara mekanisme kerja, antibakteri dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori, yakni bakteristatik yang mencegah perkembangan bakterisida & bakteri yang mengakibatkan kematian bakteri. Selain itu, melalui sasaran tatakernjanya, antibakteri digolongkan beberapa jenis, seperti merusak dinding serta membran sel, mengubah permeabilitas sel,

menghambat aktivitas enzim, serta menghambat protein & sintesis asam nukleat (Rollando, 2019).

2.7.2 Metode Pengujian

Hal ini berupa prosedur untuk menilai kepekaan bakteri pada suatu zat antibakteri. Sebagian caranya bisa diklasifikasikan berupa (Khusuma et al., 2019):

a. Metode Dilusi:

- 1) Dilusi Perbenihan Cair: Merupakan metode dasar pengujian antibakteri di mana agen antimikroba diencerkan dua kali lipat. Metode ini dapat dibagi menjadi mikrodilusi dan makrodilusi, dengan perbedaan utama pada volume pengenceran. Makrodilusi memakai volume diatas 1 ml, sementara mikrodilusi menggunakan volume 0,05 hingga 0,1 ml (Soleha, 2015).
- 2) Dilusi Agar: zat yang hendak diujikan pada kegiatan antibakterinya ditingkatkan serta diencerkan keagar. Tahapanya mengaitkan pembenihan supaya selaras pada total pengenceran, secara ditingkatkan benih tidak dengan zat antibakteri dipakai menjadi control (Soleha, 2015).

b. Metode Difusi:

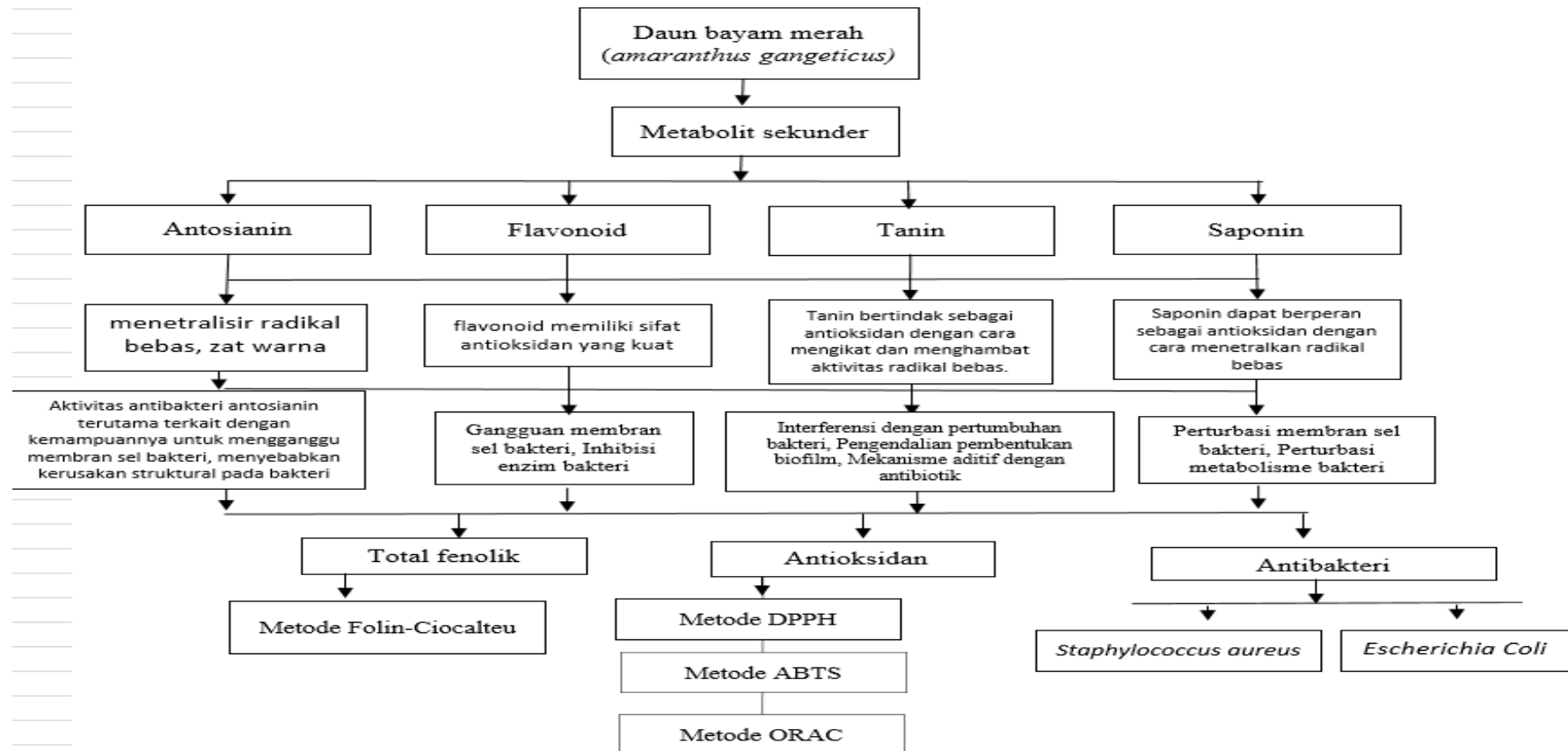
- 1) Cakram (Disk Diffusion): cakram yang sudah diberi zat antimikroba ditempatkan pada media yang telah dibiakkan dengan bakteri yang hendak diujikan. Inhibisi perkembangan uji terlihat dalam pembentukan zona bening dikisaran cakram (Soleha, 2015).
- 2) Cara Parit (Ditch Plate): cara parit melibatkan pemotongan media dalam cawan petri membujur di bagian tengah, lalu sejumlah zat antibakteri dimasukkan ke dalam parit. Kemudian, mikroorganisme uji (maksimal 6 macam)

digesek keparit yang mengandung agen antimikroba (Etikasari et al., 2017).

- 3) Cara Sumuran (Cup/Hole Plate): Metode sumuran melibatkan pembuatan lubang bulat pada media agar, tempat di mana zat antibakteri dapat dimasukkan. Setelah itu, ketika agar mulai memadat, pipet diangkat dengan pinset steril sehingga membentuk sumuran. Metode ini dianggap efektif karena memastikan penyebaran zat antibakteri dari permukaan atas hingga kebawah agar (Nurhayati et al., 2020).

2.8 Kerangka Teori

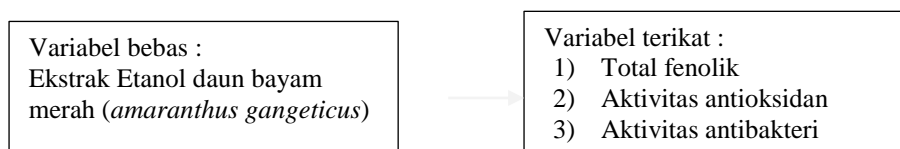
Adapun kerangka teori pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 4 Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Kerangka Konsep.

2.10 Hipotesis

2.10.1 Hipotesis Null (H₀)

1. Ekstrak Etanol daun bayam merah tidak mengandung senyawa fenolik.
2. Ekstrak Etanol daun bayam merah tidak memiliki aktivitas antioksidan.
3. Ekstrak Etanol daun bayam merah tidak memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia Coli*.
4. Ekstrak Etanol daun bayam merah tidak memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

2.10.2 Hipotesis Alternatif (H_a)

1. Ekstrak Etanol daun bayam merah mengandung senyawa fenolik.
2. Ekstrak Etanol daun bayam merah memiliki aktivitas antioksidan.
3. Ekstrak Etanol daun bayam merah memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia Coli*.
4. Ekstrak Etanol daun bayam merah memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Pengkajian ini berupa eksperimen laboratorium yang melibatkan ekstraksi daun bayam merah secara memakai cara *Ultrasound Assisted Extraction*. Subsequently, dilanjutkan dengan mengukur total fenolik, melakukan uji antioksidan, dan menguji kegiatan antibakteri. Diukurkannya jumlah fenolik memakai cara Folin-Ciocalteu digunakan guna menentukan kandungan zat fenolik dalam bayam merah. Uji antioksidan dilakukan bertehnik DPPH, sementara kegiatan antibakteri diukur memakai cara sumuran guna menilai diameter zona guna perkembangan hambatan *Staphylococcus aureus* & *Escherichia Coli*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk tahapan determinasi tanaman. Laboratorium Kimia Farmasi Analisa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk membuat ekstrak daun bayam merah, uji fitokimia, menghitung kadar total fenolik, dan uji antioksidan. Laboratorium Kesehatan Daerah Lampung (LABKESDA) Universitas Lampung untuk melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun bayam merah terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Pengkajian ini diselenggarakan sejak Desember 2023 – Juli 2024

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Pengkajian ini memakai alat berupa : masker, Jas lab, gelas ukur, handscoon, labu alas bulat, labu ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, rak, corong, neraca analitik, tabung reaksi, kertas saring, gunting, aluminium foil, kertas perkamen, blender, plastik yang dibungkus, pipet tetes, pipet volume, mikropipet, tip, jarum ose, kapas lidi steril, autoklaf, cawan petri, laminar air flow, incubator & spektrofotometer UV-Vis (9100UI).

3.3.2 Bahan Penelitian

Pengkajian ini memakai baha berupa : etanol 96%, bayam merah (*Amaranthus Tricolor*), HCl encer, aquades, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, serbuk magnesium, serbuk zink, asam asetat glasial 5%, FeCl₃ 5%, kloroform, NaNO₂ 5%, reagen Folin-Ciocalteu (Merck), asam galat, media NA (Nutrient Agar), Na₂CO₃ 7,5%, NaCl 0,9%, media TSB (Trypticase Soy Broth), larutan standar 0,5 Mc Farland, BaCl₂ 1%, antibiotik amoxicillin, bakteri *Staphylococcus aureus* & biakan bakteri *Escherichia Coli*.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Pada pengkajian ini variabelnya berupa ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*) bermetode *Ultrasound Assisted Extraction*.

3.4.2 Variabel Terikat

Pada pengkajian ini variabelnya berupa kadar total fenolik, aktivitas antioksidan dengan satuan IC₅₀ dan aktivitas antibakteri

guna mengukur diameter zona hambat perkembangan bakteri *Escherichia Coli* serta *Staphylococcus aureus*.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Hal ini dilaksanakan guna menjamin bila tumbuhan yang dipakai untuk pengkajiannya berupa tumbuhan bayam merah.

3.5.2 Preparasi Sampel

Pengkajian ini bersampel daun bayam merah yang diperoleh melalui Desa Dwikora, Lampung Utara Kecamatan Bukit Kemuning. Daun bayam merah dibersihkan melalui pencucian dibawah air mengalir guna menghilangkan kotoran didaun. Sesudah dicuci, daun bayam merah dijemur dipancarkan matahari yang ditutupi memakai kain hitam hingga mongering daunnya dan disimboli secara daun yang dapat dipotong dengan mudah. Daun bayam merah dipotong-potong lalu dihaluskan menggunakan blender, hasil disimpan dalam tempat sejuk dan kedap udara. (Yudiono, 2011)

3.5.3 Pembuatan Ekstrak

Mengacu pada penelitian vinca (2023) dengan beberapa perubahan. Pembuatan ekstrak daun bayam merah menggunakan etanol 96%. Serbuk simplisia daun bayam merah ditimbang, Sebanyak 30 gram sampel dicampur dengan pelarut etnaol 96% sebanyak 140 ml dengan perbandingan bahan dan pelarut yaitu 1:7, selama 30 menit menggunakan ultrasonic bath pada suhu 40 °C, kemudian hasil disaring lalu dimasukkan kedalam labu erlenmeyer. Setelah itu, filtrat diuapkan pelarutnya dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental lalu ditentukan presentase rendemennya.

Metode perhitungan rendemen yang digunakan yaitu (Aristyanti et al., 2017) :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid

1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditetesi dengan kloroform sebanyak 5 tetes dan 5 tetes merkuri kalium iodida, yang merupakan reagen Mayer, ditambahkan serta dikocokkan. Bila kekeruhan timbul, disebut positif terkandung alkaloid. (Abubakar & Mainul, 2020).

2. Uji Flavonoid

1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditingkatkan 5 mililiter HCl kat & 0,5 gram serbuk magnesium. Kemudian, dikocokkan. Terdapat berubahnya warna merah atau kuning melintaskan terkandung flavonoid. (Abubakar & Mainul, 2020).

3. Uji Saponin

Sejumlah 1 gram ekstrak dicantumkan ke tabung reaksi. Ditingkatkan 5 ml aquades lalu dikocokkan. Bila berwujud busa stabil yang dapat bertahan selama 10 menit, disebut ada saponin (Abubakar & Mainul, 2020).

4. Uji Fenolik

Dalam tabung reaksi, 1 gram ekstrak dimasukkan. Ditambahkan satu tetesan FeCl_3 5%. Warna hitam serta hijau tua melintaskan ada fenolik. (Shaikh & Patil, 2020).

5. Uji Tanin

Untuk uji tanin, 1 gram ekstrak dicantumkan ke tabung reaksi serta ditingkatkan 3 tetes FeCl_3 10%, lalu dikocok. Jika warnanya berubah menjadi hitam kebiruan, sampel menunjukkan reaksi positif. (Abubakar & Mainul, 2020).

6. Uji Steroid dan Terpenoid

Uji Liebermann-bouchard: 1 gram ekstrak dicantumkan ketabung reaksi, lalu direaksikan secara dengan 0,5 ml asam asetat glasial dan 0,5 ml H₂SO₄. Munculnya warna kuning atau kemerahan dapat menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Sebaliknya, perubahan warna dari violet ke hijau biru menunjukkan ada steroid. (Perumal et al., 2021).

3.6 Pengukuran Total Fenolik

Uji ini dilaksanakan menggunakan metode Folin-Ciocalteu, yang merupakan metode yang digunakan (Rahman et al., 2021) secara sebagian perbaikan. Ini dilaksanakan guna mengamati jumlah fenolik jumlah yang ada diektrak daun bayam merah.

1. Pembuatan reagen:
 - a. 0,5 ml etanol dikombinasikan pada 10 mg asam galat peranalisa serta ditingkatkan aquades hingga 100 ml.
 - b. Membentuk pelarut 7,5 gram Na₂CO₃ Na₂CO₃ 7,5 persen dikombinasikan 80 mililiter aquades, lalu dibuat mendidih hingga Na₂CO₃ melarut dengan utuh. Sesudah 24 jam, disaring sesudah dicampur awal ditingkatkan aquades hingga meraih 100 mililiter.
2. Analisa kandungan jumlah fenolik memakai spektrofotometer UV-Vis.
 - a. Penetapan panjang gelombang terbesar (λ_{maks}): 300 μ l pelarut asam galat dicantumkan kelabu ukur 10 mililiter serta ditingkatkan 0,5 mililiter reagen Folin-Ciocalteu. Lalu ditingkatkan 2 mililiter pelarut CO₃ 7,5 %, serta 5 mililiter aquades. Sesudah 1 jam, pelarut ditingkatkan aquades hingga digojog sampai homogen. Lalu diukurkan gelombang panjangnya 600–800 nm berinterval 0,5 nm..
 - b. Menentukan kurva baku asam yang tidak tepat
 - c. Melalui ukuran labu 10 mililiter tiap pelarutnya dikombinasikan secara 0,5 mililiter reagen Folin-Ciocalteu. Lalu ditingkatkan 2 mililiter pelarut Na₂CO₃ 7,5 % serta 5 mililiter aquades. Sesudah 1 jam pelarutnya ditingkatkan hingga digojok sampai homogen.

- d. Menentukan kadar fenolik
- e. 50 mililiter ekstrak daun bayam merah dilarutkan memakai metanol 80% hingga 50 mililiter. Lalu, pipet 200 mililiter pelarut ekstraknya dicantumkan kelabu pengukuran 10 mililiter serta ditingkatkan 0,5 mililiter reagen Folin-Ciocalteu. Lalu ditingkatkan 2 mililiter pelarut Na_2CO_3 7,5 % serta aquades ditingkatkan. Absorbansi pelarutnya ditetapkan secara memakai spektrofotometer UV-Vis terhadap gelombang panjang absorbansi maksimum. Yang dilaksanakan 3x pengukuran (Rahman et al., 2021).

3.7 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm
sebesar 0,004 gram DPPH dibuat melarut pada 100 mililiter etanol 70%. Larutan lalu dikocokkan sampai DPPH larut secara utuh.
2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH
Satu mililiter pelarut DPPH diambil, lalu lima mililiter etanol 70% ditambahkan, dan didiamkan di tempat gelap selama tiga puluh menit. Hasilnya diukur terhadap gelombang panjang 400-600 nm. (Prasetyo et al., 2021).
3. Penetapan kegiatan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah dan Kontrol Positif Vitamin C
Ekstraknya dibentuk pada konsentrasi 100-500 ppm. Kemudian, ekstrak ini dipipet ke dalam lima tabung reaksi yang dilapisi foil alumunium masing-masing 1 mililiter. Setelah menambah dua mililiter larutan DPPH, kocok hingga rata dan biarkan selama tiga puluh menit. Pengukuran penyerapan dilakukan memakai spektrofotometer UV-Vis pada gelombang panjang terbesar. Metode yang sama digunakan untuk membandingkan konsentrasi vitamin C dengan 2-4-6-8-10 ppm. (Nurhasnawati, dkk 2017).

4. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Persamaan berikut menunjukkan aktivitas antioksidan dalam satuan persen inhibisi.

Absorbansi kontrol berupa absorbansi DPPH 40 ppm (Nurhasnawati et al., 2017). Nilai IC_{50} didapat dengan menggunakan persamaan garis regresi linier, di mana nilai $y = bx + a$. Nilai IC_{50} adalah konsentrasinya diperlukan guna meredampkan 50% melalui jumlah DPPH, jadi nilai 50 diacukan guna y serta x adalah IC_{50} (Trisianti et al., 2016).

Selanjutnya, klasifikasi dilakukan berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan setelah memperoleh nilai IC_{50} . Nilai persen inhibisi berkorelasi dengan nilai IC_{50} , dan diketahui bahwa IC_{50} yang minim melihatkan kegiatan antioksidan yang besar (Filbert et al., 2014).

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Cuci dan keringkan bahan alat pengkajian. Alat yang hendak dipakai dibersihkan serta dibungkuskan memakai aluminium foil. Selanjutnya, untuk mencegah kontaminasi mikroba, alat dan bahan (kecuali biakan bakteri dan ekstrak daun bayam merah) dibersihkan memakai autoklaf bertekanan 1 atm hingga 15 menit ditemperatur $121^{\circ}C$ di oven $170^{\circ}C$ hingga ± 2 jam. Namun, jarum ose, pinset serta alat gelas dapat dibersihkan secara memanasinya di bawah lampu bunsen (Alina et al., 2017).

2. Pembuatan media Nutrient Agar (NA)

Sebanyak 23 gram NA dicampuri 1liter aquades. Medianya dipanasi di atas plat panas hingga homogen. Autoklaf digunakan untuk membersihkan media selama lima belas menit ditemperatur $121^{\circ}C$; sesudahnya didiami hingga temperaturnya $50^{\circ}C$. Luangkan 20 mililiter media kecawan petri serta ditutupkan alumunium foil hingga padat (Alina et al., 2017).

3. Peremajaan bakteri

Pastikan NA yang dibentuk tersedia. Pastikan ose warnanya merah saat dipanaskan. Setelah membuka tabung reaksi memakai lampu bunsen guna membuat mulut tabung panas, ambilkan bakteri melalui stok kultur memakai ose. Gunakan lampu bunsen untuk memanaskan media NA dalam cawan petri, lalu gosokkan bakteri melalui ose ke NA dengan zig-zag. Gunakan lampu bunsen untuk membersihkan kembali cawan petri dan mulut tabung reaksi. Setelah itu, cawan petri disimpan selama satu hari dalam inkubator pada suhu 37° Celcius. (Rumaolat, 2020)..

4. Pembuatan inokulum bakteri

Koloni bakteri yang sudah diremajai dengan memasukkan ose steril ketabung yang ada 5 mililiter Tryptic Soy Broth (TSB) untuk menyediakan inokulum. Setelah itu, inkubasi selama dua jam di inkubator pada suhu 37° Celcius. (Laboratory Standards Institute & Clinical, 2012).

5. Pembuatan larutan Mc. Farland

0,5 ml pelarut BaCl₂ 1% ditingkatkan 9,95 ml H₂SO₄ 1% serta dikocokkan merata lalu suspensi bakteri dibedakan (Fatisa, 2013).

6. Pembuatan suspensi bakteri

Pelarut baku yang bernilai 0,5 McFarland selaras pada 1 kali 10⁸ CFU/ml, jadi kekeruhannya harus sesuai dengan standar kekeruhan larutan McFarland. (Laboratory Standards Institute & Clinical, 2012).

7. Pembuatan larutan uji

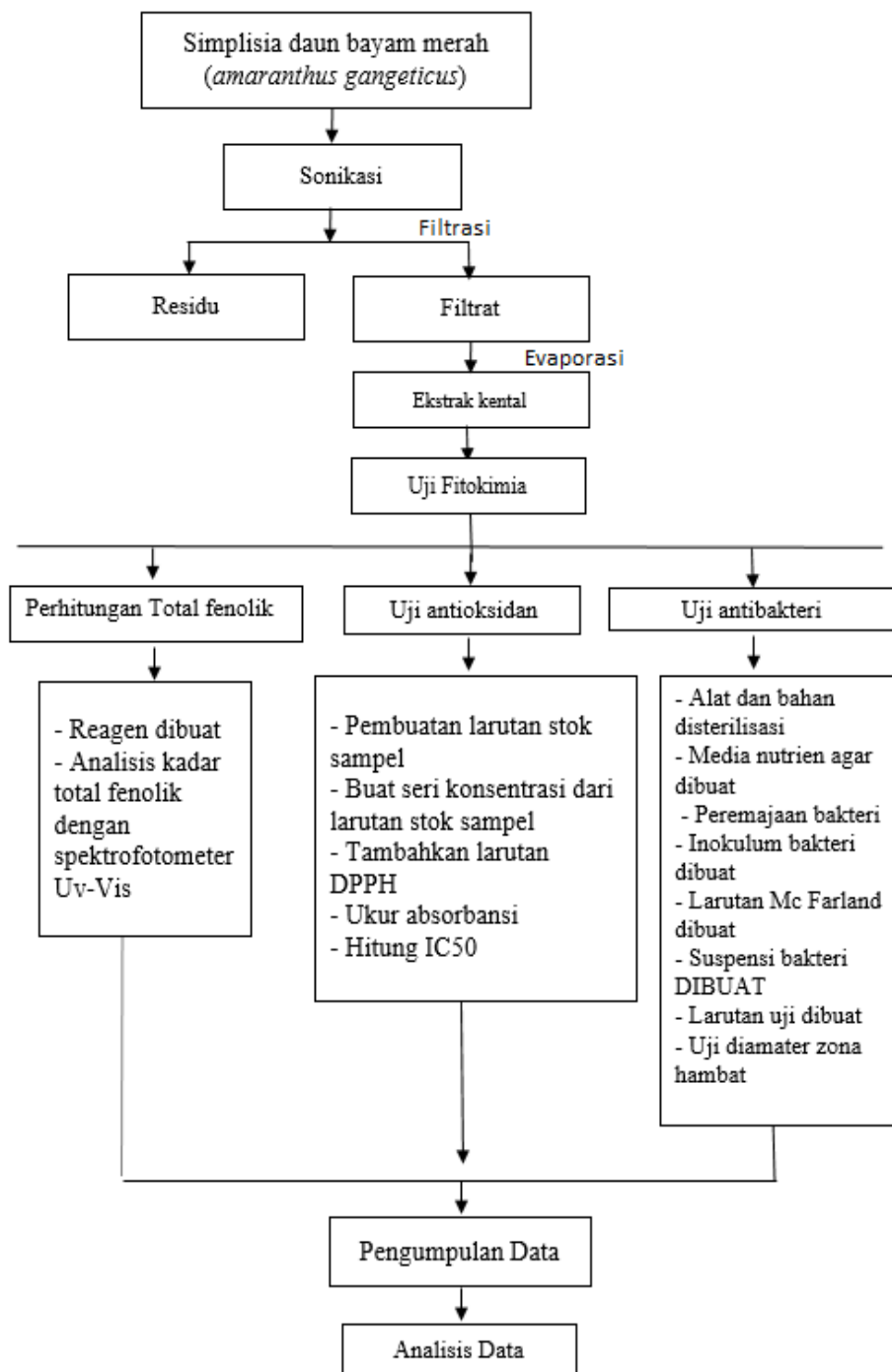
Serangkaian konsentrasi ekstrak daun bayam merah yang dilarutkan dengan aquades, kelola negatif ialah aquades & positifnya ialah amoksisilin 1 mg/ml (Alina et al., 2017).

8. Uji diameter zona hambat

Hal ini pada bakteri dinilai melalui metode sumuran. Membuat media agar dalam pengujian, langkah awalnya adalah mencampur 8 g Nutrient Agar (NA) dengan 400 mL aquades steril. Campuran tersebut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Proses pengadukan dilakukan

dengan menggunakan magnetic stirer untuk memastikan bahwa bahan dalam media tersebar merata dan tercampur dengan baik. Kemudian, media tersebut dijalani proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah nutrient agar telah disiapkan dan disterilkan, media tersebut dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan sebelumnya. Pengujian bakteri dilakukan pada media yang sudah mengeras dan padat setelah dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah bakteri uji dimasukkan ke dalam media NA, empat sumuran dan 2 sumuran sebagai kontrol dibuat di ujung lubang pipet. Ditambahkan 100 mikroliter larutan uji yang berbeda-beda ke setiap lubang sumuran. Kemudian, cawan petri ditempatkan di dalam inkubator dan diinkubasi selama periode 24 jam pada suhu 37°C (Rizki et al., 2022).

3.9 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian.

3.10 Analisis Data

Data yang terkumpul dimasukkan kedalam table, kemudian perangkat lunak Statistical Packages for Social Science (SPSS) digunakan untuk menganalisis data. Pengolahan data dalam penelitian ini mengikuti langkah-langkah antara lain (Adiputra *et al.*, 2021):

1. Editing

Pemeriksaan kembali data-data yang dikumpulkan dari hasil pengukuran dalam penelitian yang telah dikerjakan untuk mendeteksi kesalahan atau error dalam memasukkan data.

2. Coding

Proses, operasi, dan tanggapan dalam mengkode data pada masing-masing seluruh hasil pengukuran penelitian yang diatur dalam kelas atau kategori dan angka atau symbol untuk mempermudah pengolahan data.

3. Data Entrying dan Processing

Data yang telah diberi kode akan dianalisis dengan memasukkan data tersebut keperangkat lunak *Statistical Packages for Social Science* (SPSS).

4. Data Tabulating

Data-data hasil penelitian yang telah dianalisis dengan perangkat lunak *Statistical Packages for Social Science* (SPSS) dimasukkan kedalam table-tabel sesuai kriteria yang telah ditentukan.

3.11 Analisis Data

Analisis data menggunakan software SPSS versi 25 yang akan mengolah data menjadi 2 macam Analisa data, yaitu:

3.11.1 Analisis Univariat

Analisis univariat merupakan analisis yang digunakan untuk melihat distribusi atau gambaran dari masing-masing variabel penelitian (Amri *et al.*, 2019). Pada *penelitian* ini analisis univariat digunakan untuk mengetahui nilai rata-rata (*mean*) dan standar deviasi dari masing-masing hasil pengukuran.

3.11.2 Analisis Bivariat

Penentuan konsentrasi optimum ekstrak terdelipidasi dianalisis menggunakan *software* IBM SPSS versi 25. Konsentrasi yang berbeda pada daun bayam merah dilakukan uji karakterisasi aktivitas antibakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escheria coli*. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan uji Saphiro-wilk test untuk menguji normalitas data. Distribusi data normal jika p-value $>0,05$ dan jika p-vauae $<0,05$ distribusi data tidak normal. Apabila data terdistribusi normal maka digunakan uji statistik One Way Anova dan dilanjutkan uji homogenitas dengan Levene test. Apabila data terdistribusi tidak normal maka digunakan uji alternatif Kruskal-Wallis. Analisis ini digunakan untuk menganalisis variabel independen dan dependen, yaitu untuk mengetahui konsentrasi optimum daun bayam merah dalam ekstrak yang menggunakan metode sonikasi (*Ultrasound Assisted-extraction*, UAE) terhadap aktivitas antioksidan, kadar total fenolik, kadar total flavonoid dan pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *escheria coli*. Hipotesis akan dianggap bermakna bila hasil p-value $< 0,05$ dan dianggap tidak bermakna apabila p-value $> 0,05$ (Suraini *et al.*, 2015; (Rivero-Cruz *et al.*, 2020).

3.12 Etika Penelitian

Pengkajian ini sudah diusulkan serta disepakati Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk etika penelitian (Ethical Clearance).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun bayam merah yang di ekstraksikan bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti Flavonoid, Alkaloid, Saponin, dan Tanin.
2. Ekstrak daun bayam merah bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction* menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC₅₀ sebesar 3.083 dengan konsentrasi uji.
3. Ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor*) yang menggunakan ekstraksi bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri sebesar 11,88 mm, 12,43 mm, 12,78 mm, dan 15,76 mm terhadap *Escherichia Coli* dengan konsentrasi uji (10%, 20%, 40%, dan 80%).
4. Ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor*) yang menggunakan ekstraksi bermetode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri sebesar 11,55 mm, 12,18 mm, 12,49 mm, dan 12,77 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi uji (10%, 20%, 40%, dan 80%).
5. Ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor*) yang diekstraksi menggunakan metode UAE/*Ultrasonic-Assisted Extraction* memiliki kadar total fenolik sebesar 159,37 mg GAE/gr.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda.
2. Perlu dilakukannya fraksinasi dan isolasi terhadap senyawa metabolit sekunder agar didapatkan kadar total fenolik dan aktivitas antibakteri ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) yang lebih optimal.
3. Perlu dilakukannya peningkatan konsentrasi ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli* dan *Stapylococcus Aureus*.
4. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan terkait aktivitas antibakteri ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor*) terhadap pertumbuhan bakteri lainnya baik bakteri gram positif maupun gram negatif lainnya.
5. Perlu dilakukannya uji aktivitas biologis lain seperti uji total flavonoid, antiinflamasi, antidiabetes, dan anticancer.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung N. 2017. Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. Banjar Baru: Lambung Mangkurat University Press: 155.
- Alina, R., Hidayati, S. N., Antares, D. A., Fuadah, F. S., & Wijayanti, R. 2017. Uji aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare. *Media Farmasi Indonesia*, 12(2), 1210–1217.
- Aminah, N. S., Laili, E. R., Rafi, M., Rochman, A., Insanu, M., & Tun, K. N. W. 2021. Secondary Metabolite Compounds from *Sida* Genus and Their Bioactivity. *Heliyon*, 7(4), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06682>
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 3–8. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bandini, Y dan N. Azis. 2001. Bayam. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Birchfield, A. S., & McIntosh, C. A. 2020. Metabolic Engineering and Synthetic Biology of Plant Natural Products – A Mini Review. *Current Plant Biology*, 24, 1–11. <https://doi.org/10.1016/J.CPB.2020.100163>
- Bria, D. 2016. Pengaruh jenis dan konsentrasi teh kompos terhadap pertumbuhan dan hasil bayam merah (*Alternanthera amoena*, Voss). *Savana Cendana*.1(3):108-111.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2007. *Jawetz Melnick & Adelbergs medical microbiology* (24th ed.). The McGraw-Hill Companies.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2005, *Jawetz, Melnick, Adelberg Mikrobiologi Kedokteran*, 1 st ed. (Bagian Mikrobiologi FK Unair, penerjemah). Salemba Medika, Jakarta, hal. 277-279, 317-326
- Cardoso-Gutierrez, E., Aranda-Aguirre, E., Robles-Jimenez, L. E., CastelánOrtega, O. A., Chay-Canul, A. J., Foggi, G., Angeles-Hernandez,

- J. C., Vargas-Bello-Pérez, E., & González-Ronquillo, M. 2021. Effect of Tannins from Tropical Plants on Methane Production from Ruminants: A Systematic Review. *Veterinary and Animal Science*, 14, 100214. <https://doi.org/10.1016/J.VAS.2021.100214>
- Chemat F, Rombaut N, Sicaire A, Muellemiestre A, Fabiano-Tixier A, dan AbertVian M. 2016. *Ultrasound Assisted Extraction* of food and natural products, mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Ultrasonics – Sonochemistry*: 34.
- Chemat, F., & Khan, M. K. 2011. Ultrasonics Sonochemistry Applications Of Ultrasound In Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard - eleventh edition (11th ed., Vol. 32, Issue 1). Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://doi.org/M02-A11>
- Das, A. K., Islam, Md. N., Faruk, Md. O., Ashaduzzaman, Md., & Dungani, R. 2020. Review On Tannins: Extraction Processes, Applications And Possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 58–70. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008>
- Davis, W.W. and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotik Assay. *Microbiology*.
- Dewi D, & FajrinFA. 2015. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak air kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*L.) pada tikus dengan metode induksi aloksan. *Journal Of Pharmaceutical Science And Pharmacy Practice*. 2:(1)
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1981. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Dontha, S. 2016. A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14–32.
- Etikasari R, Muharyanti R, dan Wiguna AS. 2017. Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak *Sarchophyton* sp. Sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 2(1): 28–36.
- Fatisa, Y. 2013. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* secara in vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31–38.
- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. 2022. Influence of The Extraction Method on The Recovery of

Bioactive Phenolic Compounds from Food Industry By-Products. *Food Chemistry*, 378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>

- Indarto, Narulita W, Anggoro BS, & Novitasari A. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap *Propionibacterium acnes*. *BIOSFER: Jurnal Tadris Biologi*. 10(1): 67-78.
- Jawetz, dkk. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta. Salemba medika
- Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 327-335, 362-363, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Jizah, A. 2004. "Sensitivitas *Salmonella Typhimurium*" Terhadap Ekstrak Daun *Psidium GuajavaL*", *Bioscientiae*, Vol.1, No.1, Hal 31-38
- Khadhraoui B dan Fabiano-Tixier A. 2019. Ultrasound technology for food processing, preservation, and extraction. *Green Food Processing Techniques: Preservation, Transformation and Extraction*: 23-56.
- Khusuma A, Safitri Y, Yuniarni A dan Rizki K. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*. 13(2): 151-155.
- Kumar, N., & Goel, N. 2019. Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Kumari, Upadhayay, Andhare, & Prajapati. 2021. Microbial Secondary Metabolites. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 10(4), 488–496. <https://doi.org/10.31032/ijbpas/2021/10.4.1056>
- Lai-Cheong, J. E., & Mcgrath, J. A. 2017. Structure And Function Of Skin, Hair And Nails. *Medicine (United Kingdom)*, 45(6), 347–351. <https://doi.org/10.1016/J.Mpmed.2017.03.004>
- Lestari, R. T., Slamet, Wirasti, & Waznah, U. 2021. Penentuan total fenolik, uji antioksidan, dan uji antibakteri pada ekstrak etanol jantung pisang ambon (*Musa acuminata Colla*). *Prosiding Seminar Kesehatan Nasional Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan*, 921–927.
- Limbong EP. 2019. antibacterial activity test of ethanol extract of red spinach leaves (*Althernanthera strigosa Hask.*) against *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* . *International Journal of Basic and Applied Science*. 8(3): 101-107.

- Lin, J., Lin, D., Xu, P., Zhang, T., Ou, Q., Bai, C., & Yao, Z. 2016. Non-hospital environment contamination with *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: proportion meta-analysis and features of antibiotic resistance and molecular genetics. *Environmental Research*, 150.
- Lio, Tiara M.P, dkk. 2020. uji daya hambat ekstrak daun bayam merah (*amaranthus tricolor* l) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab diare *staphylococcus aureus* dan salmonella typhimurium
- Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998. Aug 20;339(8):520-32.
- Miller, J.N. and Miller, J.C. (2010) *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6th Edition, Pearson Education Ltd., Harlow
- Nurhayati LS, Yahdiyani N, dan Hidayatulloh A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2): 41–46.
- Nurwaini, S., Sofiana, Y.R., Noor, I.R., & Rahayu, V. 2006. Uji Aktivitas Antiradikal Ekstrak Herba Cakar Ayam (*Selaginella doederleinii* Hieron), Herba Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L) Decne) dan Daun *Eugenia uni* □ ora Linn Sebagai Sumber Alternatif Pencegahan Penyakit Degenatif, Laporan PKMP. 2 (18). 1-11.
- Oroh, S. B., Kandou, F. E. F., Pelealu, J. dan Pandiangan, D. 2015. Uji daya hambat ekstrak metanol *Selaginella delicatula* dan *Diplazium dilatatum* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* . *Jurnal Ilmiah Sains* 15(1): 52 – 58
- Parwata, A. O. M. I. 2016. *Antioksidan*. Bahan Ajar. Universitas Udayana. Bali
- Pebrianti CRB, Ainurrasyid & Sri LP. 2015. Test anthocyanin content and yield of six varieties red spinach (*Alternanthera Amoena* Voss) in the rainy season. *Jurnal Produksi Tanaman*.3(1):27 –33.
- Pelezar, M.J. dan E.S.C. Chan. 1988. *Dasar – dasar mikrobiologi*. Terjemahan Ratna S.H., Teja I, S. Sutamidani Sri C.A. UI Press. Jakarta
- Perumal, A., AlSalhi, M. S., Kanakarajan, S., Devanesan, S., Selvaraj, R., & Tamizhazhagan, V. 2021. Phytochemical evaluation and anticancer activity of rambutan (*Nephelium lappaceum*) fruit endocarp extracts against human hepatocellular carcinoma (HepG-2) cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1816–1825. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.027>

- Puteri T dan Milanda T. 2021. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus*: Review. *Farmaka*, 14(2): 9–17.
- Putri, I.D. 2015. Pengaruh perasan akar bayam merah (*bilitum rubrum*) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* .um surabaya.
- Radji, M. 2011. Mikrobiologi. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 107, 118, 201-207, 295, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Rahman, N. F., Nursamsiar, Megawati, Handayani, & Soares, C. A. M. 2021. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of kembang bulan leaves (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1), 57–65. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.36900>
- Rasheed, N. A., Hussein, N. R., Region, K., Polytechnic, D., & Region, K. 2021. *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology , Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 08(03), 1160–1183.
- Rasigade JP, Vandenesch F. 2014. *Staphylococcus aureus*: a pathogen with still unresolved issues. *Infect Genet Evol*.
- Rizki F, 2013, *The Miracle of Vegetables*, Jakarta: Agromedia Pustaka
- Rizki, S., Latief, M., Fitriyaningsih, dan Rahman, H. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Dan Etanol Daun Durian (*Durio Zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococcus Epidermidis*. *JMJ*. 2(2): 442–457
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit*. Malang: CV. Seribu Bintang: 94.
- Rukmana, 1994, *Budidaya Kubis Bunga dan Brokoli*, Kanisius, Yogyakarta
- Rumaolat, W. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *2-Trik: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10(2), 93–97. <http://2trik.jurnalelektronik.com/index.php/2trik>
- Sampul, Mega P.K, dkk. 2015. Hubungan Diare. Dengan Kejadian Malnutrisi Pada Balita di Irina E Bawah Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. Program Studi Ilmu Keperawatan. Fakultas Kedokteran. Universitas Sam Ratulangi. *Ejournal Keperawatan (E-Kp)*. Volume 3.

- Shaikh, J., & Patil, M. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Sholihah, M., Ahmad, U., & Budiastra, I. W. 2017. Application Of Ultrasonic Wave to Increase Extraction Yield and Effectiveness of Antioxidant from Mangosteen Rind. *Jurnal Keteknikaan Pertanian*, 05(2), 1–11
- Soleha TU. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik Susceptibility Test of Antimicroba. *Juke Unila*. 5(9): 120–123.
- Swami, H. S. et al. 2008. Extraction Tecnologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International Center Fpr Science and High Technology*.
- Tiwari, B. K. 2015. Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 71, pp. 100–109). Elsevier B.V.
- Torres, N. M., Talavera, T. A., Andrews, H. E., Contreras, A. S., & Pacheco, N. 2017. *Ultrasound Assisted Extraction* for The Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Utomo, Fujiyanti M, Lestari WP, & Mulyani S. 2018. Uji aktivitas antibakteri senyawa C-4-metoksifenilkaliks[4]resorsinarena Termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* . *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*. 3(3): 201-209.
- Wang, S., Alseekh, S., Fernie, A. R., & Luo, J. 2019. The Structure and Function of Major Plant Metabolite Modifications. *Molecular Plant*, 12(7), 899–919. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.06.001>
- Wisma Kayani, Mades Fifendy, Rizki. 2013. Daya Hambat Infusa Daun Bayam Ungu (*Alternanthera Brasiliana* Kuntze.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* . *STKIP PGRI; Sumatera Barat*.
- Yudiono, K. 2011. Ekstraksi Antosianin Dari Ubijalar Ungu (*Ipomoea batatas* Cv. Ayamurasaki) Dengan Teknik Ekstraksi Subcritical Water. *Teknologi Pangan : Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 2(1). <https://doi.org/10.35891/tp.v2i1.479>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. 2018. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>