

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

Pramestiamurti Kurnia Dewi

19133743A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

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

Oleh:

Pramestiamurti Kurnia Dewi

19133743A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh
Pramestiamurti Kurnia Dewi
19133743A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 8 Juni 2017

Mengetahui,

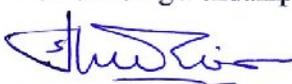
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Delegasi



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

Pembimbing,


Fransiska Leviana, M.Sc., Apt
Pembimbing Pendamping,


Dra. Kartinah W., SU

Penguji :

1. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt
2. Dr. Ana Indrayati, M.Si
3. Reslely Harjanti, S.Farm., M.Sc., Apt
4. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt

1.

3.

4.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 8 Juni 2017



Pramestiamurti Kurnia Dewi

PERSEMBAHAN

*“Jika sore tiba, janganlah tunggu waktu pagi,
jika pagi tiba, janganlah tunggu waktu sore.
Manfaatkan masa sehatmu sebelum masa sakitmu dan
Manfaatkan masa hidupmu sebelum tiba ajalmu”*
(Umar bin Khattab)

*“Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu
Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah
Bacalah, dan Tuhanmulah yang maha mulia
Yang mengajar manusia dengan pena,
Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya”*
(QS: Al-‘Alaq 1-5)

*“Berusahalah untuk tidak menjadi manusia yang berhasil
tapi berusahalah menjadi manusia
yang berguna”*
(Einstein)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

*Allah SWT yang telah memberikan petunjuknya dan kemudahan kepada saya
Bapak, Ibu, Kakak, dan keluarga tercinta yang telah menjadi motivasi utama dalam
meraih masa depan yang lebih baik dan selalu memberikan yang terbaik demi
keberhasilanku.*

*Sahabat-sahabatku (Yasri, Epifania, Dita, Erly, Dyas, Irwan, Hidayah, dan Bella) yang
telah menemani hari-hariku berbagi canda tawa dan kebersamaan yang tak terlupakan
Tim skripsiku (Yasri dan Tata), terimakasih atas kesabarannya dalam membantu proses
penelitianku dan kerja samanya*

*Teman-teman seperjuangan 2013 di fakultas farmasi, teori 1, praktikum B, teori I yang
terus semangat menggapai cita-cita dan almamaterku*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirohim, puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala nikmat, karunia dan hidayahNya selama ini. Semoga doa, shalawat tercurah kepada junjungan dan suri tauladan kita Nabi Muhammad SAW, keluarganya dan sahabat serta siapa saja yang mendapat petunjuk hingga hari kiamat, Amin.

Alhamdulillahirobbil'alamin, dengan segala rahmatnya akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan farmasi (S.farm) di fakultas farmasi Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari sepenuhnya dengan segala keterbatasan dan tanpa dukungan, bantuan, bimbingan dari berbagai pihak yang bersangkutan, mungkin skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik. Maka dari itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta dan selaku penguji yang telah memberikan dukungan, koreksi sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungam, masukan dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W.,SU., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungam, masukan dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Dosen penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam menyempurnakan skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan kakak-kakakku tercinta yang telah memberikan kasih sayang dan doa tiada hentinya, serta dukungan baik moral, spiritual dan material sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh sahabat, teman-teman seperjuangan S1 farmasi angkatan 2013, dosen, staf perpustakaan, dan staf laboratorium di Universitas Setia Budi.

8. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan segala yang telah kalian berikan kepada penulis. Akhir kata penulis berharap mudah-mudahan skripsi dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan pembaca.

Surakarta, 8 Juni 2017



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB IPENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB IITINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Daun Cabai Rawit	4
1. Sistematika tanaman	4
2. Nama lain	4
3. Deskripsi tanaman.....	5
4. Kandungan kimia.....	5
B. Simplisia	5
1. Pengertian simplisia	5
2. Pengeringan simplisia	6
C. Ekstraksi.....	6
1. Pengertian ekstraksi	6
2. Metode maserasi	6
3. Fraksinasi	7
4. Pelarut	7
4.1. Etanol	7
4.2. <i>n</i> -Heksana	7
4.3. Etil asetat	8
4.4. Air	8
D. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2. Morfologi dan identifikasi.....	9
3. Patogenesis	10
E. Antibakteri.....	10
1. Definisi antibakteri	10
2. Mekanisme kerja antibakteri	11
F. Uji aktivitas antibakteri.....	13
1. Metode difusi	13
2. Metode dilusi	14
G. Media	14
1. Pengertian media	14
2. Macam-macam media	14
H. Sterilisasi	15

I. Amoxicillin	15
J. Landasan teori	16
K. Hipotesis.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
A. Populasi dan Sampel.....	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi Variabel Utama	19
2. Klasifikasi Variable Utama	19
3. Definisi Operasional Variabel Utama	20
C. Bahan dan Alat	21
1. Bahan	21
2. Alat.....	21
D. Jalannya Penelitian	21
1. Determinasi tanaman	21
2. Pengambilan sampel	21
3. Pembuatan serbuk daun cabai rawit.....	22
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit	22
5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabai rawit	22
6. Penetapan persen rendemen	22
7. Penetapan kadar air ekstrak etanol daun cabai rawit	23
8. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit	23
9. Fraksinasi ekstrak daun cabai rawit.....	23
10. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit.....	23
9.1. Identifikasi saponin	24
9.2. Identifikasi flavonoid	24
9.3. Identifikasi tanin	24
9.4. Identifikasi alkaloid.....	24
11. Sterilisasi	24
12. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	24
13. Identifikasi bakteri uji	25
12.1. Identifikasi berdasarkan koloni.....	25
12.2. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	25
12.3. Identifikasi biokimia	26
14. Pengujian antibakteri daun cabai rawit secara difusi.....	26
15. Pengujian antibakteri daun cabai rawit secara dilusi	27
16. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara kualitatif ..	28
15.1. Identifikasi saponin	28
15.2. Identifikasi flavonoid	28
15.3. Identifikasi tanin	28
15.4. Identifikasi alkaloid.....	28
17. Skema jalannya penelitian.....	29
E. Analisa Data	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
A. Determinasi tanaman	35
B. Pengambilan sampel	35
C. Pembuatan serbuk daun cabai rawit.....	35
D. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit	36
E. Pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit	36
F. Penetapan kadar air ekstrak etanol daun cabai rawit	37
G. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit	37

H. Fraksinasi ekstrak daun cabai rawit.....	37
I. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk daun cabai rawit .	38
J . Pembuatan suspensi bakteri uji.....	39
K. Identifikasi bakteri uji.....	39
1. Identifikasi berdasarkan koloni.....	39
2. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	39
3. Identifikasi biokimia	40
L. Pengujian antibakteri daun cabai rawit secara difusi.....	40
M. Pengujian antibakteri daun cabai rawit secara dilusi.....	43
N. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara kualitatif.....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	4
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit secara remaserasi.	29
Gambar 3. Skema pembuatan fraksi daun cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).	30
Gambar 4. Sketsa kerja pembuatan suspensi bakteri	31
Gambar 5. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun cabai rawit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2593 dengan metode difusi	32
Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak atau fraksi daun cabai rawit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi..	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit	35
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit dengan menggunakan alat <i>Moisture Balance</i>	36
Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun cabai rawit	36
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun cabai rawit dengan menggunakan alat <i>Sterling Bidwell</i>	37
Tabel 5. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit	37
Tabel 6. Hasil fraksinasi dan rendemen dari ekstrak etanol daun cabai rawit	38
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia daun cabai rawit	38
Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	41
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat dengan metode dilusi	43
Tabel 10. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara kualitatif	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi daun cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	51
Lampiran 2. Daun cabai rawit basah, daun cabai rawit kering, dan serbuk daun cabai rawit.....	52
Lampiran 3. Gambar inkas, <i>Sterling Bidwell</i> , evaporator, autoklaf, fraksinasi, dan <i>Moisture Balance</i>	53
Lampiran 4. Gambar oven, inkubator, timbangan analitik, dan ayakan mesh 40.....	54
Lampiran 5. Gambar hasil ekstrak, feaksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air	55
Lampiran 6. Identifikasi kandungan kimia daun cabai rawit	56
Lampiran 7. Gambar hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	57
Lampiran 8. Diameter daya hambat uji aktivitas antibakteri daun cabai rawit secara difusi replikasi I, II, dan III	59
Lampiran 9. Hasil uji dilusi fraksi teraktif etil asetat	62
Lampiran 10. Hasil pembuatan serbukdaun cabai rawit.....	64
Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit	65
Lampiran 12. Perhitungan penetapan kadar air daun cabai rawit	66
Lampiran 13. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit	67
Lampiran 14. Hasil fraksinasi	68
Lampiran 15. Perhitungan dosis Amoxicillin dan konsentrasi DMSO 5%	69
Lampiran 16. Pembuatan larutan stok difusi	70
Lampiran 17. Perhitungan konsentrasi fraksi teraktif uji dilusi	72
Lampiran 18. Hasil analisis data.....	74
Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media	84

INTISARI

DEWI, P.K., 2017, AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Serbuk daun cabai rawit diremaserasi dengan pelarut etanol 70% kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi ekstrak etanolik dan fraksi yang digunakan 50%; 25%; 12,5% untuk difusi serta 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098% untuk dilusi. Difusi digunakan untuk menentukan zona hambat dan dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Analisis statistik menggunakan ANOVA one way guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil uji difusi menunjukkan fraksi etil asetat daun cabai rawit memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, dan air. Hasil uji dilusi menunjukkan fraksi etil asetat daun cabai rawit memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 6,25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci : *Capsicum frutescens* L., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, difusi, dilusi, fraksi.

ABSTRACT

DEWI, P.K., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOLIK EXTRACT, FRACTION *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER OF LEAVES CAYENNE PEPPER (*Capsicum frutescens* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Leaves cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) contain of flavonoid, alkaloid, saponin, and tannin that have antibacterial activity. The aim of this experiment is to know about the activity of ethanolic extract, *n*-hexane, ethyl acetate, and water fraction of leaves cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L) as an antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Fines of leaves cayenne pepper was remaserated using 70% ethanol then fractinate with *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Antibacterial activity test was done using diffusion and dilution method. The concentration of ethanol extract and fraction was 50%; 25%; 12,5% for diffusion and 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098% for dilution. Diffusion is used to determine the inhibitory zones and dilution used to determine the Minimum Inhibitory Concentration and the Minimum Killed Concentration. Statistical analysis using ANOVA *one way* in order to find out whether are significant differences between the test preparations.

Diffusion result shows that ethyl acetate fraction of leaves cayenne pepper has the best antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compare to ethanolic extract, *n*-hexane, and water fraction. Dilution result also shows that minimum killed concentration of ethyl acetate fraction of leaves cayenne pepper was 6,25% to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Key words : *Capsicum frutescens* L., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, diffusion, dilution, fraction.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Infeksi merupakan suatu keadaan dimana masuknya mikroorganisme kedalam tubuh. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, dan virus (Jawetz *et al.* 2007). Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya atau dibunuh dengan proses fisik (misalnya dengan pemanasan) atau bahan kimia (misalnya dengan antibiotik) (Hastari 2012). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan perkembangan bakteri-bakteri kebal terhadap obat (Green 2005).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri potensial patogen yang ada pada tubuh. Pengendalian bakteri patogen penting dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, serta membasmi bakteri patogen pada inang yang terinfeksi. *Staphylococcus aureus* banyak ditemukan pada kulit, mulut, dan saluran pernafasan bagian atas. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi pada folikel rambut, bisul, infeksi pada luka, meningitis, dan pneumonia (Entjang 2003).

Peningkatan jumlah bakteri yang resisten terhadap antibiotik merupakan suatu permasalahan. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif lain, misalnya dengan memanfaatkan tanaman-tanaman obat yang diduga efektif menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit (Prawira 2013). Tanaman yang tumbuh di Indonesia banyak memiliki manfaat bagi kesehatan manusia salah satunya untuk meredakan panas, mengobati luka, menurunkan tekanan darah, dan mencegah penyakit jantung (Wijayakusuma *et al* 1992).

Salah satu dari tanaman tersebut adalah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Tanaman cabai rawit merupakan tanaman yang mudah dicari dan dapat dibudidayakan. Hal ini memudahkan proses penelitian yang terkadang membutuhkan simplisia dalam jumlah banyak (Yunita 2012). Buah cabai rawit mengandung zat-zat gizi yang cukup lengkap, yakni kalori, protein, lemak,

karbohidrat, mineral (kalsium, fosfor, besi), vitamin, dan zat-zat lain yang berkhasiat obat, misalnya bioflavonoid, minyak atsiri, karotenoid (Dalimarta 2002).

Hasil penelitian sebelumnya membuktikan adanya senyawa flavonoid dan glikon pada daun cabai rawit (Yunita 2012). Penelitian Yunita (2012) kemudian dilanjutkan oleh Rahim *et al* (2014) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode maserasi merupakan metode pengekstraksian serbuk simplisia dengan cara digojog beberapa kali dalam cairan penyari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan (Depkes 1986). Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang satu dengan golongan utama yang lainnya berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa yang bersifat nonpolar akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Senyawa-senyawa yang bersifat semi polar akan terlarut dalam pelarut semi polar (Harborne 2006).

Metode difusi merupakan metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode difusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah suatu sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Prinsip dari metode ini adalah dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi. Hasil yang diperoleh pada media ini adalah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

Berdasarkan latar belakang di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat maupun daya bunuh terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dan pertimbangan diatas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabai rawit mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, manakah dari ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabai rawit yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak atau fraksi teraktif dari daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui mana yang paling aktif antara ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak atau fraksi teraktif dari daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu mengungkap lebih lanjut khasiat daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) sebagai antibakteri. Hasil dari penelitian ini juga dapat digunakan sebagai masukan berbagai pihak dalam mengembangkan obat-obat alam serta dapat memberikan landasan ilmiah bagi penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Cabai Rawit

1. Sistematika tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Sistematika tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) menurut Warisno&Dahana (2010) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida (Dicotyledoneae)
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum frutescens</i> L.
Sinonim	: <i>Capsicum fastigiantum</i> Blume.



Gambar 1. Tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) diambil dari Yunita (2012).

2. Nama lain tanaman cabai rawit

Di Indonesia *Capsicum frutescens* L. dikenal dengan nama cabai rawit. *Capsicum frutescens* L. dikenal dengan nama daerah leudeuaarum (Sumatra), lombok rawit (Jawa), cabai cengek (Sunda), cabhi letek (Madura), lada marica (Makasar), dan berbagai nama daerah lainnya (Dalimartha 2002).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman cabai rawit berupa tanaman perdu setinggi 50 cm sampai 150 cm, batang tumbuh tegak dan berkayu pada pangkalnya. Daun berbentuk bundar telur sampai lonjong atau bundar telur meruncing. Struktur bunga mempunyai 5-6 helai mahkota bunga, 5 helai daun bunga, 1 putik dengan kepala putik berbentuk bulat, 5-8 helai benang sari dengan kepala sari berbentuk lonjong dan berwarna biru keunguan. Buah muda berwarna hijau tua putih kehijauan dan putih, apabila masak berwarna merah terang. Daging buah umumnya lunak dan rasanya sangat pedas. Buah memiliki panjang 1-5 cm, dengan diameter 0,5-1,5 cm, tergantung jenisnya. Cabai rawit diperbanyak dengan biji (Rukmana 2002).

4. Kandungan kimia

Daun cabai rawit mengandung flavonoid dan glikon. Bagian buah mengandung vitamin C, alanin, asam askorbat, beta karoten, asam kafeat, kampesterol, kapsaisin, kapsantin, hesperidin, histidin, lutein, metionin, mirsen, asam miristat, asam p-kumarat, asam palmitat, asam pentadekanat, kuersetin, skopoletin, stigmasterol, terpinen-4-ol, tokoferol, triptofan. Bagian batang mengandung asam klorogenat. Bagian biji mengandung asam miristat dan asam palmitat (Yunita 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah suatu bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, pelican (mineral). Simplisia nabati ialah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Sedangkan simplisia pelican ialah simplisia yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1979).

2. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan simplisia ialah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan dibawah sinar matahari dan pengeringan teduh. Kelemahan pengeringan dibawah sinar matahari yaitu membutuhkan suhu dan kelembaban yang tidak terkontrol, membutuhkan tempat yang luas dan terbuka sehingga kemungkinan terjadi kontaminasi mikrob lebih besar. Pengeringan ditempat teduh biasanya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang sifatnya termolabil (Depkes 1985).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah perpindahan zat aktif yang semula berada didalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari (Depkes 1986). Larutan yang baik harus memenuhi beberapa kriteria, seperti murah, mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan (Depkes 1986).

2. Metode maserasi

Maserasi adalah cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, atau pelarut lainnya. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia ditambahkan dengan 75 bagian penyari. Maserasi dilakukan selama 5 hari dan terlindungi dari cahaya serta sesekali dikocok. Sari disaring selama 5 hari, kemudian ampasnya diperas. Ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya lalu diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup dan dibiarkan selama 2 hari, lalu endapan dipisahkan (Depkes 1986).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang satu dengan golongan utama yang lainnya berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Senyawa yang bersifat polar seperti glikosida jantung, glikosida flavonoid, glikosida saponin, dan tanin akan terlarut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa yang bersifat nonpolar seperti *n*-butanol, metanol, etanol, asam asetat, isopropanol, *n*-propanol, asam format, dan air akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Senyawa-senyawa yang bersifat semi polar seperti alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, asam fenolat akan terlarut dalam pelarut semi polar. Yang termasuk pelarut semi polar yaitu etil asetat, dan aseton. Sedangkan yang termasuk pelarut nonpolar yaitu *n*-heksana, kloroform, karbon tetraklorida, dan dietil eter. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian semipolar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harbone 2006).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif serta yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989).

4.1. Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986). Etanol dapat menghambat kerja enzim dan dapat memperbaiki stabilitas bahan aktif yang optimal serta tidak menyebabkan pembengkakan sel sehingga hanya sedikit bahan pengotor yang turut serta dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

4.2. *n*-Heksana. *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar, berupa cairan jernih, mudah menguap, bau seperti eter atau petroleum. Praktis, tidak larut air,

larut dalam etanol, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzen, dan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang dapat larut dalam *n*-heksana yaitu senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar seperti lemak, steroid, triterpenoid, sterol, fenil propanoid (Depkes 1987).

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semipolar, mudah terbakar dan menguap, berupa cairan jernih, tidak berwarna, memiliki bau yang khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan eter, etanol, dan kloroform (Depkes 1986). Etil asetat juga dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti asam fenolat, fenol-fenol, fenil propanoid, antrakuinon, dan xanton (Harborne 2006).

4.4. Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut yang stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah yang tertutup rapat serta terhindar dari panas, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Senyawa-senyawa yang dapat larut dalam air yaitu saponin, flavonoid, dan tanin (Depkes 1986).

D. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Diberi nama *Staphylococcus* karena bakteri ini pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan karena pada biakan murni. Koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Lowy 2003). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan jika diamati dibawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (Radji 2011).

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut Brooks *et al.* 2005, sistematika *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetes
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan identifikasi

Sel *Staphylococcus* adalah bakteri Gram positif, non motil, tidak membentuk spora, berbentuk sferis berdiameter sekitar 1 μm dan membentuk formasi cluster ireguler. Pada media cair, bakteri ini dapat membentuk formasi sel tunggal, berpasangan, tetrad dan rantai. *Staphylococcus* mudah tumbuh dalam berbagai media pada kondisi aerobik dan suhu 37°C. Apabila ingin mendapatkan koloni yang berpigmen maka paling baik ditumbuhkan pada suhu 20-25°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, permukaannya menonjol, halus dan sedikit berkilauan. *Staphylococcus aureus* umumnya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan. Mudah tumbuh dalam berbagai media, memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen berwarna putih hingga kuning tua (keemasan). Sebagian merupakan bagian dari flora normal kulit dan mukosa yang jika dalam keadaan inang yang lemah imunitasnya dapat menimbulkan infeksi oportunistik berupa radang supuratif, abses, dan septikemia yang fatal. *Staphylococcus* yang patogen mampu menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma, dan memproduksi berbagai enzim serta toksin. Genus *heat-stable* staphylococcal enterotoxin dapat menyebabkan keracunan makanan (*food poisoning*). Genus ini cepat membentuk galur yang resisten terhadap berbagai antimikroba dan menjadi sulit diobati (Yuwono 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti jerawat dan bisul; infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, meningitis, flebitis, dan mastitis; dan infeksi pada saluran urine. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosocomial akibat luka akibat operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit (Radji 2011).

Staphylococcus aureus mampu menimbulkan penyakit karena kemampuannya bermultiplikasi dan menyebar ke berbagai jaringan, memproduksi substansi ekstraseluler berupa enzim dan toksin. Toksin tersebut sebagian disandi oleh gen-gen di plasmid dan sebagian oleh gen-gen di kromosom. Katalase adalah enzim yang mampu mengkonversi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* (katalase positif) dengan *Streptococcus* (katalase negatif). *Staphylococcus aureus* memproduksi enzim koagulase yang dapat menggumpalkan oksalat atau plasma sitrat. Koagulase berikatan dengan protrombin, akan bekerja secara enzimatik memulai polimerisasi fibrin yang akan menutupi di permukaan *Staphylococcus* sehingga selamat dari sel-sel fagosit. Oleh karena itu, galur yang memproduksi koagulase dianggap sebagai galur yang berpotensi menginvasi jaringan. *Clumping faktor* adalah zat pada permukaan *Staphylococcus aureus* yang berperan pada proses adhesi dengan fibrinogen dan fibrin. Bila dicampur dengan plasma maka *Staphylococcus aureus* akan membentuk *clumps*. *Clumping faktor* berbeda dengan koagulase. Enzim lainnya adalah lipase, β -laktamase dan hyaluronidase atau spreading factor (Yuwono 2012).

E. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri merupakan suatu bahan atau senyawa yang pada umumnya dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya yang bersifat patogen pada manusia (Radji 2011). Ada beberapa istilah yang digunakan dalam

proses pembunuhan bakteri diantaranya bakterisid, bakteristatik, germisid, antiseptik, dan desinfektan (Dianasari 2009).

Bakterisid merupakan suatu bahan yang digunakan dalam membunuh bentuk vegetatif dari bakteri. Bakteristatik yaitu suatu bahan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa mematikan bakteri. Germisid merupakan suatu bahan yang mampu membasmi mikroorganisme dengan cara mematikan sel vegetatif tetapi tidak selalu mematikan bentuk spora bakteri. Antiseptik yaitu suatu bahan yang dapat mematikan mikroorganisme dengan menghambat aktivitas metabolisme pada bakteri tersebut. Desinfektan merupakan suatu bahan yang dapat membasmi bakteri patogen yang belum tentu dapat membasmi spora dan digunakan pada benda mati (Pelczar&Chan 1986).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri dibagi menjadi lima kelompok yaitu menghambat metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba, dan merusak asam nukleat sel mikroba (Ganiswara 2005).

2.1. Menghambat metabolisme sel bakteri. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini ialah sulfonamid, trimetropin, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kehidupannya dan harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya, berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon memang bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, membentuk analog asam folat yang nonfungsional, yang berakibat kehidupan mikroba akan terganggu (Akhyar 2010).

2.2. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis sel dinding diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir

(transpeptidase) dalam rangkaian reaksi tersebut. Tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Akhyar 2010).

2.3. Menghambat keutuhan membran sel bakteri. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik, umpamanya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuatener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polimiksin tidak efektif terhadap kuman Gram-positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat dalam membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan (*surface active agents*) dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Akhyar 2010).

2.4. Menghambat sintesis protein sel bakteri. Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA, pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S, berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Linkomisin berikatan dengan komponen ribosom 50S dan menghambat sintesis protein. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan dibentuk protein yang abnormal dan non fungsional pada sel bakteri. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan

menghambat peningkatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase (Akhyar 2010).

2.5. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Obat digunakan sebagai antivirus rifampisin, salah satu derivat rifampisin, berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel kuman yang kecil (Akhyar 2010).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat dilakukan untuk mengetahui apakah suatu zat tersebut memiliki aktivitas yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Ada dua metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

1. Metode difusi. Metode difusi merupakan metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran, dan metode cakram kertas/*disc diffusion*. Metode sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba. Kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah itu dinkubasi, lalu pertumbuhan mikroba diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmayati & Agustini 2007). Metode difusi yang sering digunakan adalah *disk diffusion* yaitu dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram (disk) yang telah dijenuhkan dengan larutan uji pada konsentrasi tertentu kemudian diletakkan pada pembenihan padat yang sudah ditanami dengan biakan bakteri dan dilakukan pemeriksaan setelah pengeraman. Luas daerah hambat jernih obat sekitar cakram dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan obat terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al* 2007).

2. Metode dilusi. Terdapat 2 macam metode dilusi yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Prinsip dari metode ini adalah dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri dalam media, sedangkan pada dilusi padat, masing-masing konsentrasi zat uji dicampur media agar, lalu ditanami bakteri. Hasil yang diperoleh pada media ini adalah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

G. Media

1. Pengertian media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk mengembang biakkan dan membunuh mikroba. Media untuk suatu penelitian harus dalam keadaan steril, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media harus memenuhi suatu persyaratan tertentu agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba (Suriawira 2005).

2. Macam-macam bentuk media

Ada tiga jenis bentuk media yaitu media padat, media cair, dan media semi padat atau semi cair.

Pertama, media padat. Media ini pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroalga. Bahan media padat ditambahkan antara 12-15 g tepung agar-agar per 1000 ml media.

Kedua, media cair. Media ini biasanya digunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi. Pada media cair ini tidak ditambahkan zat pematat.

Ketiga, media semi padat atau semi cair. Penambahan zat pematat dalam media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Suriawira 2005).

H. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses membuat alat, bahan dan media, menjadi steril, dimana steril merupakan suatu keadaan zat bebas dari mikroba hidup, baik yang patogen maupun non patogen, baik dalam bentuk vegetatif maupun non vegetatif (bentuk spora) (Darmandi 2008). Cara sterilisasi yang umum digunakan adalah sterilisasi secara fisik, misalnya dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar gamma, dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia, misal dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik, misal dengan penggunaan saringan atau filter (Suriawira 2005).

I. Amoxicillin

Amoxicillin merupakan salah satu jenis antibiotik penisilin yang digunakan untuk mengatasi berbagai jenis infeksi. Misalnya, amoxicillin digunakan untuk mengobati infeksi pada saluran pernapasan, saluran kemih, dan telinga. Selalu konsultasikan dengan dokter sebelum mengonsumsi amoxicillin.

Amoxicillin hanya berfungsi untuk mengobati infeksi bakteri dan tidak berdampak pada infeksi virus. Mekanisme kerja dari amoxicillin adalah menghambat pembentukan dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih protein mengikat penisilin PBP (*Penicillin-binding-protein*) yang pada gilirannya menghambat proses akhir transpeptidasi, sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga menghambat biosintesis dinding sel. Bakteri akhirnya lisis akibat aktivitas enzim autolitik dinding sel yang sedang berlangsung (*autolysins dan murein hidrolase*) sementara perakitan dinding sel dihambat. Untuk dosis dan lama konsumsi amoxicillin tergantung dari infeksi yang terjadi, tingkat keparahannya, dan respons tubuh. Umumnya dosis amoxicillin per hari berkisar antara 500-1500 mg untuk 7-14 hari. Khusus untuk infeksi gonore, 3 gram amoxicillin hanya perlu diminum sekali. Bagi anak-anak, dosis juga akan berdasarkan berat badan. Penggunaan amoxicillin sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri (Goodman & Gilman 2008)

J. Landasan Teori

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, dan virus (Jawetz *et al.* 2007). Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya atau dibunuh dengan proses fisik (misalnya dengan pemanasan) atau bahan kimia (misalnya dengan antibiotik) (Hastari 2012). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan perkembangan bakteri-bakteri kebal terhadap obat (Green 2005).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dan jika diamati dibawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (Radji 2011). Mudah tumbuh dalam berbagai media, memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen berwarna putih hingga kuning tua (keemasan). Sebagian merupakan bagian dari flora normal kulit dan mukosa yang jika dalam keadaan inang yang lemah imunitasnya dapat menimbulkan infeksi oportunistik berupa radang supuratif, abses, dan septikemia yang fatal (Yuwono 2012). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti jerawat dan bisul; infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, meningitis, flebitis, mastitis, dan infeksi pada saluran urine (Radji 2011).

Tanaman cabe rawit merupakan tanaman yang mudah dicari dan dapat dibudidayakan. Penelitian Yunita (2012) mengidentifikasi adanya kandungan flavonoid dan glikon pada daun cabai rawit. Penelitian Yunita (2012) kemudian dilanjutkan oleh Rahim *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak daun cabai rawit diperoleh dengan menggunakan metode maserasi yang merupakan penyarian sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam larutan penyari. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut (Depkes 1986). Etanol dapat menghambat kerja enzim dan dapat memperbaiki stabilitas bahan aktif yang

optimal serta tidak menyebabkan pembengkakan sel sehingga hanya sedikit bahan pengotor yang turut serta dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

Fraaksinasi adalah suatu metode pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang satu dengan golongan utama yang lainnya berdasarkan kepolaran suatu senyawa. *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar, tidak larut air, larut dalam etanol, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzen, dan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri (Depkes 1987). Etil asetat merupakan pelarut semipolar (Depkes 1986). Etil asetat melarutkan flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, dan xanton (Harborne 2006). Air adalah pelarut polar yang digunakan untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar misalnya tanin dan saponin.

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran, dan metode cakram kertas/*disc diffusion*. Metode dilusi adalah metode yang dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi. Hasil yang diperoleh pada media ini adalah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, hasil ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabai rawit mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun cabai rawit mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dapat ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari CV Multi Global Agrindo, Salam, Karangpandan, Karanganyar pada bulan Januari 2017.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) diambil secara acak, dipilih daun yang muda, bersih, segar, dan bebas dari penyakit, yang diperoleh dari CV Multi Global Agrindo, Salam, Karangpandan, Karanganyar pada bulan Januari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah serbukcabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang dibuat ekstrak dengan pelarut etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan *n*-heksana dan etil asetat.

Variabel utama yang kedua adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel menurut fungsinya dapat diklasifikasikan berdasarkan pola hubungan sebab akibat antara lain variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5%.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dipengaruhi oleh ekstraksi atau fraksinasi daun cabai rawit yang dilihat daridaya hambat dan daya bunuhnya.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium meliputi kondisi

inkas, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode ekstraksi.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) adalah daun yang berwarna hijau, tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua yang diperoleh dari CV Multi Global Agrindo, Salam, Karangpandan, Karanganyar.

Kedua, serbuk daun cabai rawit adalah daun cabai rawit yang diambil kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40⁰C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol 70% daun cabai rawit adalah hasil ekstraksi serbuk daun cabai rawit dengan pelarut etanol 70% secara remaserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah fraksi dari ekstrak etanol 70% daun cabai rawit yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar, kemudian dipekatkan dengan rotaevaporator sehingga didapat fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semipolar, kemudian dipekatkan dengan rotaevaporator sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah hasil fraksinasi dari residu etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar, kemudian dipekatkan dengan *waterbath*.

Ketujuh, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi untuk ekstrak dan fraksi dan metode dilusi untuk fraksi teraktif. Metode difusi yaitu mengukur luas daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri dengan kontrol negatif adalah DMSO 5% dan kontrol positif antibiotik amoxicillin. Metode dilusi yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi : 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098% dengan kontrol negatif larutan stok ekstraksi atau fraksi teraktif dan kontrol positif suspensi bakteri.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabai rawit, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 2593, medium VJA (*Vogel Jhonson Agar*), BHI (*Brain Heart Infusion*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), plasma darah, larutan kristal violet (Gram A), lugol iodine (Gram B), etanol 70% : aseton = 1:1 (Gram C), safranin (Gram D), minyak imersi, asam sitrat, larutan H₂O₂ 3%, *n*-heksana, etil asetat, aquadest steril, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH, serbuk magnesium, DMSO 5%, kalium tellurit 1%, Mc Farland 0,5, HCL 2N, sitroborat, xylen, larutan dragendrof.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven dengan suhu rendah dan konstan, alat penyerbuk, *moisture balance*, timbangan analitik, vacum rotary evaporator. Alat gelas lain yang digunakan seperti gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, alat *Sterling Bidwell*, cawan penguap, corong pisah, alat untuk uji kualitatif seperti tabung reaksi.

Alat uji aktivitas antibakteri digunakan adalah autoklaf, inkubator, inkas, jarum ose, tabung reaksi, oven, lampu spiritus, kapas lidi steril, cawan petri, cakram disk, beaker glass, pipet ukur, penggaris, mikropipet, dan pinset.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dengan acuan buku. Tanaman cabai rawit dideterminasi di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan sampel

Sampel daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) diambil secara acak, dengan memilih daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, bersih, segar,

dan bebas dari penyakit, yang diperoleh dari CV Multi Global Agrindo, Salam, Karangpandan, Karanganyar pada bulan Januari 2017.

3. Pembuatan serbuk daun cabai rawit

Daun cabai rawit yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir. Daun cabai rawit yang sudah bersih dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Simplisia yang telah kering dihaluskan kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sampai diperoleh serbuk daun cabai rawit.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit

Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) menggunakan alat *moisture balance*. Suhu atau temperatur diatur yaitu sebesar 105°C. Serbuk daun cabai rawit sebanyak ± 2 gram dimasukkan dalam piringan berlapis aluminium foil yang telah ditera terlebih dahulu. Kemudian ditunggu sampai alat berbunyi dan muncul angka % pada *display*, maka akan didapat persen susut pengeringan. Suatu serbuk simplisia dikatakan memenuhi syarat apabila suatu serbuk simplisia memiliki persen susut pengeringan tidak lebih dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabai rawit

Metode ekstraksi daun cabai rawit yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian sebelumnya yaitu remaserasi (Rahim *et al.* 2014). Sebanyak 2200 gram serbuk kering daun cabai rawit diekstraksi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:10, lalu direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara disaring dengan kain flanel.

Proses penyarian ini dilakukan sebanyak dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental (Depkes 2008).

6. Penetapan persen rendemen

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil dari ekstrak kemudian dibagi berat serbuk daun cabai rawit kering dan dikalikan 100%

$$\% \quad \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk daun cabai rawit ()}} \quad \text{L.}$$

7. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air ekstrak daun cabai rawit dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun cabai rawit 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai ekstrak terendam kemudian memasang alat *Sterling Bidwell*. Labu dipanaskan dengan hati-hati dengan api kecil, setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % b/v (Kementrian Kesehatan RI 2013).

8. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat. Selanjutnya ekstrak yang sudah ditambah asam asetat pekat dan asam sulfat pekat dipanaskan. Uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

9. Fraksinasi ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Fraksinasi dilakukan dengan cara 10 gram ekstrak daun cabai rawit dilarutkan dengan 10 mL etanol dan 65 mL air, kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksana 75 mL dengan diekstraksi cair-cair sebanyak 3x. Fase *n*-heksana ditampung dan fase air diekstraksi lebih lanjut dengan etil asetat 75 mL sebanyak 3x. Fase etil asetat dan residu air ditampung dalam wadah. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dalam vacum rotary evaporator lalu ditimbang.

10. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun cabai rawit.

10.1. Identifikasi saponin. Serbuk dan ekstrak etanol daun cabai rawitmasing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas sama banyak, didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).

10.2. Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak etanol daun cabai rawitmasing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ekstrak dilarutkan dalam 1-2 ml etanol panas. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan serbuk magnesium dan ditambahkan larutan alkohol : HCL (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini dan digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989).

10.3. Identifikasi tanin.Serbuk dan ekstrak etanol daun cabai rawitmasing-masing ditambah 10 ml air panas, kemudian dipanaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl₃ 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman (Robinson 1995).

10.4. Identifikasi alkaloid.Serbuk dan ekstrak etanol daun cabai rawit masing-masing ditambah dengan HCl 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dagendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1989).

11. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170°-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawira 2005).

12. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari biakan murni diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang

kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang dianggap sama dengan jumlah koloni $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ CFU/mL. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000 (Bonang & Koeswardono 1982).

13. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

13.1. Identifikasi bakteri menggunakan media selektif VJA. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi secara gores pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sudah ditambahkan kalium tellurite 1% sebanyak 3 tetes dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam dan adanya indikator phenol red menyebabkan warna medium sekitar koloni berwarna kuning. Warna hitam pada koloni disebabkan karena *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi tellurite menjadi metalik tellurite.

13.2. Identifikasi mikroskopis dengan cara pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol:aseton = 1:1), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara dibuat preparat ulas (*smear*) yang telah difiksasi, kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai. Diamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir, kemudian ditetesi Gram B. Didiamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian preparat dikeringkan. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

13.3. Identifikasi biokimia. Identifikasi secara biokimia ada dua macam yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan penambahan 2 tetes hydrogen peroksida 3%. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara disekitar koloni. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2007).

Uji koagulase dapat menggunakan plasma darah kelinci dan diberi asam sitrat yang telah diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-4 jam. Hasil positif jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007).

14. Pengujian aktivitas antibakteri daun cabe rawit secara difusi

Ekstrak etanol fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L) diuji secara mikrobiologi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Metode difusi dilakukan dengan cara kapas lidi steril dicelupkan pada suspensi bakteri lalu ditekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah. Kemudian kapas lidi dioleskan padapermukaan medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) hingga rata dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi kedalam media. Pada media tersebut ditanam 6 disk. Masing-masing disk kemudian ditetesi dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, amoxicillin sebagai kontrol positif, dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. DMSO digunakan karena DMSO merupakan suatu pelarut yang efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik maupun anorganik. Konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air masing-masing adalah 50%, 25%, dan 12,5%. Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air menggunakan pelarut DMSO 5%. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati hasilnya, lalu diukur diameter daya hambatnya dalam satuan milimeter (mm). Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia daun cabai rawit

memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali.

15. Pengujian aktivitas antibakteri daun cabe rawit secara dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis, kontrol (+), dan kontrol (-).

Metode dilusi dilakukan dengan bahan uji dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung reaksi yang digunakan sebagai kontrol negatif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098%. Dimasukkan 0,5 ml media BHI dari tabung 2 sampai tabung kontrol positif. Larutan stok bahan uji dimasukkan sebanyak 1 ml kedalam tabung kontrol (-), kemudian dari tabung 1 dan 2 dimasukkan 0,5 ml larutan stok. Dari tabung 2 diambil 0,5 ml dan dimasukkan kedalam tabung 3, dari tabung 3 diambil 0,5 ml dan masukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 10. Dari tabung 10 diambil 0,5 ml lalu dibuang. Suspensi bakteri dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dimasukkan kedalam tabung 1 sampai tabung kontrol positif sebanyak 0,5 ml. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan pada seri pengenceran sejumlah tabung, dimana tabung dengan kekeruhan terakhir merupakan KHM. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menggoreskan larutan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada medium *Vogel Jhonson Agar* (VJA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali.

16. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif daun cabai rawit

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada fraksi teraktif daun cabai rawit.

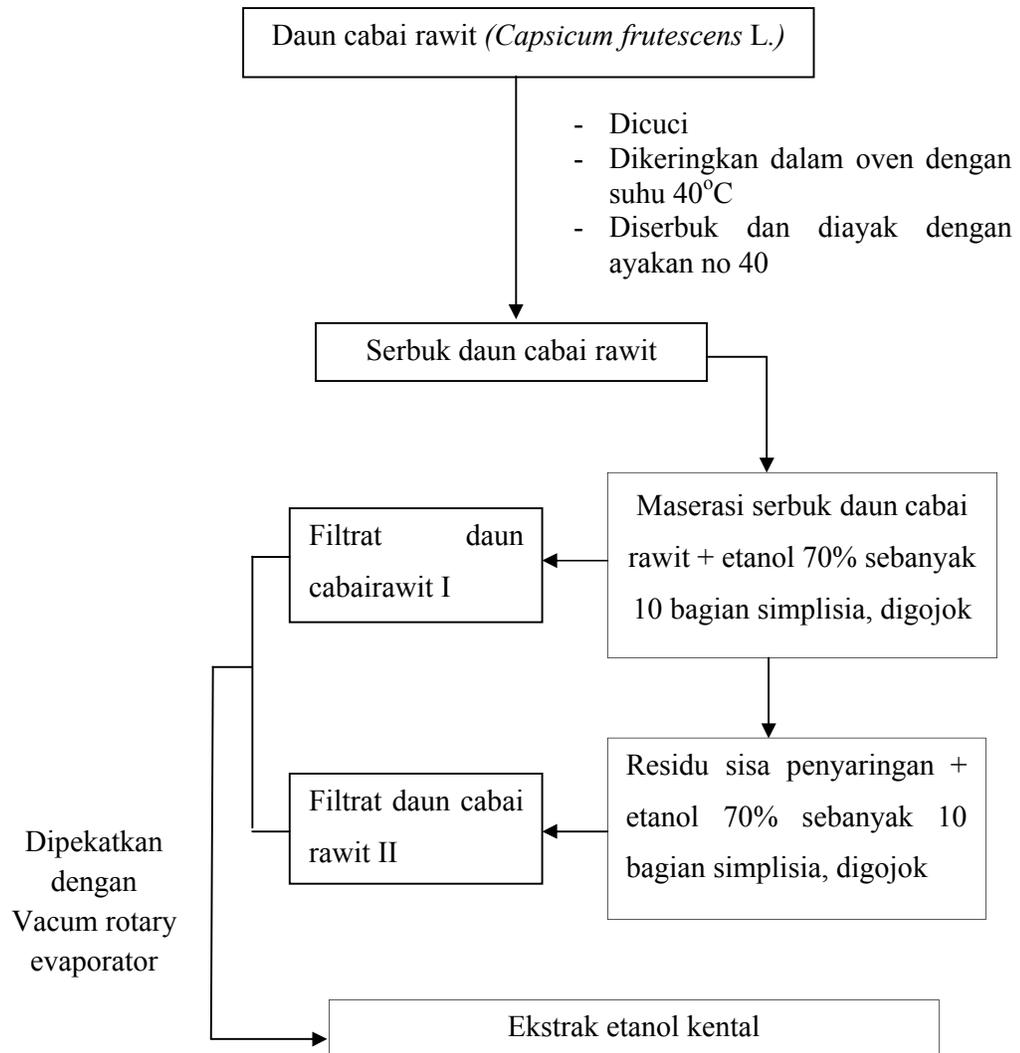
16.1. Identifikasi saponin. Fraksiteraktif daun cabai rawit dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas sama banyak, didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).

16.2. Identifikasi flavonoid. Fraksi teraktif daun cabai rawit dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ekstrak dilarutkan dalam 1-2 ml etanol panas. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan serbuk magnesium dan ditambahkan larutan alkohol : HCL (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini dan digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989).

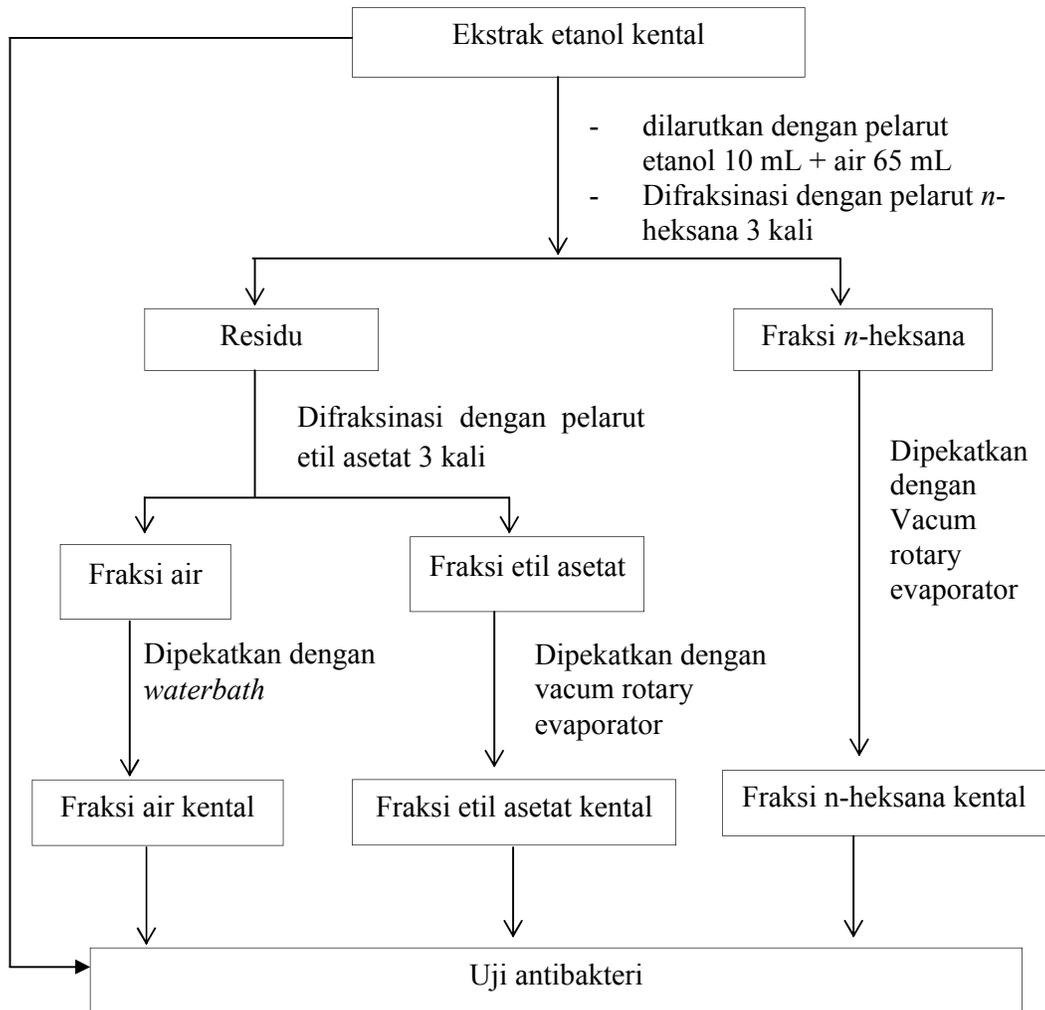
16.3. Identifikasi tanin.Fraksi teraktif daun cabai rawit ditambah 10 ml air panas, kemudian dipanaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman (Robinson 1995).

16.4. Identifikasi alkaloid.Fraksi teraktif daun cabai rawit ditambah dengan sedikit HCl 2N dipanaskan lalu tambah larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dagendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1989).

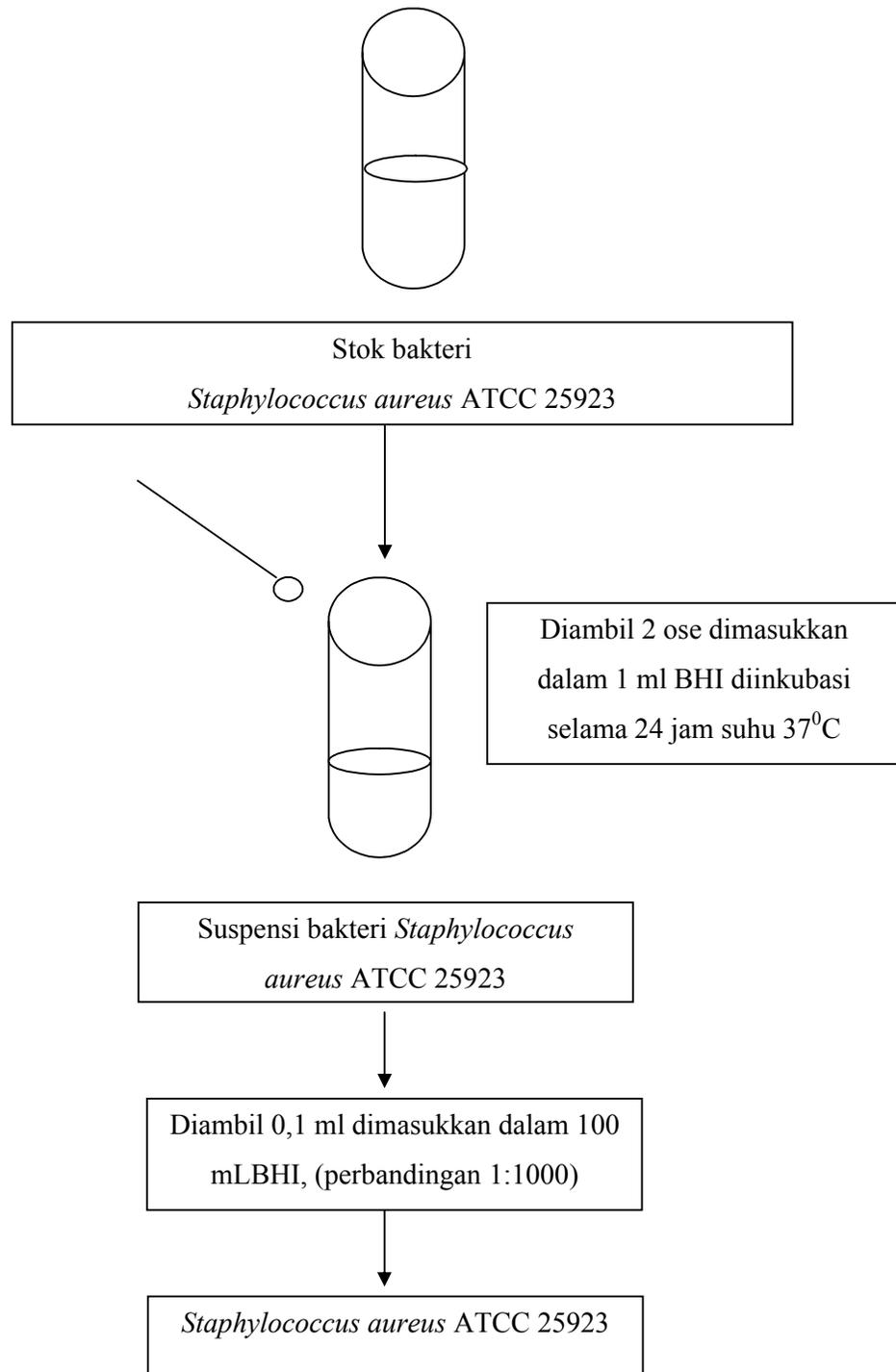
17. Skema jalannya penelitian



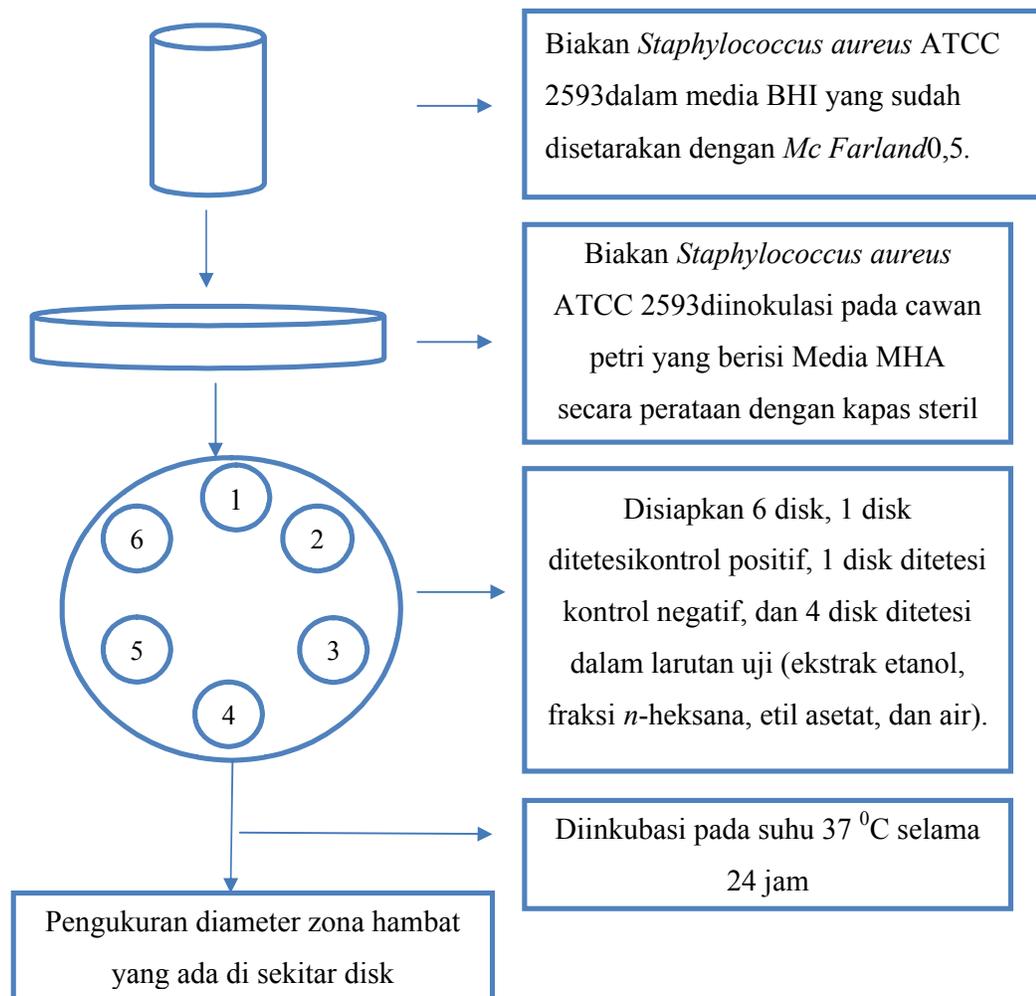
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit secara remaserasi.



Gambar 3. Skema pembuatan fraksi daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).



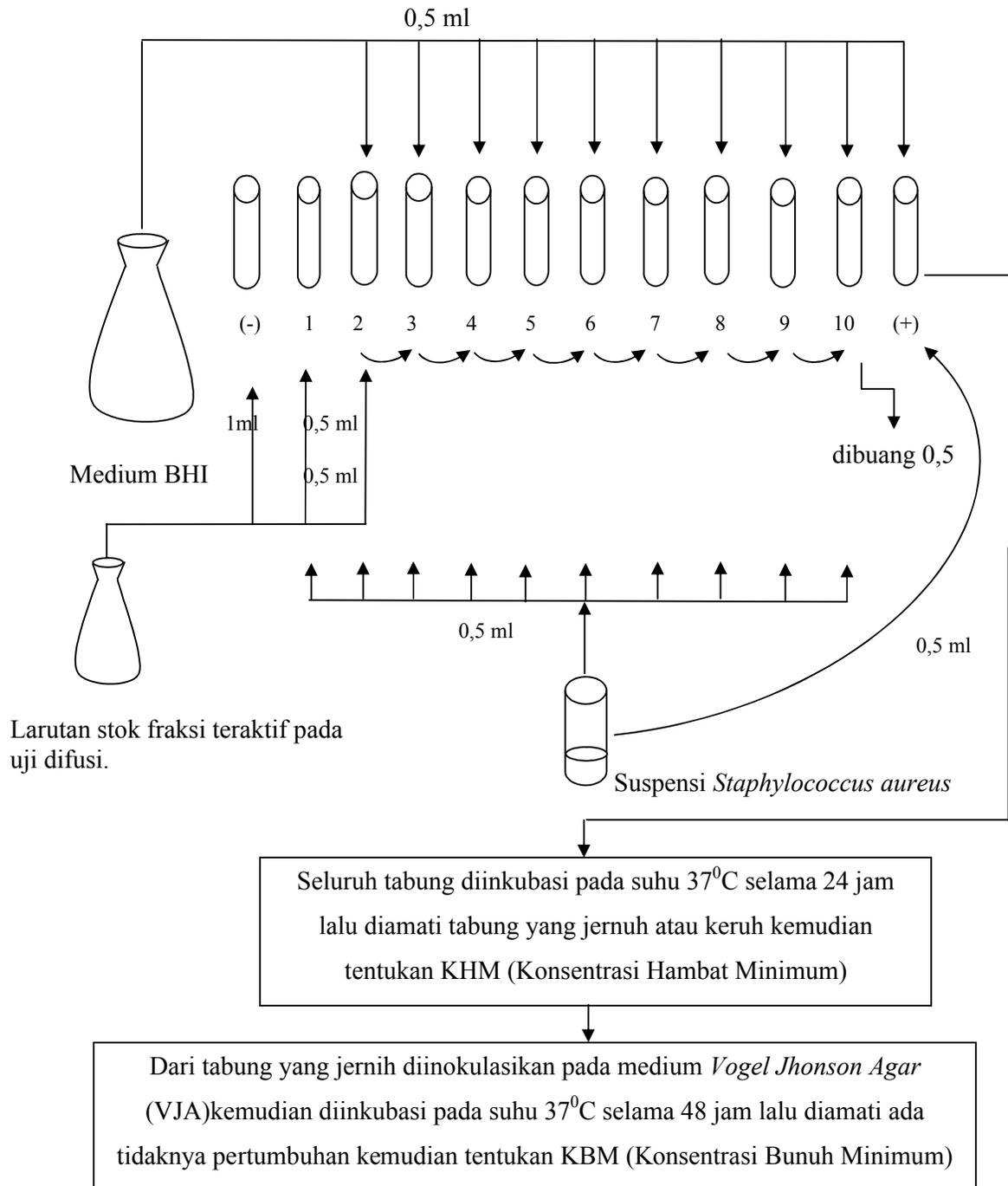
Gambar 4. Sketsa kerja pembuatan suspensi bakteri.



Keterangan :

1. Ekstrak etanol daun cabai rawit
2. Fraksi *n*-heksana
3. Fraksi etil asetat
4. Fraksi air
5. Amoxicillin sebagai kontrol positif (+)
6. DMSO 5% sebagai kontrol (-)

Gambar 5. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 2593 dengan metode difusi.



Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak atau fraksi daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.

E. Analisis Data

Data hasil penelitian dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan ANOVA satu jalan.

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Berdasarkan hasil determinasi daun cabai rawit yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan sebagai objek penelitian dengan cara mencocokkan ciri-ciri tanaman yang tercantum dalam literatur, untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

B. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Sampel diambil dari CV Multi Global Agrindo, Salam, Karangpandan, Karanganyar pada bulan Januari 2017.

C. Pembuatan serbuk daun cabai rawit

Daun cabai rawit yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran. Daun cabai rawit dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C. Proses pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur dan bakteri, mencegah perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu serbuk, serta mempermudah penggerusan atau pembuatan serbuk.

Daun cabai rawit yang sudah dikeringkan kemudian dibuat serbuk dengan tujuan untuk memperkecil partikel yang kontak dengan pelarut sehingga penyariandapat berlangsung efektif. Tabel 1 menunjukkan hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran10.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit.

Bobot simplisia (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
16000	3150	19,69

D. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit

Tabel 2 menunjukkan hasil penentuan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit dengan menggunakan alat *Moisture Balance*

Replikasi	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,20	6,0
2	2,00	1,20	6,0
3	2,00	1,30	6,5
Rata-rata			6,17

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit diperoleh rata – rata susut sebesar 6,17 % sehingga susut pengeringan serbuk daun cabai rawit memenuhi syarat dimana susut pengeringan suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Susut pengeringan yang melebihi 10% kemungkinan dalam serbuk masih terdapat kandungan air yang banyak sehingga akan mudah ditumbuhi jamur dan mikroorganisme lain.

E. Pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit

Serbuk daun cabai rawit ditimbang sebanyak 2200 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol dan ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10, kemudian direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara disaring dengan kain flanel untuk didapat sari-sarinya.

Proses penyarian ini dilakukan sebanyak dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun cabai rawit

Bahan sampel (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)
2200	438,89	19,95

Rendemen ekstrak remaserasi daun cabai rawit yang diperoleh sebanyak 19,95%. Artinya dari 2200 gram serbuk daun cabai rawit yang diekstraksi diperoleh 438,9 gram ekstrak kental.

F. Penetapan kadar air ekstrak daun cabai rawit

Metode penetapan kadar air ekstrak daun cabai rawit dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun cabai rawit dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*

Replikasi	Berat ekstrak (gram)	Volume air (mL)	Persentase kadar air (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,8	9,0
3	20	1,7	8,5
Rata-rata			8,83

Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun cabai rawit dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun cabai rawit diperoleh rata – rata susut sebesar 8,83 % (Tabel 4).

G. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit

Tabel 5. Tes bebas etanol ekstrak daun cabai rawit

Tes bebas etanol	Hasil Uji
Ekstrak etanol daun cabai rawit + H ₂ SO ₄ + CH ₃ COOH, dipanaskan.	Tidak tercium bau ester

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun cabai rawit telah bebas dari etanol 70% yaitu ditandai dengan tidak tercium bau ester (seperti bau buah-buahan) yang khas dari etanol pada ekstrak.

H. Fraksinasi ekstrak daun cabai rawit

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda-beda. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat

semipolar akan masuk ke pelarut semipolar dan senyawa nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar.

Tabel 6. Hasil fraksinasi dan rendemen dari ekstrak etanol daun cabai rawit

Fraksi	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksana	5,2	2,6
Etil asetat	8,438	4,219
Air	94,059	47,0295

Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil tiap fraksi berbeda-beda, dimana fraksi air memiliki hasil yang paling besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan etil asetat, artinya daun cabai rawit paling banyak memiliki senyawa polar.

I. Identifikasi kandungan kimia daun cabai rawit

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun cabai rawit.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia daun cabai rawit

Kandungan kimia	Hasil		Pustaka	Interpretasi data	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Saponin	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Terbentuk buih tetap selama tidak kurang dari 10 detik (Depkes 1989)	+	+
Flavonoid	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna merah / kuning / jingga pada lapisan amil alkohol	+	+
Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna coklat	Terbentuk endapan berwarna coklat	Terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning atau coklat sampai hitam (Depkes 1989)	+	+
Tanin	Terbentuk warna biru kehitaman	Terbentuk warna biru kehitaman	Terbentuk warna biru kehitaman (Robinson 1995)	+	+

Keterangan : (+) : Mengandung golongan senyawa

(-) : Tidak mengandung golongan senyawa

Tabel 7 menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanoldaun cabai rawit mengandung senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Hasil pengamatan kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit dapat dilihat pada lampiran 6.

J. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari biakan murni diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang dianggap sama dengan jumlah koloni $1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ CFU/mL. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000 (Bonang & Koeswardono 1982).

K. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Identifikasi bakteri menggunakan media selektif. Hasil identifikasi ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna hitam dan medium disekitar koloni berwarna kuning. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam dan adanya indikator phenol red menyebabkan warna medium sekitar koloni berwarna kuning. Warna hitam pada koloni disebabkan karena *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi tellurite menjadi metalik tellurite. Hasil gambar identifikasi koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan medium selektif dapat dilihat pada lampiran 7.

2. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Uji identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram menunjukkan hasil koloni berbentuk bulat bergerombol dan berwarna ungu. Tujuan pengecatan Gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Gram positif mengandung protein dan Gram negatif mengandung lemak dalam prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu kemudian diberi larutan iodine sehingga akan terbentuk suatu kompleks antar kristal violet dan iodine. Pemberian alkohol pada pewarnaan Gram menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel Gram negatif. Pewarnaan

safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah pada bakteri Gram negatif, sedangkan pada bakteri Gram positif dinding selnya terhidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelczar&Chan 1986). Uji pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil positif. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

3. Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah ditambah 2 tetes hydrogen peroksida 3% akan terbentuk gelembung udara disekitar koloni. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂O dan O₂. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2007). Uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil yang positif. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pengan menggunakan plasma darah kelinci dan diberi asam sitrat (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1-4 jam. Hasil positif jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007). Uji koagulase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil positif. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

L. Pengujian aktivitas antibakteri daun cabai rawit secara difusi

Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun cabai rawit kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya daerah jernih di sekeliling cakram (disk) yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Medium yang digunakan adalah *Muller Hinton Agar* (MHA). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui mana yang mempunyai daya hambat yang paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pengujian aktivitas dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi larutan masing-masing 50%; 25%; 12,5%; dan amoxicillin sebagai kontrol positif serta DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Perhitungan konsentrasi larutan dapat dilihat pada lampiran 16. Hasil uji antibakteri dengan metode difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi.

Diameter daerah hambat (mm)					
Bahan uji	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata (mm)
		I	II	II	
Ekstrak	50%	10	9	8	9,00
	25%	8	7	8	7,66
	12,5%	7	7	7	7,00
<i>n</i> -Heksana	50%	0	0	0	0,00
	25%	0	0	0	0,00
	12,5%	0	0	0	0,00
Etil asetat	50%	15	11	13	13,00
	25%	12	11	11	11,33
	12,5%	9	10	9	9,33
Air	50%	10	8	9	9,00
	25%	9	8	7	8,00
	12,5%	7	8	7	7,33
DMSO	5%	0	0	0	0,00
Amoxicillin	2,5%	21	21	20	20,67

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cabai rawit, fraksi etil asetat, dan air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan adanya daya hambat, ini dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar disk. Fraksi *n*-heksana tidak terdapat daya hambat, ini dibuktikan dengan tidak adanya daerah jernih disekitar disk. Diameter hambat rata-rata yang paling besar adalah fraksi etil asetat 50%. Untuk memastikan etil asetat benar teraktif, maka dilanjutkan ke uji analisis data.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *one way*. ANOVA *one way* digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5% dari ekstrak etanol daun cabai rawit, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Kontrol positif dan kontrol negatif diikuti sertakan dalam analisis ANOVA *one way*. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, kontrol positif, dan kontrol negatif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* diperoleh signifikansi $0,097 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA *one way*. Nilai probabilitas Levene Statistic adalah $0,064 > 0,05$ maka H_0 diterima yang artinya keempat sampel memiliki varian yang sama. Hasil signifikansi dari data uji ANOVA adalah $0,000 < 0,05$ yang artinya dari keempat sampel ada perbedaan dalam nilai diameter zona hambat.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat 50% terbukti paling aktif terhadap aktivitas antibakteri, karena dapat dilihat pada (Lampiran 18) mempunyai daya hambat yang paling besar diantara ekstrak dan fraksi lain. Meskipun demikian fraksi etil asetat 50% tidak ada beda signifikan dengan fraksi etil asetat 25%, karena berada dalam subset yang sama sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi etil asetat 50% merupakan fraksi teraktif tetapi fraksi etil asetat 25% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Dalam penelitian ini amoxicillin masih lebih efektif digunakan di masyarakat dibanding dengan fraksi etil asetat.

Sifat etil asetat yang semi polar ini menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang lebih kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan nonpolar, oleh sebab itu fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa yang diduga sebagai antibakteri yakni flavonoid dan alkaloid, hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar serta teraktif dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air (Sreelatha *et al.* 2013).

Senyawa flavonoid mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari sel bakteri, menghambat fungsi dari membran sitoplasma. Flavonoid juga dapat mengganggu metabolisme energi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Cushnie & Lamb 2005). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina 2008).

M. Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun cabai rawit dengan metode dilusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun cabai rawit dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun cabai rawit dengan metode dilusi

Konsentrasi Fraksi etil asetat	Replikasi		
	I	II	III
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	-	-	-
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,195%	+	+	+
0,098%	+	+	+
Kontrol – (fraksi etil asetat)	-	-	-
Kontrol + (suspensi bakteri)	+	+	+

**Keterangan : (-) tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) ada pertumbuhan bakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Konsentrasi bunuh minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri

dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada medium diferensial *Vogel Jhonson Agar* (VJA) dalam cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada medium *Vogel Jhonson Agar* dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,195%; 0,096%. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, akan tetapi hal ini sulit diamati karena masing-masing fraksi yang digunakan sudah keruh sehingga perlu dilakukan inokulasi dalam medium diferensial pada masing-masing tabung untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari tabel 9 dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 6,25%.

N. Identifikasi kimia fraksi etil asetat secara kualitatif

Identifikasi kandungan kimia dengan uji kualitatif hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabel 10. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara kualitatif

Kandungan kimia	Hasil	Pustaka	Interpretasi data
Saponin	Tidak terbentuk buih	Terbentuk buih tetap selama tidak kurang dari 10 detik (Depkes 1989)	-
Flavonoid	Terbentuk warna jingga kehijauan pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna merah / kuning / jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989)	+
Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna hijau	Terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning atau coklat sampai hitam (Depkes 1989)	+
Tanin	Tidak terbentuk warna biru kehitaman	Terbentuk warna biru kehitaman	-

**Keterangan : (+) : Mengandung golongan senyawa
(-) : Tidak mengandung golongan senyawa**

Berdasarkan tabel 10 dapat dilihat bahwa kandungan kimia pada fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid dan alkaloid. Sifat etil asetat yang semipolar ini dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat semipolar seperti flavonoid dan alkaloid.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan fraksi yang paling aktif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, fraksi etil asetat daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 6,25% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap bakteri yang lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dengan metode penyarian yang lain untuk mengetahui metode yang lebih efektif.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhyar. 2010. *uji daya hambat dan analisis klt bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (Rhizophora stylosa griff.) terhadap Vibrio harveyi* [Skripsi]. Makasar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin Makasar.
- Ansel CH. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Penerjemah; Farida Ibrahim. Edisi ke-4. Jakarta: UI-Press. hlm 60-65. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Brooks GF, Janet SB, Stephen AM. 2005. *Jawetz , Melnick and Adelbergs, Mikrobiologi Kedokteran Buku 1*. Penerjemah: Mudihardi Eet al. Jakarta: penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari : *Medical Microbiology*.
- Cushnie TP dan Lamb AJ. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids. International Jurnal Of Antimicrobial Agent. School Of Pharmacy. The Robert Gordon Universitas, Schoolhill, Aberdeen*.
- Dalimarta, Setiawan. 2002. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta. Trubus Agriwidya. hlm 53-57.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomia: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- [DEPKES RI]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 4-11.
- [DEPKES RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 4-11, 25-26.
- [DEPKES RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*, Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1989. *Materia Medika*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI]. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dianasari N. 2009. *uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu secang (Caesalpina sappan L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae serta bioautografinya*[Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Entjang L. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan*. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- Ganiswara. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Gaya Baru. hlm 571-596.
- Goodman & Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Hardman JC, Limbird LE, editor: Musadad A, Soemardji AA, Nawawi A, Retnoningrum DS. Sukandar EY, Adnyana IK, Setia L, Iwo MJ, Singgih M, Kusmardiyani M, Kusmardiyani S. Soebito S, Asyarie S, Suwendar Syarif WR, tim alih bahasa. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 10th ed.*
- Green J. 2005. *Terapi Herbal Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri*. Jakarta: Prestasi Pustaka Raya.
- Harborne J.B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Penerjemah : Kosasih p. Iwang S. Editor: Sofia N. Jakarta: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hastari R. 2012. *uji aktivitas antibakteri ekstrak pelepah dan batang tanaman pisang ambon (Musa paradisiaca var. sepientum) terhadap Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Jawetz, E., Melnick, J.L ., Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Penerjemah: Hartanto H, Rachman C, Dimanti A, Diani A. Editor: Elferia NRet.al. Jakarta: EGC. hlm 291-292, 303-306. Terjemahan dari: *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology, 23th ed.*
- Juliantina, F.R., 2008. *Manfaat sirih merah (Piper crocatum) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2(3): 1-10.
- [Kementrian Kesehatan RI]. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia* edisi I. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 100-101.

- Kusmayati dan Agustini NWR. 2007. *Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (Porphyridium cruentinum)*. Biodiversitas 8:48-53.
- Lowy FD. 2003. *Staphylococcus aureus Infection*. England : J Med.
- Pelczar MJ and Chan EGS., 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Volume 1,2.Penerjemah; Hadioentomo, R.S., Imas tejo, Tjitrosomo. S., Angka. S.L.Jakarta: Universitas Indonesia. hlm 107-173. Terjemahan dar : *Elements of Microbiology*.
- Praeparandi. 2006. *Card System Analisis Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. hlm 9.
- Prawira M, Sarwiyono, dan Puguh, S. 2013. *Daya Hambat Dekok Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah*. Universitas Brawijaya.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahim A *et al.* 2014. *Uji efektifitas antibakteri ekstrak etanolik daun cabe rawit (Capsicum frutescens L) terhadap bakteri Staphylococcus Aureus dengan metode difusi: uji pendahuluan potensi tanaman obat tradisional sebagai alternatif pengobatan infeksi saluran pernafasan*. [Skripsi]. Semarang. Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah; Padmawinata K. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Consituents of Higher Plants*.
- Rukmana R. 2002. *Usaha Tani Cabai Rawit*. Yogyakarta: Kanisius. hlm 15-19.
- Sreelatha R, Murali MCH, Ashok PKK, Sudesh KE. 2013. *In vitro antimicrobial activity of different parts of stachtarpheta urticifolia (Salisb) Sims. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 6: 304-343.*
- Suriawira U. 2005. *Penghantar Mikrobiologi Umum*. Bandung : Angkasa. hlm 57-58, 60-61.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Soendani NS, penerjemahan ; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Pharmaceutical Technology*.

- Warisno&Dahana, Kres. 2010. *Peluang Usaha&Budidaya Cabai*. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama. hlm 13-20.
- Wijayakusuma *et al.* 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Pustaka Kartini.
- Yunita.2012.*uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak daun cabe rawit (capsicum frutescens l.) dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi teraktif*. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Yuwono. 2012. *Mikrobiologi Penyakit Infeksi*.Palembang : Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Sriwijaya. hlm 36-39.

Lampiran 1. Hasil determinasi daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)



No :126/DET/UPT-LAB/15/1/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
Nama : Pramestiamurti K D
NIM : 19133743 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Hasil determinasi berdasarkan: Steenis : Flora.

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a. golongan 8. 109b - 119b - 120b - 128b - 129b - 140b - 142b - 143b - 146b - 154b - 155b - 156b - 162b - 163b - 167b - 169b - 171b - 177b - 179b - 187b - 189b - 190b - 191a. familia 111.

Solanaceae. 1b - 3b - 5b - 6b - 7a. 7. Capsicum. 1b. *Capsicum frutescens* L.

Deskripsi:

Habitus : Herba menahun, tegak, bercabang lebar, tinggi 0,5 - 1,5 m.

Akar : Sistem akar tunggang.

Batang : Percabangan monopodial, berkayu.

Daun : Tunggal, tersebar, tangkai 0,9 - 2 cm, helaian daun bulat telur memanjang atau bulat telur sampai lanset, pangkal runcing, ujung menyempit, panjang 5,3 - 7,1 cm

Bunga : Di ujung atau di ketiak; berdiri sendiri atau 2 lebih bersama-sama, tangkai tegak dengan ujung mengangkuk. Kelopak bentuk lonceng dengan 5 gigi kecil, dibawah buah membesar. Mahkota bentuk roda, berbagi 5 dalam, taju runcing, putih kehijauan. Kepala sari ungu.

Buah : Buah buni, bulat telur memanjang, tegak, waktu muda hijau, setelah tua merah, rasanya sangat pedas.

Biji : Bulat, pipih, kuning muda.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

15 Januari 2017
Tim Determinasi
Ket. Karimah Wiryosoendjojo, SU.

Jl. Let.Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Daun cabai rawit basah, daun cabai rawit kering, dan serbuk daun cabai rawit



Daun cabai rawit basah



Daun cabai rawit kering



Serbuk daun cabai rawit

Lampiran 3. Gambar inkas, *Sterling Bidwell*, vacum rotary evaporator, autoklaf, fraksinasi, dan *Moisture Balance*.



Inkas



Sterling Bidwell



Autoklaf



Vacum Rotary Evaporator



Fraksinasi



Moisture Balance

Lampiran 4. Gambar oven, inkubator, timbangan analitik, dan ayakan mesh 40



Oven



Inkubator



Timbangan analitik

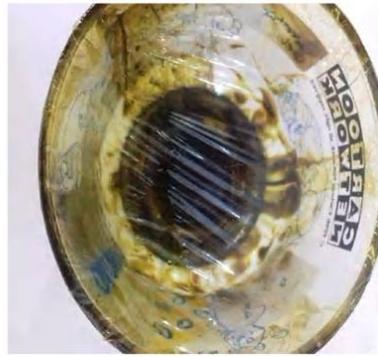


Ayakan no 40

Lampiran 5. Gambar hasil ekstrak, feaksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air



Ekstrak



Fraksi *n*-heksana



Fraksi etil asetat



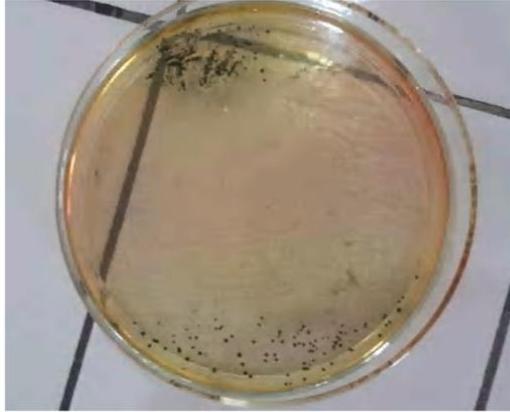
Fraksi air

Lampiran 6. Identifikasi kandungan kimia daun cabai rawit

Bahan uji	Saponin	Flavonoid	Tanin	Alkaloid
Serbuk	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
Ekstrak	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
Fraksi etil asetat	 (-)	 (+)	 (-)	 (+)

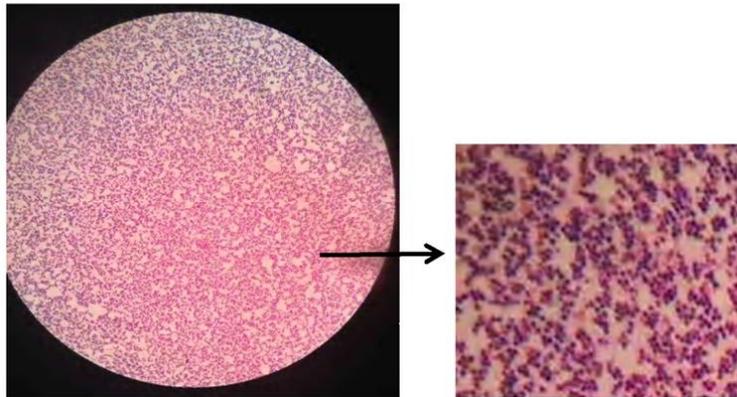
Keterangan : (+) : Mengandung golongan senyawa
(-) : Tidak mengandung golongan senyawa

Lampiran 7. Gambar hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan media selektif

VJA



Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara mikroskopis



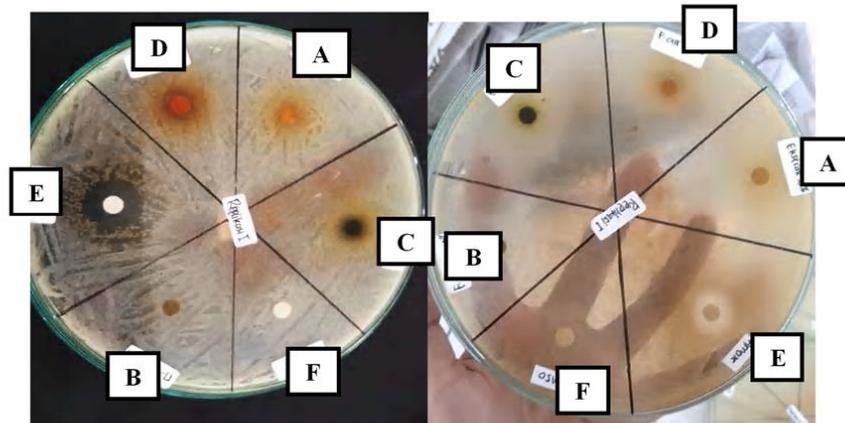
Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara katalase



Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara koagulase

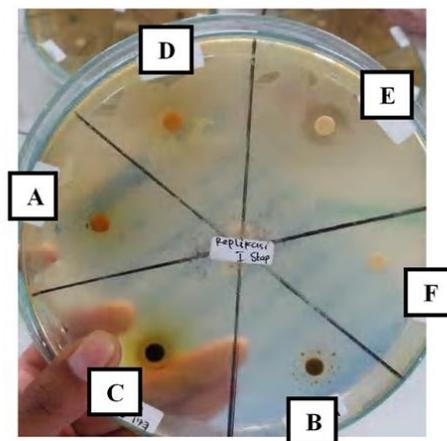
Lampiran 8. Diameter dayahambat uji aktivitas antibakteri daun cabai rawitsecara difusi replikasi I, II, dan III

A. Diameter daya hambat replikasi I



Konsentrasi 50%

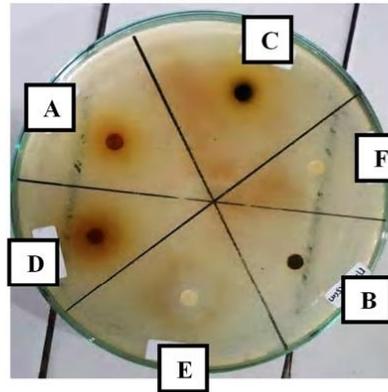
Konsentrasi 25%



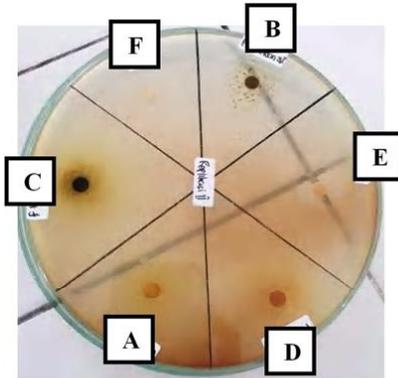
Konsentrasi 12,5%

Keterangan : A. Ekstrak; B. Fraksi *n*-heksana; C. Fraksi etil asetat; D. Fraksi air;
E. Amoxicillin; F. DMSO 5%

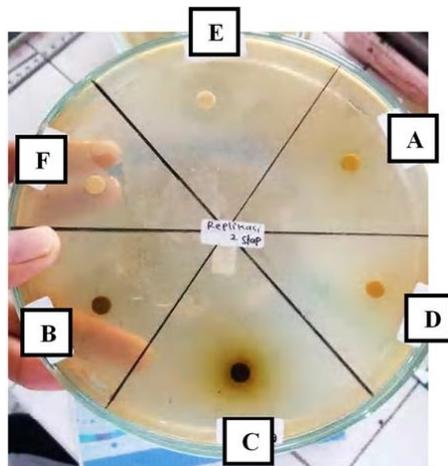
B. Diameter daya hambat replikasi II



Konsentrasi 50%



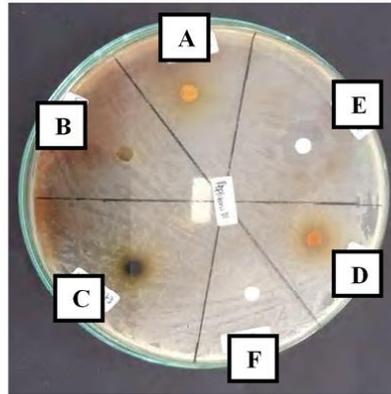
Konsentrasi 25%



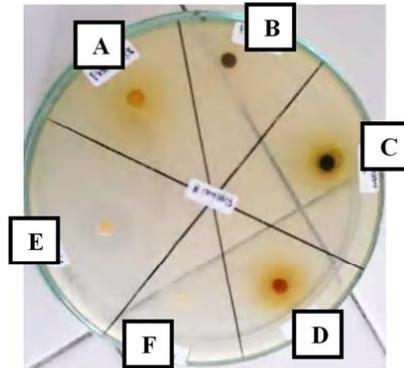
Konsentrasi 12,5%

Keterangan : A. Ekstrak; B. Fraksi *n*-heksana; C. Fraksi etil asetat; D. Fraksi air;
E. Amoxicillin; F. DMSO 5%

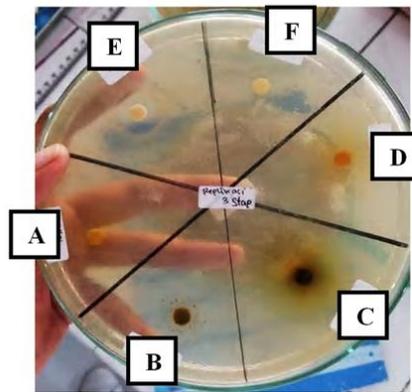
C. Diameter daya hambat replikasi III



Konsentrasi 50%



Konsentrasi 25%



Konsentrasi 12,5%

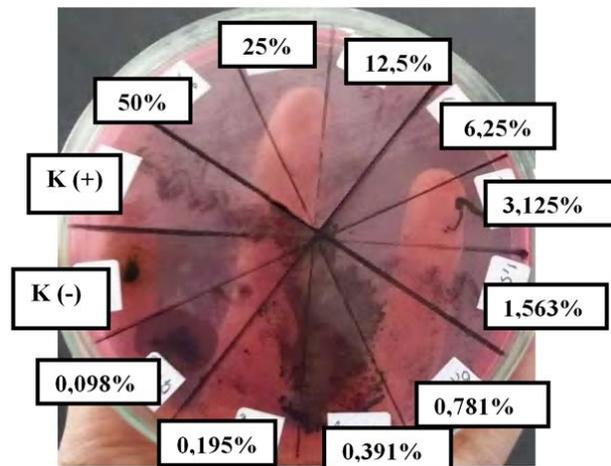
Keterangan :A. Ekstrak; B. Fraksi *n*-heksana; C. Fraksi etil asetat; D. Fraksi air;
E. Amoxicillin; F. DMSO 5%

Lampiran 9. Hasil uji dilusi fraksi teraktif etil asetat

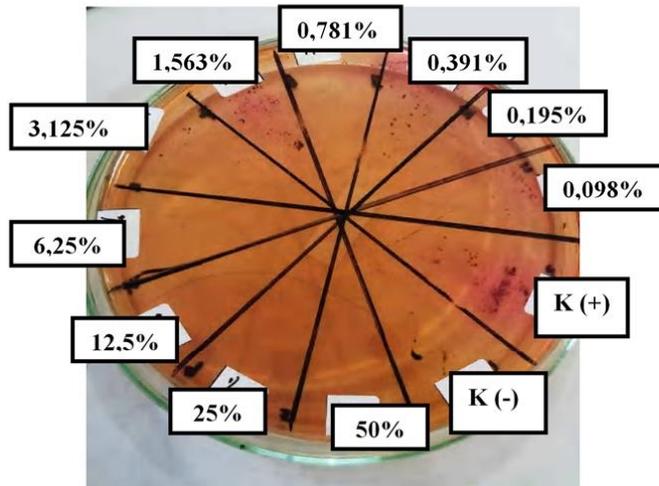
A. Hasil dilusi fraksi etil asetat



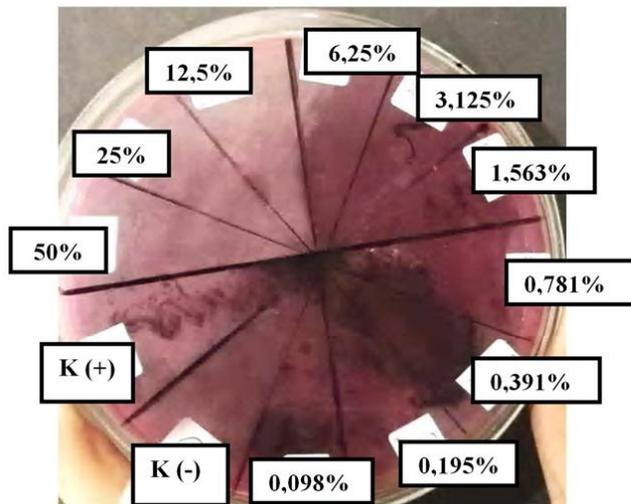
B. Hasil inokulasi fraksi etil asetat



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 10. Hasil pembuatan serbukdaun cabai rawit

Bobot simplisia (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
16000	3150	19,69

Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit yang didapat adalah 19,69%

Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{3150 \text{ gram}}{16000 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 19,69\%\end{aligned}$$

Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun cabai rawit

Replikasi	Berat awal(gram)	Berat akhir(gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,20	6,0
2	2,00	1,20	6,0
3	2,00	1,30	6,5
Rata-rata			6,17

$$\text{Rata-rata susut pengeringan daun cabai rawit} = \frac{6,0+6,0+6,5}{3} = 6,17\%$$

Lampiran 12. Perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun cabai rawit

Replikasi	Berat ekstrak (gram)	Volume air (mL)	Prosentase kadar air (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,8	9,0
3	20	1,7	8,5
Rata-rata			8,83

$$\text{Kadar air replikasi I} = \frac{\text{Volume air (mL)}}{\text{Berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,8 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 9,0\%$$

$$\text{Kadar air replikasi II} = \frac{\text{Volume air (mL)}}{\text{Berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,8 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 9,0\%$$

$$\text{Kadar air replikasi III} = \frac{\text{Volume air (mL)}}{\text{Berat ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,7 \text{ mL}}{20 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 8,5\%$$

$$\text{Rata-rata penetapan kadar air daun cabai rawit} = \frac{9,0+9,0+8,5}{3} = 8,83 \%$$

Lampiran 13. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit

Bahan Sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)
2200	438,89	19,95

Rendemen ekstrak remaserasi daun cabai rawit yang diperoleh sebanyak 19,95%

Perhitungan rendemen ekstrak daun cabai rawit

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{berat sampel (gram)}} \times 100\%$$

$$= \frac{438,89 \text{ gram}}{2200 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 19,95\%$$

Lampiran 14. Hasilfraksinasi**Fraksi *n*-heksan dari ekstrak daun cabai rawit**

Bobot ekstrak etanol(gram)	Bobot fraksi(gram)	Rendemen (%)
200	5,2	2,6

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak(gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{5,2 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,6\% \end{aligned}$$

Fraksi etil asetat dari ekstrak daun cabai rawit

Bobot ekstrak etanol(gram)	Bobot fraksi(gram)	Rendemen (%)
200	8,438	4,219

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak(gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{8,438 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 4,219\% \end{aligned}$$

Fraksi air dari ekstrak daun cabai rawit

Bobot ekstrak etanol (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
200	94,059	47,0295

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{berat ekstrak(gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{94,059 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 47,0295\% \end{aligned}$$

Lampiran 15. Perhitungan dosis Amoxicillin dan konsentrasi DMSO 5%

A. Dosis amoxicillin = 125 mg/5 mL

$$= 25 \text{ mg/mL}$$

$$= 2,5 \text{ gram/100 mL}$$

$$= 2,5\% \text{ } ^b/v$$

B. Perhitungan konsentrasi DMSO 5%

$$V_{\text{DMSO } 100\%} \cdot C_{\text{DMSO } 100\%} = V_{\text{DMSO } 5\%} \cdot C_{\text{DMSO } 5\%}$$

$$V_1 \cdot 100\% = 100 \text{ mL} \cdot 5\%$$

$$V_{\text{DMSO } 100\%} = \frac{100 \text{ mL} \cdot 5\%}{100\%}$$

$$V_{\text{DMSO } 100\%} = \frac{500 \text{ mL}}{100}$$

$$V_{\text{DMSO } 100\%} = 5 \text{ ml}$$

Diambil 5 mL DMSO murni kemudian dilarutkan dalam aquades steril 100 mL.

Lampiran 16. Pembuatan larutan stok difusi**A. Estrak daun cabai rawit**

1. Pembuatan larutan uji konsentrasi 50% sebanyak 1mL

$$50\% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 2 \text{ gram} / 4 \text{ mL}$$

Ditimbang 2 gram ekstrak daun cabai rawit kemudianditambahkan DMSO 5% sebanyak 4 mL

2. Pembuatan larutan uji konsentrasi 25% 1 mL

$$25\% \longrightarrow V_{50\%} \cdot C_{50\%} = V_{25\%} \cdot C_{25\%}$$

$$V_{50\%} \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

$$V_{50\%} = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL ekstrak daun cabai rawit konsentrasi 50% kemudian ditambahkan DMSO 5% sebanyak 1 mL

3. Pembuatan larutan uji konsentrasi 12,5% 1 mL

$$12,5\% \longrightarrow V_{25\%} \cdot C_{25\%} = V_{12,5\%} \cdot C_{12,5\%}$$

$$V_{25\%} \cdot 25\% = 1 \text{ mL} \cdot 12,5\%$$

$$V_{25\%} = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL ekstrak daun cabai rawit konsentrasi 25% kemudian ditambahkan DMSO 5% sebanyak 1 mL

B. Fraksi

1. Pembuatan larutan uji konsentrasi 50% sebanyak 1mL

$$50\% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 2 \text{ gram} / 4 \text{ mL}$$

Ditimbang 2 gram fraksi kemudian ditambahkan DMSO 5% sebanyak 4 mL

2. Pembuatan larutan uji konsentrasi 25% 1 mL

$$25\% \longrightarrow V_{50\%} \cdot C_{50\%} = V_{25\%} \cdot C_{25\%}$$

$$V_{50\%} \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

$$V_{50\%} = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL fraksi konsentrasi 50% kemudian ditambahkan DMSO 5% sebanyak 1 mL

3. Pembuatan larutan uji konsentrasi 12,5% 1 mL

$$12,5 \% \longrightarrow V_{25\%} \cdot C_{25\%} = V_{12,5\%} \cdot C_{12,5\%}$$

$$V_{25\%} \cdot 25\% = 1\text{mL} \cdot 12,5\%$$

$$V_{25\%} = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL fraksi konsentrasi 25% kemudian ditambahkan DMSO 5% sebanyak 1 mL

Lampiran 17. Perhitungan konsentrasi fraksi teraktif uji dilusi

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabai rawit ditimbang 1 gram fraksi etil asetat dalam vial, dilarutkan dengan 2 mL DMSO 5%

No	Konsentrasi (%)	V ₁	C ₁	V ₂	C ₂	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 mL larutan stok
2	50	-	-	-	-	0,5 mL larutan stok
3	25	0,5	50	1	25	0,5 mL larutan stok + BHI ad 1 mL
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 mL tabung 3 + BHI ad 1mL
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 mL tabung 4 + BHI ad 1mL
6	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 mL tabung 5 + BHI ad 1mL
7	1,563	0,5	3,125	1	1,563	0,5 mL tabung 6 + BHI ad 1mL
8	0,781	0,5	1,563	1	0,781	0,5 mL tabung 7 + BHI ad 1mL
9	0,391	0,5	0,781	1	0,391	0,5 mL tabung 8 + BHI ad 1mL
10	0,195	0,5	0,391	1	0,195	0,5 mL tabung 9 + BHI ad 1mL
11	0,098	0,5	0,195	1	0,098	0,5 mL tabung 10 + BHI ad 1mL
12	-	-				0,5 mL suspensi bakteri + BHI ad 1mL

Keterangan :

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok } 50\% &= \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} \\ &= \frac{1 \text{ gram}}{2 \text{ mL}} \end{aligned}$$

Tabung 1 = Kontrol negatif (fraksi etil asetat konsentrasi 50%)

Tabung 2 = 0,5 mL fraksi etil asetat konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} \text{Tabung 3} &= \text{Konsentrasi } 25\% \longrightarrow V_{50\%} \cdot C_{50\%} = V_{25\%} \cdot C_{25\%} \\ &0,5 \text{ mL} \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{25\%} \\ C_{25\%} &= 25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Tabung 4} &= \text{Konsentrasi } 12,5\% \longrightarrow V_{25\%} \cdot C_{25\%} = V_{12,5\%} \cdot C_{12,5\%} \\ &0,5 \text{ mL} \cdot 25\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{12,5\%} \\ C_{12,5\%} &= 12,5\% \end{aligned}$$

- Tabung 5 = Konsentrasi 6,25% $\longrightarrow V_{12,5\%} \cdot C_{12,5\%} = V_{12,5\%} \cdot C_{12,5\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 12,5\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{6,25\%}$
 $C_{6,25\%} = 6,25\%$
- Tabung 6 = Konsentrasi 3,125% $\longrightarrow V_{6,25\%} \cdot C_{6,25\%} = V_{3,125\%} \cdot C_{3,125\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 6,25\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{3,125\%}$
 $C_{3,125\%} = 3,125\%$
- Tabung 7 = Konsentrasi 1,563% $\longrightarrow V_{3,125\%} \cdot C_{3,125\%} = V_{1,563\%} \cdot C_{1,563\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 3,125\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{1,563\%}$
 $C_{1,563\%} = 1,563\%$
- Tabung 8 = Konsentrasi 0,781% $\longrightarrow V_{1,563\%} \cdot C_{1,563\%} = V_{0,781\%} \cdot C_{0,781\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 1,563\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{0,781\%}$
 $C_{0,781\%} = 0,781\%$
- Tabung 9 = Konsentrasi 0,391% $\longrightarrow V_{0,781\%} \cdot C_{0,781\%} = V_{0,391\%} \cdot C_{0,391\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 0,781\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{0,391\%}$
 $C_{0,391\%} = 0,391\%$
- Tabung 10 = Konsentrasi 0,195% $\longrightarrow V_{0,391\%} \cdot C_{0,391\%} = V_{0,195\%} \cdot C_{0,195\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 0,391\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{0,195\%}$
 $C_{0,195\%} = 0,195\%$
- Tabung 11 = Konsentrasi 0,098% $\longrightarrow V_{0,195\%} \cdot C_{0,195\%} = V_{0,098\%} \cdot C_{0,098\%}$
 $0,5 \text{ mL} \cdot 0,195\% = 1 \text{ mL} \cdot C_{0,098\%}$
 $C_{0,098\%} = 0,098\%$

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 mL tabung 10 ditambah BHI 0,5 mL, kemudian dihomogenkan dan diambil 0,5 mL lalu dibuang

Tabung 12 = Kontrol positif (suspensi bakteri 0,5 mL + BHI 0,5 mL)

Tabung 2 – 11 ditambah 0,5 mL suspensi bakteri

Lampiran 18. Hasil analisis data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter zona hambatan	42	7.3571	5.78822	.00	21.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter zona hambatan
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.3571
	Std. Deviation	5.78822
Most Extreme Differences	Absolute	.190
	Positive	.184
	Negative	-.190
Kolmogorov-Smirnov Z		1.229
Asymp. Sig. (2-tailed)		.097

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : nilai signifikansi $0,097 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

Diameter zona hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.976	13	28	.064

Kesimpulan : Nilai probabilitas Levene Statistic adalah $0,064 > 0,05$ maka H_0 diterima yang artinya keempat sampel memiliki varian yang sama.

ANOVA

Diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1350.976	13	103.921	128.373	.000
Within Groups	22.667	28	.810		
Total	1373.643	41			

Kesimpulan : nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ yang artinya dari keempat sampel ada perbedaan dalam nilai diameter zona hambat.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 50%	Ekstrak 25%	1.00000	.73463	.979	-1.6890	3.6890
	Ekstrak 12,5%	1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
	Fraksi n-heksana 50%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi n-heksana 25%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi n-heksana 12,5%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-4.00000 [†]	.73463	.001	-6.6890	-1.3110
	Fraksi Etil asetat 25%	-2.00000	.73463	.317	-4.6890	.6890
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
	Fraksi Air 50%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi Air 25%	1.00000	.73463	.979	-1.6890	3.6890
	Fraksi Air 12,5%	1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
	DMSO 5%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Amoxicillin	-11.66667 [†]	.73463	.000	-14.3557	-8.9776

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 25%	Ekstrak 50%	-1.00000	.73463	.979	-3.6890	1.6890
	Ekstrak 12,5%	.66667	.73463	1.000	-2.0224	3.3557
	Fraksi n-heksana 50%	8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
	Fraksi n-heksana 25%	8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
	Fraksi n-heksana 12,5%	8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-5.00000 [†]	.73463	.000	-7.6890	-2.3110
	Fraksi Etil asetat 25%	-3.00000 [†]	.73463	.019	-5.6890	-.3110
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-1.66667	.73463	.588	-4.3557	1.0224
	Fraksi Air 50%	-1.00000	.73463	.979	-3.6890	1.6890
	Fraksi Air 25%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi Air 12,5%	.66667	.73463	1.000	-2.0224	3.3557
	DMSO 5%	8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
	Amoxicillin	-12.66667 [†]	.73463	.000	-15.3557	-9.9776
	Ekstrak 12,5%	Ekstrak 50%	-1.66667	.73463	.588	-4.3557
Ekstrak 25%		-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
Fraksi n-heksana 50%		7.33333 [†]	.73463	.000	4.6443	10.0224
Fraksi n-heksana 25%		7.33333 [†]	.73463	.000	4.6443	10.0224
Fraksi n-heksana 12,5%		7.33333 [†]	.73463	.000	4.6443	10.0224
Fraksi Etil asetat 50%		-5.66667 [†]	.73463	.000	-8.3557	-2.9776
Fraksi Etil asetat 25%		-3.66667 [†]	.73463	.002	-6.3557	-.9776
Fraksi Etil asetat 12,5%		-2.33333	.73463	.140	-5.0224	.3557
Fraksi Air 50%		-1.66667	.73463	.588	-4.3557	1.0224
Fraksi Air 25%		-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
Fraksi Air 12,5%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
DMSO 5%		7.33333 [†]	.73463	.000	4.6443	10.0224
Amoxicillin		-13.33333 [†]	.73463	.000	-16.0224	-10.6443

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi n- heksana 50%	Ekstrak 50%	-9.00000 [†]	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
	Ekstrak 25%	-8.00000 [†]	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
	Ekstrak 12,5%	-7.33333 [†]	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
	Fraksi n-heksana 25%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi n-heksana 12,5%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-13.00000 [†]	.73463	.000	-15.6890	-10.3110
	Fraksi Etil asetat 25%	-11.00000 [†]	.73463	.000	-13.6890	-8.3110
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-9.66667 [†]	.73463	.000	-12.3557	-6.9776
	Fraksi Air 50%	-9.00000 [†]	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
	Fraksi Air 25%	-8.00000 [†]	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
	Fraksi Air 12,5%	-7.33333 [†]	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
	DMSO 5%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Amoxicillin	-20.66667 [†]	.73463	.000	-23.3557	-17.9776
	Fraksi n- heksana 25%	Ekstrak 50%	-9.00000 [†]	.73463	.000	-11.6890
Ekstrak 25%		-8.00000 [†]	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
Ekstrak 12,5%		-7.33333 [†]	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
Fraksi n-heksana 50%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Fraksi n-heksana 12,5%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Fraksi Etil asetat 50%		-13.00000 [†]	.73463	.000	-15.6890	-10.3110
Fraksi Etil asetat 25%		-11.00000 [†]	.73463	.000	-13.6890	-8.3110
Fraksi Etil asetat 12,5%		-9.66667 [†]	.73463	.000	-12.3557	-6.9776
Fraksi Air 50%		-9.00000 [†]	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
Fraksi Air 25%		-8.00000 [†]	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
Fraksi Air 12,5%		-7.33333 [†]	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
DMSO 5%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Amoxicillin		-20.66667 [†]	.73463	.000	-23.3557	-17.9776

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi n- heksana 12,5%	Ekstrak 50%	-9.00000 ⁺	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
	Ekstrak 25%	-8.00000 ⁺	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
	Ekstrak 12,5%	-7.33333 ⁺	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
	Fraksi n-heksana 50%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi n-heksana 25%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-13.00000 ⁺	.73463	.000	-15.6890	-10.3110
	Fraksi Etil asetat 25%	-11.00000 ⁺	.73463	.000	-13.6890	-8.3110
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-9.66667 ⁺	.73463	.000	-12.3557	-6.9776
	Fraksi Air 50%	-9.00000 ⁺	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
	Fraksi Air 25%	-8.00000 ⁺	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
	Fraksi Air 12,5%	-7.33333 ⁺	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
	DMSO 5%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Amoxicillin	-20.66667 ⁺	.73463	.000	-23.3557	-17.9776
	Fraksi Etil asetat 50%	Ekstrak 50%	4.00000 ⁺	.73463	.001	1.3110
Ekstrak 25%		5.00000 ⁺	.73463	.000	2.3110	7.6890
Ekstrak 12,5%		5.66667 ⁺	.73463	.000	2.9776	8.3557
Fraksi n-heksana 50%		13.00000 ⁺	.73463	.000	10.3110	15.6890
Fraksi n-heksana 25%		13.00000 ⁺	.73463	.000	10.3110	15.6890
Fraksi n-heksana 12,5%		13.00000 ⁺	.73463	.000	10.3110	15.6890
Fraksi Etil asetat 25%		2.00000	.73463	.317	-.6890	4.6890
Fraksi Etil asetat 12,5%		3.33333 ⁺	.73463	.006	.6443	6.0224
Fraksi Air 50%		4.00000 ⁺	.73463	.001	1.3110	6.6890
Fraksi Air 25%		5.00000 ⁺	.73463	.000	2.3110	7.6890
Fraksi Air 12,5%		5.66667 ⁺	.73463	.000	2.9776	8.3557
DMSO 5%		13.00000 ⁺	.73463	.000	10.3110	15.6890
Amoxicillin		-7.66667 ⁺	.73463	.000	-10.3557	-4.9776

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi Etil asetat 25%	Ekstrak 50%	2.00000	.73463	.317	-.6890	4.6890
	Ekstrak 25%	3.00000 [†]	.73463	.019	.3110	5.6890
	Ekstrak 12,5%	3.66667 [†]	.73463	.002	.9776	6.3557
	Fraksi n-heksana 50%	11.00000 [†]	.73463	.000	8.3110	13.6890
	Fraksi n-heksana 25%	11.00000 [†]	.73463	.000	8.3110	13.6890
	Fraksi n-heksana 12,5%	11.00000 [†]	.73463	.000	8.3110	13.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-2.00000	.73463	.317	-4.6890	.6890
	Fraksi Etil asetat 12,5%	1.33333	.73463	.852	-1.3557	4.0224
	Fraksi Air 50%	2.00000	.73463	.317	-.6890	4.6890
	Fraksi Air 25%	3.00000 [†]	.73463	.019	.3110	5.6890
	Fraksi Air 12,5%	3.66667 [†]	.73463	.002	.9776	6.3557
	DMSO 5%	11.00000 [†]	.73463	.000	8.3110	13.6890
	Amoxicillin	-9.66667 [†]	.73463	.000	-12.3557	-6.9776
	Fraksi Etil asetat 12,5%	Ekstrak 50%	.66667	.73463	1.000	-2.0224
Ekstrak 25%		1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
Ekstrak 12,5%		2.33333	.73463	.140	-.3557	5.0224
Fraksi n-heksana 50%		9.66667 [†]	.73463	.000	6.9776	12.3557
Fraksi n-heksana 25%		9.66667 [†]	.73463	.000	6.9776	12.3557
Fraksi n-heksana 12,5%		9.66667 [†]	.73463	.000	6.9776	12.3557
Fraksi Etil asetat 50%		-3.33333 [†]	.73463	.006	-6.0224	-.6443
Fraksi Etil asetat 25%		-1.33333	.73463	.852	-4.0224	1.3557
Fraksi Air 50%		.66667	.73463	1.000	-2.0224	3.3557
Fraksi Air 25%		1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
Fraksi Air 12,5%		2.33333	.73463	.140	-.3557	5.0224
DMSO 5%		9.66667 [†]	.73463	.000	6.9776	12.3557
Amoxicillin		-11.00000 [†]	.73463	.000	-13.6890	-8.3110

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi Air 50%	Ekstrak 50%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Ekstrak 25%	1.00000	.73463	.979	-1.6890	3.6890
	Ekstrak 12,5%	1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
	Fraksi n-heksana 50%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi n-heksana 25%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi n-heksana 12,5%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Fraksi Etil asetat 50%	-4.00000 [†]	.73463	.001	-6.6890	-1.3110
	Fraksi Etil asetat 25%	-2.00000	.73463	.317	-4.6890	.6890
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
	Fraksi Air 25%	1.00000	.73463	.979	-1.6890	3.6890
	Fraksi Air 12,5%	1.66667	.73463	.588	-1.0224	4.3557
	DMSO 5%	9.00000 [†]	.73463	.000	6.3110	11.6890
	Amoxicillin	-11.66667 [†]	.73463	.000	-14.3557	-8.9776
	Fraksi Air 25%	Ekstrak 50%	-1.00000	.73463	.979	-3.6890
Ekstrak 25%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Ekstrak 12,5%		.66667	.73463	1.000	-2.0224	3.3557
Fraksi n-heksana 50%		8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
Fraksi n-heksana 25%		8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
Fraksi n-heksana 12,5%		8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
Fraksi Etil asetat 50%		-5.00000 [†]	.73463	.000	-7.6890	-2.3110
Fraksi Etil asetat 25%		-3.00000 [†]	.73463	.019	-5.6890	-.3110
Fraksi Etil asetat 12,5%		-1.66667	.73463	.588	-4.3557	1.0224
Fraksi Air 50%		-1.00000	.73463	.979	-3.6890	1.6890
Fraksi Air 12,5%		.66667	.73463	1.000	-2.0224	3.3557
DMSO 5%		8.00000 [†]	.73463	.000	5.3110	10.6890
Amoxicillin		-12.66667 [†]	.73463	.000	-15.3557	-9.9776

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi Air 12,5%	Ekstrak 50%	-1.66667	.73463	.588	-4.3557	1.0224
	Ekstrak 25%	-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
	Ekstrak 12,5%	.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
	Fraksi n-heksana 50%	7.33333 ⁺	.73463	.000	4.6443	10.0224
	Fraksi n-heksana 25%	7.33333 ⁺	.73463	.000	4.6443	10.0224
	Fraksi n-heksana 12,5%	7.33333 ⁺	.73463	.000	4.6443	10.0224
	Fraksi Etil asetat 50%	-5.66667 ⁺	.73463	.000	-8.3557	-2.9776
	Fraksi Etil asetat 25%	-3.66667 ⁺	.73463	.002	-6.3557	-.9776
	Fraksi Etil asetat 12,5%	-2.33333	.73463	.140	-5.0224	.3557
	Fraksi Air 50%	-1.66667	.73463	.588	-4.3557	1.0224
	Fraksi Air 25%	-.66667	.73463	1.000	-3.3557	2.0224
	DMSO 5%	7.33333 ⁺	.73463	.000	4.6443	10.0224
	Amoxicillin	-13.33333 ⁺	.73463	.000	-16.0224	-10.6443
	DMSO 5%	Ekstrak 50%	-9.00000 ⁺	.73463	.000	-11.6890
Ekstrak 25%		-8.00000 ⁺	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
Ekstrak 12,5%		-7.33333 ⁺	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
Fraksi n-heksana 50%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Fraksi n-heksana 25%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Fraksi n-heksana 12,5%		.00000	.73463	1.000	-2.6890	2.6890
Fraksi Etil asetat 50%		-13.00000 ⁺	.73463	.000	-15.6890	-10.3110
Fraksi Etil asetat 25%		-11.00000 ⁺	.73463	.000	-13.6890	-8.3110
Fraksi Etil asetat 12,5%		-9.66667 ⁺	.73463	.000	-12.3557	-6.9776
Fraksi Air 50%		-9.00000 ⁺	.73463	.000	-11.6890	-6.3110
Fraksi Air 25%		-8.00000 ⁺	.73463	.000	-10.6890	-5.3110
Fraksi Air 12,5%		-7.33333 ⁺	.73463	.000	-10.0224	-4.6443
Amoxicillin		-20.66667 ⁺	.73463	.000	-23.3557	-17.9776

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Amoxicillin	Ekstrak 50%	11.66667 [*]	.73463	.000	8.9776	14.3557
	Ekstrak 25%	12.66667 [*]	.73463	.000	9.9776	15.3557
	Ekstrak 12,5%	13.33333 [*]	.73463	.000	10.6443	16.0224
	Fraksi n-heksana 50%	20.66667 [*]	.73463	.000	17.9776	23.3557
	Fraksi n-heksana 25%	20.66667 [*]	.73463	.000	17.9776	23.3557
	Fraksi n-heksana 12,5%	20.66667 [*]	.73463	.000	17.9776	23.3557
	Fraksi Etil asetat 50%	7.66667 [*]	.73463	.000	4.9776	10.3557
	Fraksi Etil asetat 25%	9.66667 [*]	.73463	.000	6.9776	12.3557
	Fraksi Etil asetat 12,5%	11.00000 [*]	.73463	.000	8.3110	13.6890
	Fraksi Air 50%	11.66667 [*]	.73463	.000	8.9776	14.3557
	Fraksi Air 25%	12.66667 [*]	.73463	.000	9.9776	15.3557
	Fraksi Air 12,5%	13.33333 [*]	.73463	.000	10.6443	16.0224
	DMSO 5%	20.66667 [*]	.73463	.000	17.9776	23.3557

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Diameter zona hambat

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Fraksi n-heksana 50%	3	.0000					
Fraksi n-heksana 25%	3	.0000					
Fraksi n-heksana 12,5%	3	.0000					
DMSO 5%	3	.0000					
Ekstrak 12,5%	3		7.0000				
Fraksi air 12,5%	3		7.3333	7.3333			
Ekstrak 25%	3		7.6667	7.6667			
Fraksi air 25%	3		8.3333	8.3333			
Ekstrak 50%	3		9.0000	9.0000	9.0000		
Fraksi air 50%	3		9.3333	9.3333	9.3333		
Fraksi eti asetat 12,5%	3			9.6667	9.6667		
Fraksi etil asetat 25%	3				11.0000	11.0000	
Fraksi etil asetat 50%	3					13.0000	
Amoxicillin	3						20.6667
Sig.		1.000	.062	.062	.177	.177	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media1. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5gram
Heart infusion	5,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
aquadest ad	1000 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

2. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Pepton from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D (-)manitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4

3. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion	300 gram
Casein Hydrolysate	17,5 gram
Strach	1,5 gram
Agar	17 gram

Suspensi 38 gram bahan diatas dalam 1000 mL aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna, sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.