

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR  
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)  
TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**



**Oleh:**

**Aprillya Putryani  
20144273A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR  
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)  
TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**

 **SKRIPSI**  
*Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Mencapai  
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**Aprillya Putryani  
20144273 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

# PENGESAHAN SKRIPSI

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

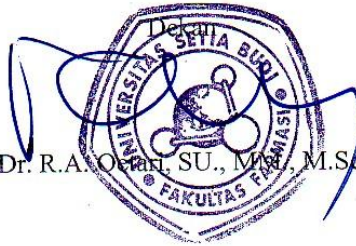
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR  
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)  
TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**

Oleh:

**Aprillya Putryani  
20144273A**

Dipertahankan dihadapan panitia penguji skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 14 Agustus 2018

Mengetahui  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R.A. Olan, SU., M.M., M.Sc., Apt.

Pembimbing

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Drs. Edy Prasetya, M.Si.

Penguji

1. Dr. Ana Indrayati, S.Si., M. Si.
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si. Apt
3. Reslely Harjanti, S.Farm., M.Sc. Apt
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

1.

2.

3.

2. ....

4.

## MOTTO

*“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan, berangkatlah, baik kamu merasa ringan atau berat, dan berjihadlah dengan harta dan jiwamu”*

*(Q.S At-Taubah: 41)*

*“Barang siapa yang bersungguh - sungguh, sesungguhnya kesungguhannya itu adalah untuk dirinya sendiri “*

*(Q.S Al-Ankabut: 6)*

**“Tugas kita bukanlah untuk berhasil. Tugas kita adalah untuk mencoba, karena didalam mencoba itulah kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil”**

**-Mario Teguh-**

*“Orang bilang halangan, kita bilang tantangan. Orang bilang hutan rimba, kita bilang jalan raya. Orang bilang nekat, kita bilang nikmat. Orang bilang jalan buntu, kita bilang mainan baru.”(Anonim)*

*“Ilmu itu tidaklah didapatkan dengan jasad yang santai”*

*(HR Muslim)*

*“Dari sudut manapun kita memandang, jika pandangan kita positif maka hasilnyaapun positif, dan begitu sebaliknya.”*

*-penulis-*

## HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Dengan keridhoan Allah SWT skripsi ini kupersembahkan kepada :*

*Allah subhanahu wa Ta'ala*

*Kedua orangtua ( Bapak dan Ibu), atas doa, dukungan, segala pengorbanan, jerih payah, kesabaran dan kasih sayang yang tak mampu tergantikan dengan apapun*

*Special untuk sahabatku*

*Diah wuri, Fania nabilla, Lia dwi hastawati, Januar subiantari, Triana cholib, Prestamaya degiza dan Yoaefiena anggitasari terimakasih untuk semuanya atas doa, dukungan dan motivasi yang selalu kalian berikan padaku*

*Rekan-rekan satu tim (Suryani dan Indah Untari), Edi ongo saputro, Irvan jian nurianto, dan anak-anak Wisma putri damai yang selalu memberikan dukungan, motivasi dan mendoakanku*

*Teman-teman seperjuangan angkatan 2014 Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta*

*Almamater tercinta, Bangsa dan Negara*

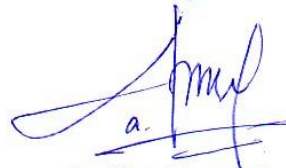
## **PERNYATAAN**

### **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 hukum.

Surakarta, 4 Agustus 2018



Aprillya Putryani

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP BAKTERI “*Shigella dysenteriae* ATCC 9361”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. 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.
3. Vivin Nopiyanti, S.Farm.,M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama dan Drs. Edy Prasetya, M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Bapak, Ibu, Irvan, Onggo , sahabatku tersayang Prestamaya degiza dan Yosefiena anggitasari serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan kasih sayang, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Rekan satu tim dan teman-teman, Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis sangat menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 4 Agustus 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
MOTTO .....	iii
PERNYATAAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xivi
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Daun Singkong.....	5
1. Sistematika daun singkong .....	5
2. Nama daerah .....	5
3. Morfologi tanaman.....	6
3.1 Akar.....	6
3.2 Batang.....	6
3.3 Daun.....	6
3.4 Bunga.....	7
3.5 Buah.....	7
4. Khasiat tanaman .....	7
5. Kandungan kimia .....	8
5.1. Flavonoid.....	8
5.2. Saponin.....	9
5.3. Tanin.....	9

B.	Simplisia .....	9
1.	Pengertian simplisia .....	9
2.	Pemilihan simplisia .....	10
3.	Pengambilan simplisia.....	10
4.	Pencucian dan pengeringan simplisia.....	10
C.	Ekstraksi .....	11
1.	Pengertian ekstraksi.....	11
2.	Maserasi.....	11
3.	Fraksinasi.....	12
4.	Cairan penyari .....	12
4.1	Etanol.....	12
4.2	<i>n</i> -Heksan.....	13
4.3	Etil asetat. ....	13
4.4	Air.....	13
D.	Sterilisasi .....	13
E.	<i>Shigella dysenteriae</i> .....	14
1.	Klasifikasi bakteri <i>shigella dysenteriae</i> .....	14
2.	Morfologi.....	14
4.	Patofisiologi dan patologi.....	15
5.	Gambaran klinik.....	16
F.	Antibakteri.....	17
1.	Definisi antibakteri.....	17
2.	Mekanisme kerja antibakteri.....	17
2.1	Menghambat metabolisme sel mikroba.....	18
2.2	Menghambat sintesis dinding sel mikroba. ....	18
2.3	Mengubah permeabilitas membran sel bakteri. ....	18
2.4	Menghambat sintesis protein dan sel bakteri. ....	18
2.5	Menghambat sintesis asam nukleat dan protein.....	18
G.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
H.	Media.....	20
I.	Kotrimoksazol.....	20
J.	Landasan Teori.....	21
K.	Hipotesis .....	22
BAB III METODE PENELITIAN .....		24
A.	Populasi dan Sampel .....	24
B.	Variabel Penelitian .....	24
1.	Identifikasi variabel utama .....	24
2.	Klasifikasi variabel utama .....	24
3.	Definisi operasional variabel utama .....	25
C.	Alat dan Bahan.....	26
1.	Alat .....	26
2.	Bahan.....	26
2.1	Bahan utama. ....	26
2.2	Bahan kimia. ....	26
2.3	Medium.....	26

2.4	Bakteri Uji. ....	26
D.	Jalannya Penelitian.....	27
1.	Determinasi dan identifikasi tumbuhan.....	27
2.	Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun singkong ....	27
3.	Penetapan kadar lembab .....	27
4.	Pembuatan ekstrak daun singkong secara maserasi .....	27
7.	Pengujian kandungan kimia ekstrak daun singkong .....	28
7.1	Identifikasi flavonoid. ....	28
7.2	Identifikasi saponin. ....	29
7.3	Identifikasi tanin. ....	29
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	29
9.	Identifikasi bakteri uji.....	29
9.1	Identifikasi bakteri secara makroskopis. ....	29
9.3	Identifikasi bakteri uji secara biokimia.....	30
11.	Pengujian aktivitas antibakteri daun singkong .....	31
10.1	Pengujian antibakteri secara difusi.....	31
10.2	Pengujian antibakteri secara dilusi .....	32
E.	Analisis Data.....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		37
A.	Hasil Penelitian .....	37
1.	Hasil identifikasi tanaman singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz.) .....	37
1.1	Determinasi tanaman. ....	37
1.2	Deskripsi tanaman. ....	37
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan seruk daun singkong .....	38
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun singkong ....	39
4.	Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun singkong .....	39
5.	Hasil uji bebas etanol .....	40
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong.....	40
7.	Hasil fraksinasi ekstrak daun singkong .....	41
7.1	Fraksi <i>n</i> -heksan. ....	42
7.2	Fraksi etil asetat. ....	42
7.3	Fraksi air. ....	43
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	43
9.	Hasil identifikasi bakteri uji.....	44
9.1	Identifikasi bakteri makroskopis secara goresan .....	44
9.3	Identifikasi bakteri uji secara biokimia .....	44
10.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun singkong.....	46
10.1	Hasil pengujian antibakteri secara difusi.....	46
10.2	Hasil pengujian antibakteri daun singkong secara dilusi .....	49
BAB V KESIMPILAN DAN SARAN.....		51

A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA .....	52
LAMPIRAN .....	57

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	5
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun singkong.....	34
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun singkong .....	34
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri <i>Shigella dysentriae</i> ATCC 9361 murni dengan metode difusi. ....	35
Gambar 5. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun singkong terhadap <i>Shigella dysentriae</i> ATCC 9361 secara dilusi. ....	36

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun singkong .....	38
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun singkong .....	39
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun singkong .....	39
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun singkong.....	40
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong.....	40
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) .....	41
Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air.....	42
Tabel 8. Hasil identifikasi uji secara biokimia ( <i>Shigella dysenteriae</i> ).....	44
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun singkong terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara difusi.....	46
Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi air daun singkong terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi daun singkong .....	58
Lampiran 2. Foto daun dan serbuk daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	59
Lampiran 3. Foto ekstrak dan fraksinasi daun singkon .....	60
Lampiran 4. Alat penelitian.....	61
Lampiran 5. Foto hasil uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong.....	62
Lampiran 6. Hasil identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara makroskopis dan mikroskopis.....	64
Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara biokimia.....	65
Lampiran 8. Hasil uji antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara difusi .....	67
Lampiran 9. Hasil uji antibakteri fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara dilusi.....	68
Lampiran 10. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah .....	69
Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	70
Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air dari daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	70
Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air pada metode difusi.....	72
Lampiran 14. Pembuatan larutan stok dengan berbagai konsentrasi pada metode dilusi .....	73
Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media .....	76

Lampiran 16. Statistik .....	79
------------------------------	----



## INTISARI

**PUTRYANI, A., 2018 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman yang telah banyak digunakan masyarakat dalam bidang pengobatan. Daun singkong mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi paling aktif dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Dilanjutkan dengan fraksinasi ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. Pengujian terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk mengetahui fraksi teraktif kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi teraktif. Konsentrasi yang digunakan pada metode difusi adalah 50%, 25%, 12,5% dan pada metode dilusi digunakan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Diameter zona hambat yang paling besar yaitu fraksi etil asetat pada konsentrasi 50%, fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. sehingga dilanjutkan dengan metode dilusi. Hasil dilusi menunjukkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum 12,5%.

---

Kata kunci : Daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz), *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, antibakteri

## ABSTRACT

**PUTRYANI, A., 2018, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF n-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE, AND WATER FROM CASSAVA ETHANOL EXTRACT (*Manihot esculenta* Crantz) AGAINST *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) are plants that have been widely used in the field of medicine. Cassava leaves contain flavonoid, saponin and tannin compounds. This study aims to determine the antibacterial activity of *n*-hexane, ethyl acetate, and water fractions from ethanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) on the *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 bacteria and to determine the value of Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Kill Concentration of the most active fraction of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

The method used in this research is maceration method using 70% ethanol solvent. The fractionation of the extracts was then fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Testing of *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 bacteria using diffusion and dilution methods. Diffusion method to find out the most active fraction then proceed with the dilution method to find out the minimum active fraction concentration. The concentrations used in the diffusion method were 50%, 25%, 12.5% and the dilution method used 50% concentration; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.78%; 0.39%.

The results showed that the *n*-hexane, ethyl acetate and water fractions had antibacterial activity against the *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. The largest inhibitory zone diameter was ethyl acetate fraction at 50% concentration, ethyl acetate fraction was the most active fraction against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. so that it continues with the dilution method. The results of the dilution indicate the value of the Minimum Kill Concentration of 12.5%.

**Keywords:** Cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz), *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction, antibacterial

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Penyakit infeksi merupakan ancaman yang sangat besar untuk umat manusia. Infeksi ditimbulkan karena adanya agen infeksius yang menyerang tubuh manusia, baik secara langsung maupun melalui perantara. Agen infeksius dapat berupa bakteri, virus, jamur, dan parasit (Arias 2003).

Disentri merupakan suatu infeksi akut radang colon yang disebabkan kuman genus *Shigella*. Disentri ditularkan secara oral melalui air, makanan, lalat yang tercemar oleh pasien. Penyakit ini berlangsung dari beberapa jam sampai tiga hari. Adapun gejala yang timbul yaitu defekasi sedikit-sedikit, sakit perut dengan rasa kolik, mejan, muntah-muntah dan sakit kepala (Noer *et al.* 1996).

*Shigella* dapat menular melalui makanan, jari-jari tangan, feses, dan lalat dari orang yang terinfeksi ke orang normal. Kebanyakan penyakit ini terjadi pada umur 1-10 tahun dan menjadi suatu masalah kesehatan yang sangat penting untuk diperhatikan, karena pada penyakit ini penderita dapat mengalami diare yang hebat hingga 20-30 kali sehari yang dapat mengakibatkan penderita kehilangan cairan tubuh dan bila tidak segera diatasi dehidrasi tersebut akan dapat mengakibatkan terjadinya kematian (Jawetz *et al.* 2005).

*Shigella dysenteriae* merupakan salah satu bakteri penyebab disentri. *Shigella dysenteriae* menghasilkan endotoxin sebagai penyebab iritasi dinding usus. Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri ini adalah disentri basilar dengan gejala sakit perut, nyeri, diare dan demam, tinja encer mengandung lendir dan darah (Suryono 1995).

Salah satu pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri yaitu dengan pemberian antibiotik. Perkembangan resistensi *Shigella dysenteriae* terhadap antibiotik semakin meluas sehingga untuk pengobatannya diperlukan alternatif lain (Harun 2009). Menurut Laporan *World Health Organization* (2005),

bakteri genus *Shigella* resisten terhadap multi antibiotik sebagai akibat pemakaian antibiotik yang tidak tepat. Oleh karena itu sudah banyak ditemukan bakteri *Shigella dysenteriae* yang resisten terhadap banyak antibiotik, maka dalam penelitian ini digunakan obat dari tanaman tradisional untuk diuji aktivitas antibakterinya. Tanaman obat sering dipilih sebagai alternatif dalam pengobatan karena lebih mudah ditemukan dan digunakan oleh masyarakat.

Indonesia, dikenal lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, namun  $\pm 1.000$  jenis tumbuhan yang baru terdata dan yang dimanfaatkan  $\pm 300$  sebagai obat tradisional. Bahan obat tradisional baik yang berasal dari hewan maupun dari tumbuhan banyak digunakan untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan sejak zaman dahulu. Pengobatan dengan obat tradisional tersebut merupakan salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan dasar masyarakat di bidang kesehatan (Dalimartha 2005).

Salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia yang manfaatnya banyak dikembangkan adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz). Daun singkong merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat, salah satunya untuk mengobati disentri. Karena daun singkong memiliki beberapa kandungan senyawa diantaranya flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Auronita 2016).

Hasil penelitian tentang tanaman daun singkong memiliki kandungan flavanoid, saponin dan tanin. Penelitian sebelumnya yang di lakukan oleh Auronita diketahui bahwa ekstrak etanol dari daun singkong memiliki aktivitas terhadap bakteri *Shigella dysentriae* yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Shigella dysentriae* kategori lemah samapai sedang. Sehingga Peningkatan konsentrasi ekstrak berpengaruh pada peningkatan diameter zona hambat (Auronita 2016).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi. Penelitian ini menggunakan metode difusi untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae* dengan cara melihat diameter zona hambat, sehingga dapat diketahui ekstrak atau fraksi teraktifnya. Ekstrak atau fraksi yang telah diketahui dilanjutkan dengan metode dilusi untuk

menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

### **B. Perumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

Kedua, manakah dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

Ketiga, berapakah nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi paling aktif dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, untuk mengetahui manakah yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif diantara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Ketiga, untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi paling aktif dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, informasi, dan tambahan pengetahuan kepada masyarakat luas dalam bidang farmasi khususnya mengenai aktivitas daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. khususnya dengan lebih memanfaatkan tanaman ini untuk pengobatan tradisional dan menambah wawasan tentang sumber obat alami dari tumbuhan yang terdapat di Indonesia. Penelitian ini diharapkan berguna bagi peneliti lain sebagai acuan atau tambahan informasi dalam melakukan penelitian terhadap daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai antibakteri.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Daun Singkong

#### 1. Sistematika daun singkong

Kedudukan tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dalam sistematika taksonomi adalah sebagai berikut:



**Gambar 1. Tanaman daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)**

#### Klasifikasi Tanaman Singkong

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae (Biji berkeping dua)
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: Manihot
Jenis	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz (Purwono dan Purnamawati 2007)

#### 2. Nama daerah

Singkong atau ketela pohon mempunyai banyak nama daerah seperti ketela, keutila, ubi kayee (Aceh), ubi parancih (Minangkabau), ubi singkung (Jakarta), batata kayu (Manado), sampeu (Sunda), bolet, kasawe, kasper, kaspe, ketela budin, katela jendral, katela kasper, katela mantri, katela marikan, katela menyog, katela

poung, katela prasman, katela sabekong, katela samunah, katela tapah, katela cengkol, telo pohung (Jawa), blandong, manggala menyok, puhung, pohog, sabhrang balandha, sawe, sawi, tela balandha, tengsag (Madura), kesawi, ketela kayu, sabrang sawi (Bali), kasubi (Gorontalo), lame kayyu (Makasar), lame aju (Bugis), kasibi (Ternate, Tidore) (Purwono 2009).

### 3. Morfologi tanaman

**3.1 Akar.** Akar pada tanaman singkong merupakan akar tunggang dan termasuk tumbuhan dikotil. Dalam akar inilah tanaman singkong menyimpan cadangan makanan, dan juga akan membesar hingga membentuk umbinya ubi kayu. Tanaman singkong memiliki sistem perakaran serabut, panjang akar 30-50 cm dengan diameter 2-5 cm, akar dapat tumbuh bercabang 4-8 di dasar batang. Akar ditutupi dengan lapisan berwarna coklat berserat atau dapat disebut kulit ari, bagian dalamnya daging berwarna putih atau kekuning-kuningan bergetah dan bentuknya lebih keras dari pada kentang namun tetap sama mengandung kadar pati yang tinggi (Richardo 2012).

**3.2 Batang.** Batang pada tanaman singkong berbentuk bulat, panjang, berbuku-buku, tumbuh memanjang, berkayu, dan berlubang berisi empulur berwarna putih lunak dengan struktur seperti gabus memiliki warna batang bervariasi, ketika masih muda berwarna hijau dan setelah tua menjadi keputih-putihan, kelabu atau hijau kelabu, dalam batang berwarna putih kekuning-kuningan, memiliki panjang 3 m dengan diameter setebal 2-4 cm dengan bentuk batang berruas-ruas (Tjitrosoepomo 2005).

**3.3 Daun.** Daun pada tanaman singkong termasuk daun tunggal (folium simplek) yang bertulang daun (nervatio/ veneratio) berbentuk menjari (palminervis) bercabang 5-9, jenis daun tunggal, berwarna hijau (berklorofil), tangkai daun berwarna merah, ujung daun lancip dengan bertangkai panjang dan berwarna kemerahan. Mempunyai tepi daun (margo folii) berbentuk rata (integer) daun singkong memiliki tangkai (petiolus) yang panjang dan helaian daunnya menyerupai telapak tangan, dan setiap tangkai mempunyai daun sekitar 3-8 lembar. Selain itu, daun singkong juga bersifat cepat luruh yang berumur paling lama hanya beberapa bulan. Daun singkong ini berwarna hijau muda ketikamasih



muda dan dapat digunakan untuk menetralkan rasa pahit sayuran lainnya, namun ketika sudah tua berwarna hijau tua (Richardo 2012)

**3.4 Bunga.** Bunga pada tanaman singkong merupakan bunga berumah satu (monoeseus) dengan penyerbukan silang. Bunga ini memiliki tenda bunga tunggal yang berukuran 1 cm. Bunga ini berada dalam tandan yang tidak rapat dan terkumpul pada ujung batang. Bunga betina pada tanaman singkong ini berbentuk seperti cincin dengan tangkai putik (stylus) yang bersatu. Bunga betina juga memiliki tenda bunga serta tonjolan penebalan dasar bunga (receptaculum) yang berwarna kuning mengelilingi calon buah. Sedangkan bunga jantan pada tanaman singkong mempunyai tenda bunga yang berbentuk lonceng dan tertancap disekitar penebalan dasar bunga serta berlekuk (Richardo 2012).

**3.5 Buah.** Buah pada tanaman singkong disebut sebagai umbi. Umbi pada tanaman singkong terbentuk dari akar yang berubah bentuk dan fungsinya sebagai tempat penyimpanan makanan cadangan. Bentuk umbi pada tanaman singkong bermacam-macam, namun kebanyakan berbentuk silinder, bercabang, meruncing, bulat, dan memanjang. Sedangkan daging umbi mengandung zat pati berwarna putih gelap dan tanaman menghasilkan 5-10 buah (Richardo 2012).

#### **4. Khasiat tanaman**

Daun singkong digunakan untuk melawan berbagai gangguan seperti rematik, demam, diare, disentri, dan kehilangan nafsu makan. Selain itu juga telah di laporkan dapat menunjukkan aktivitas antimikroba, antibakteri, antihemoroid dan anti inflamasi. Daun singkong kaya akan makro dan mikro nutrisi (Chavez 2000). Daun singkong banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional, antara lain sebagai anti kanker, mencegah kontipasi dan anemia, serta meningkatkan daya tahan tubuh. Kandungan vitamin dan mineralnya rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan sayuran daun lain. Kandungan vitamin A dan C pada daun singkong berperan sebagai antioksidan yang mencegah proses penuaan dan meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit. Kandungan kalsium yang tinggi sangat baik untuk mencegah penyakit tulang seperti rematik dan asam urat (Adi 2016).

Diketahui dari berbagai analisis, daun singkong dapat membantu mengubah karbohidrat menjadi energi, membantu pemulihan kulit dan tulang, meningkatkan daya ingat, kinerja otak dan metabolisme asam amino lain. Kandungan serat pada daun singkong yang cukup tinggi dapat membantu melancarkan buang air besar. Dalam setiap 100 gram daun singkong mengandung 3.300 RE vitamin A yang baik untuk kesehatan mata dan vitamin C sebanyak 275 mg yang baik untuk mencegah sariawan, dan meningkatkan kekebalan tubuh, membantu menangkal radikal bebas, mengurangi rasa sakit, mempercepat penyembuhan, anti bakteri dan melindungi sel dari kerusakan oksidasi. Selain itu daun singkong juga berkhasiat untuk mengatasi rematik dan mencegah proses penuaan (Sintia & Murhananto 2004).

## **5. Kandungan kimia**

Daun singkong memiliki berbagai kandungan yaitu, flavonoid, saponin, tannin, vitamin A dan vitamin C (Depkes RI, 2005 ; Fasuyi, 2005; Okeke, 2007). (Sastroamidjojo, 2001 ; Popola, 2007 ; Yuniarti, 2008 ; Okpuzor, 2009). Kandungan gizi tanaman singkong terutama selain umbinya yang bisa dimanfaatkan untuk bahan pangan adalah bagian daunnya, bagian daunnya menyimpan berbagai macam protein yang cukup tinggi, dapat digunakan sebagai sumber energi yang setara dengan karbohidrat yakni dalam 100 gram daun singkong mengandung 73 kalori, 6,8 gram protein, 1,2 gram lemak, 13 gram karbohidrat, 165 mg kalsium, 54 mg fosfor, 2mg zat besi, 11.000 SI vitamin A, 0,12 mg vitamin B, 275 mg vitamin C, 77,2 gr air (Rukamana 2002; Hariana 2006). Kandungan mineral yaitu berupa kalsium 165mg, zat besi 2,8 mg, thiamin 0,16mg, riboflavin 0,32 mg, beta-karoten 0,08mg, niasin 1,8mg, dan asam askorbin 82 mg (Ayu 2002). Kandungan pada daun singkong yang diduga berperan sebagai antibakteri antara lain flavonoid, saponin, dan tanin (Aulia 2013).

**5.1. Flavonoid.** Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid juga memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga pada umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, air,

dan sebagainya. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Dewanti dan Wahyudi 2011).

**5.2. Saponin.** Saponin adalah suatu glikosida yang ada pada banyak macam tanaman. Saponin berada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi di bagian-bagian tertentu yang dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat membentuk sabun, pada konsentrasi rendah dapat menghemolisis sel darah merah. Penyarian senyawa saponin akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antibakteri bila menggunakan pelarut etanol 70%. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

**5.3. Tanin.** Senyawa tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks. Efek antibakteri tanin mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas sel, sel tidak bisa melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat (Dewanti dan Wahyudi 2011). Tanin tergolong senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks. Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak larut dalam pelarut organik non polar (Jayanegara *et al.* 2008).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia berasal dari kata simple yang berarti satu atau sederhana. Oleh karena itu istilah simplisia dipakai untuk menyebutkan bahan obat yang masih alami dan belum mengalami perubahan bentuk atau umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi berdasarkan 3 golongan, yaitu: simplisia

nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan/mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh. Simplisia hewani adalah bagian hewan yang masih utuh, belum diolah atau diolah dengan sederhana. Simplisia mineral sama dengan hewani dan nabati belum mengalami pengolahan dan masih berbentuk bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

## **2. Pemilihan simplisia**

Pemilihan simplisia merupakan suatu proses yang berguna untuk memisahkan simplisia dari bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah yang sangat kecil dan biasanya terdapat dalam simplisia yang umumnya bersifat merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, dan tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes 2010).

## **3. Pengambilan simplisia**

Pengumpulan bahan baku merupakan tahapan penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Dalam tahap ini faktor yang berperan penting adalah waktu panen. Waktu panen simplisia sangat berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam bagian tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal (Depkes 2010).

## **4. Pencucian dan pengeringan simplisia**

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Pencucian dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara dan kelembaban bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani

2004). Kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% , kadar lembab kurang dari 10% menyebabkan sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

### **C. Ekstraksi**

#### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Rahmawati 2010). Berdasarkan konsistensinya ekstrak dibagi menjadi tiga, yaitu ekstrak cair, kental, dan kering. Ekstrak cair merupakan sediaan cair hasil dari penyarian simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak kering merupakan sediaan berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan menggunakan pelarut sampai kering (Khoirani 2013).

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, atau cair, dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, soxletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Cairan penyari yang dapat digunakan berupa air, eter atau campuran etanol dalam air (Anief 2003).

#### **2. Maserasi**

Metode ekstraksi maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Metode ekstraksi maserasi dipilih karena memiliki banyak keuntungan dibandingkan metode ekstraksi lainnya. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI 2000).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan

konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

### **3. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mulai-mulai 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 non polar, kemudian disari dengan pelarut kurang polar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harbone 2007).

### **4. Cairan penyari**

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak memengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986). Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air etanol, atau pelarut lain.

**4.1 Etanol.** Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai extractive power yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014). Pelarut etanol lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Karena hampir semua komponen diidentifikasi dari tanaman yang aktif terhadap mikroorganisme adalah senyawa organik aromatik atau jenuh, mereka paling sering diperoleh melalui etanol atau ekstraksi metanol. Metanol lebih polar dari pada etanol tetapi karena sifat sitotoksik, maka metanol tidak cocok untuk uji aktivitas antibakteri karena dapat menyebabkan hasil yang salah (Tiwari *et al.* 2011).

**4.2 n-Heksan.** Pelarut n-heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011).

**4.3 Etil asetat.** Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani & Sulistyani 2012). Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

**4.4 Air.** Air adalah pelarut universal, digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Air digunakan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan minyak menguap, glikosida, flavonoid, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pektin, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes 1986; Tiwari *et al.* 2011).

#### **D. Sterilisasi**

Bahan atau peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang dilakukan (Waluyo 2004).

Tindakan sterilisasi yang dapat dilakukan meliputi: pertama, sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar UV, dan dengan radiasi. Kedua, sterilisasi secara kimiawi yaitu memakai

bahan kimia misal dengan menggunakan desinfektan larutan alkohol dan larutan formalin. Ketiga, sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri. Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam, alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawiria 2005).

### **E. *Shigella dysenteriae***

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri Gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik yang dengan beberapa kekecualian tidak meragikan laktosa namun meragikan karbohidrate lainnya, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Habitat alamiah shigella terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basiler.

#### **1. Klasifikasi bakteri *shigella dysentiae***

Menurut Raharja (2006), bakteri *Shigella dysenteriae* memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria.
Devisi	: Proteobacteria.
Sub devisi	: Gamma proteobacteria.
Kelas	: Enterobacteriales.
Ordo	: Enterobacteriaceae.
Marga	: Shigella.
Jenis	: <i>Shigella dysenteriae</i> .

#### **2. Morfologi**

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri Gram negatif, bakteri yang memiliki morfologi batang ramping, tidak berkapsul, tidak bergerak, tidak membentuk spora, tidak bermotil, bersifat fakultatif anaerobik, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Bentuk cocobasil dapat terjadi pada biakan muda (Jawetz *et al.* 2011). *Shigella* adalah fakultatif anaerob namun paling baik



tumbuh secara aerobik. Koloninya konveks, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir utuh mencapai diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam.

*Shigella* mempunyai susunan antigen yang kompleks. Terdapat banyak tumpang tindih dalam sifat serologic berbagai spesies dan sebagian besar kuman ini mempunyai antigen O yang juga dimiliki oleh kuman enterik lainnya. Antigen somatic O dari *shigella* adalah lipopolisakarida. Kekhususan serologinya tergantung pada polisakarida. Klasifikasi *shigella* didasarkan pada sifat-sifat biokimia dan antigenetic (Jawetz *et al.* 2012)

### **3. Toksik**

Endotoksin, saat terjadi autolisis *Shigella* melepaskan lipopolisakarida toksik. Endotksin berperan dalam menimbulkan iritasi dinding usus, mampu menginvasi ke epitel sel mukosa usus halus, berkembang biak lalu mengeluarkan toksin yang merangsang terjadinya perubahan sistem enzim di dalam mukosa. Eksotoksin merupakan suatu protein yang bersifat antigenik (menstimulasi pembentukan antitoksik), sebagai enterotoksin yang menyebabkan diare. Eksotoksin menghambat penyerapan gula dan asam amino di usus halus pada manusia. Aktivitas toksin ini berbeda dari sifat invasif *Shigella* pada disentri, keduanya dapat bekerja berurutan, pada awalnya toksin menyebabkan diare hebat dan tidak berdarah kemudian terjadi invasi pada usus besar menyebabkan disentri lanjut yang disertai darah dan pus dalam fases (Jawetz *et al.* 2012).

### **4. Patofisiologi dan patologi**

Infeksi *Shigella* hampir selalu terbatas disaluran cerna, jarang terjadi invasi ke aliran darah. *Shigella* sangat mudah menular. Mikroabses pada dinding kolondan ileum terminalis menyebabkan nekrosis membran mukosa, ulserasi superfisial, pendarahan dan terbentuknya pseudomembran pada area yang mengalami ulserasi. Mikroabses ini terdiri atas fibrin, leukosit, debris sel, membran mukosa nekrotik, dan bakteri. Saat proses ini mereda, jaringan granulasi mengisi ulkus dan terbentuk jaringan partu (Jawetz *et al.* 2012).

Bakteri *Shigella dysenteriae* menyebabkan kerusakan pada epitel usus besar, mengarah pada pembentukan micro ulcer, inflamasi eksudat, menyebabkan inflamasi sel (leukosit polimorf nuklear, PMN) dan darah muncul tinja. Bakteri ini

masuk ke dalam tubuh manusia melalui air dan makanan yang telah tercemar bakteri disentri yang dikonsumsi. Sekali dikeluarkan, bakteri ini sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan dan akan mati dengan cepat, terutama ketika kondisi kering atau terkena sinar matahari (Jawetz *et al.* 2010).

## **5. Gambaran klinik**

Setelah masa inkubasi yang singkat (1-2 hari), mendadak timbul nyeri abdomen, demam, dan diare cair. Diare disebabkan oleh kerja eksotoksin di usus halus. Sehari atau beberapa hari kemudian, saat infeksi mengenai uleum dan kolon, jumlah feses bertambah dan menjadi tidak terlalu cair, tetapi sering mengandung lendir dan darah. Pada anak-anak dan lansia, kehilangan cairan dan elektrolit dapat menyebabkan dehidrasi, asidosis, dan bahkan kematian. *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan penyakit menjadi sangat parah (Jawetz *et al.* 2012).

Pada fase penyembuhan kebanyakan pasien hanya mengekresikan kuman disentri dalam periode yang singkat, tetapi beberapa diantaranya tetap menjadi pembawa kuman usus menahun dan dapat mengalami serangan penyakit berulang-ulang. Ketika sembuh dari infeksi, sebagian besar pasien membentuk antibodi terhadap *Shigella* dalam darah, tetapi antibodi ini tidak mencegah terjadinya infeksi ulang (Jawetz *et al.* 2012).

## **6. Pengobatan *dysentriae***

Antibiotik terpilih untuk infeksi *Shigella* adalah siprofloksasin, ampisilin, tetrasiklin, dan kotrimoksazol (Jawetz *et al.* 2010). Menurut pedoman WHO lini pertama untuk mengatasi infeksi *Shigella dysenteriae* adalah dengan pemberian antibiotik siprofloksasin. Golongan kuinolon telah dilaporkan dapat menyebabkan artropati pada hewan belum dewasa, karena itu tidak disarankan penggunaannya pada anak dan remaja. Penggunaan kuinolon pada anak dapat dilakukan pada beberapa kondisi dengan mempertimbangkan munculnya efek samping kerusakan tulang sendi yang minimal dapat sebanding dengan efek farmakologi yang potensial untuk mengatasi penyakit yang dapat menyebabkan kematian jika tidak ditangani dengan segera (WHO 2005). Siprofloksasin merupakan antibiotik

berspektrum luas sehingga efektif untuk melawan bakteri Gram positif maupun negatif. Siprofloksasin bekerja dengan menghambat aktivitas enzim DNA girase (topoisomerase II) sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Oliphant & Green 2002).

Pengobatan lini kedua dapat digunakan adalah seftriakson yang saat ini merupakan kondisi yang efektif untuk mengobati multi-resisten dari *Shigella sp.* pada semua usia. Azitromisin juga dipertimbangkan untuk pilihan alternatif pasien dewasa. Penggunaan obat-obat alternatif ini memiliki beberapa kekurangan yaitu harganya mahal (azitromisin), mudah menyebabkan resistensi (azitromisin), formulasinya (seftriakson harus dijelaskan), dan data efikasinya masih terbatas (seftriakson, azitromisin) (WHO 2005).

## **F. Antibakteri**

### **1. Definisi antibakteri**

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Obat pembasmi bakteri bersifat toksisitas selektif setinggi mungkin dalam arti bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antibakteri terdapat dua sifat yaitu menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteristatik) dan membunuh bakteri (aktivitas bakterisid). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok, yaitu mengganggu metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri dan menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (Gunawan *et al.* 2009).

### **2. Mekanisme kerja antibakteri**

Antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok mekanisme kerja, yaitu : mengganggu metabolisme dinding sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis

protein sel bakteri, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Radji 2010).

**2.1 Menghambat metabolisme sel mikroba.** Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Gunawan *et al.* 2009).

**2.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba.** Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan *et al.* 2009).

**2.3 Mengubah permeabilitas membran sel bakteri.** Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan *et al.* 2009).

**2.4 Menghambat sintesis protein dan sel bakteri.** Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Antibakteri bekerja dalam menyebabkan kode pada mRNA yang salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba (Gunawan *et al.* 2009).

**2.5 Menghambat sintesis asam nukleat dan protein.** Contoh pada rifampisin yang berikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel mikroba begitu juga dengan golongan kuinolon yang menghambat enzim DNA girase pada kuman yang berfungsi membentuk kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa memuat sel kuman yang kecil sekalipun (Gunawan *et al.* 2009).

### G. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi atau pengenceran (Jatwez *et al.* 2010).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan jari-jari zona penghambatan di sekeliling sumur uji terhadap bakteri yang digunakan sebagai penguji (Nurainy *et al.* 2008).

Metode dilusi dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) masing-masing fraksi terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap metabolisme sel mikroba, sintesis dinding sel, penghambatan terhadap permeabilitas membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, dan penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Secara garis besar bakteri gram positif lebih rentan terhadap antibakteri karena memiliki lapisan peptidoglikan pada bagian luar yang permeabel sedangkan bakteri Gram negatif memiliki membran fosfolipid yang tersusun atas polisakarida sehingga membuat dinding sel gram negatif impermeabel terhadap antibakteri (Ravikumar *et al.* 2011).

Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada uji dilusi. Hasil KBM diperoleh dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pelarut DMSO membantu melarutkan fraksi polar, semi polar, dan non polar sehingga fraksi dapat terdistribusi merata pada media. Kadar obat di bawah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan bahwa efek terapi tidak akan tercapai. Nilai KBM suatu obat terhadap bakteri berubah sesuai perkembangan resistansinya. Fraksi teraktif diujikan secara difusi untuk mengetahui konsentrasi

hambat minimum (KHM). Nilai diameter hambat adalah kemampuan dari fraksi teraktif daun singkong untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Prasetyo 2012).

### **H. Media**

Media adalah substansi yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Media harus dalam keadaan steril sebelum digunakan untuk suatu penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media yang digunakan dalam mikrobiologi harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Steril, tidak ditumbuhi oleh mikroba yang tidak diharapkan dan bersifat toksik. Media berfungsi antara lain untuk membunuh mikroba, untuk mengisolasi mikroba, untuk identifikasi maupun deferensiasi (Suriawiria 2005).

### **I. Kotrimoksazol**

Kotrimoksazol dalam penelitian ini digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri dan memiliki frekuensi terjadinya resistensi yang lebih rendah. Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol digunakan dalam bentuk kombinasi karena sifatnya sinergistik. Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatis obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Spektrum antibakteri trimetoprim sama dengan sulfametoksazol. *Shigella sp.* merupakan salah satu mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol. Mekanisme antibakterinya berdasar atas kerjanya pada tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatis untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin dan beberapa asam amino. Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara sangat selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walaupun mikroba telah resisten terhadap trimetoprim. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap kedua komponen (Gunawan *et al.* 2009).

## J. Landasan Teori

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri penyebab utama penyakit disentri basiler. Disentri merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare cair akut, tinja pada penderita penyakit diketahui mengandung darah dengan atau disertai lendir. Pada umumnya disertai nyeri perut, demam, anoreksia, dan tenesmus. Darah tersebut biasanya berasal dari saluran cerna yang terluka dan sering berasal dari dinding usus besar. (Yatim 2001 :WHO 2005).

Tanaman herbal masih merupakan pilihan utama yang digunakan dalam pengobatan di beberapa belahan dunia. Salah satu tanaman obat yang digunakan oleh mayoritas masyarakat untuk mengobati diare adalah daun Singkong (*Manihot esculenta* Cranz.) yang memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Miladiyah, *et al.* 201; Nailul, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Auronita, 2016, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Pada uji regresi linier nilai signifikan  $< p\text{-value}$  (0,05), yang berarti bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri karena nilai  $R^2$  sebesar 93,3 % (mendekati 100%) menunjukkan bahwa secara statistika bahwa kedua variabel berhubungan, artinya peningkatan konsentrasi ekstrak daun singkong berpengaruh terhadap peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan persamaan regresi diketahui bahwa peningkatan 10% konsentrasi ekstrak daun singkong akan meningkatkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 1,25 mm. Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, akan tetapi penelitian tersebut belum sampai ke tahap fraksinasi. Penelitian ini dilanjutkan sampai tahap fraksinasi sehingga dapat diketahui fraksi teraktif terhadap bakteri *shigella dysenteriae*. Metode ekstraksi yang digunakan untuk daun

singkong adalah maserasi. Hasil dari ekstraksi akan dilanjutkan dengan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi yang aktif.

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011). Etil asetat merupakan senyawa semi polar dan dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013). Air melarutkan glikosida, flavonoid, tanin, dan gula (Depkes 2002).

Kotrimoksazol dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif . kotrimoksazol merupakan antibakteri kombinasi sulfametaksazol dan trimetropin. Keuntungan antibiotik kotrimoksazol adalah timbulnya resistensi lebih lambat dari pada komponen-komponennya sendiri. Hal ini sudah jelas, dikarenakan bakteri yang menjadi resistensi untuk satu komponen masih dapat dimusnahkan oleh komponen yang lain (Gunawan *et al.* 2009).

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dilakukan pada fraksi teraktif saja untuk mengetahui diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Metode dilusi dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sehingga didapatkan fraksi teraktif, dan setelah didapatkan fraksi teraktif dilanjutkan dengan metode difusi.

## **K. Hipotesis**

Berdasarkan teori dan hasil penelitian terdahulu, maka dapat ditentukan hipotesis sebagai berikut :

Pertama, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysentriae* ATCC 9361.



Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Ketiga, dapat menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi paling aktif dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang diperoleh dari Desa Krai, Kec Toroh, Kab Grobogan Jawa Tengah.

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang diambil pada bulan Januari 2018 dari populasi secara random kemudian dibuat ekstrak daun singkong. Tanaman singkong yang diambil daun yang masih muda, berwarna hijau, daun yang diambil yang masih segar, terbebas dari hama.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama adalah serbuk daun singkong yang diekstraksi dengan etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar.

Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol daun singkong terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang biasa diubah-ubah yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya, hasil yang didapatkan tidak menyebar dan dapat dilakukan peneliti lain secara tepat. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Shigella dysenteriae*, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkas, alat, dan bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, waktu panen, pemilihan daun, dan metode ekstraksi.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah berbagai variasi konsentrasi dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Shigella dysenteriae* yang dipengaruhi oleh ekstrak fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun singkong adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang diambil dari Desa Krai, Kec Toroh, Kab Grobogan Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yaitu serbuk yang diperoleh dari daun singkong yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir dimaksudkan agar kotoran yang menempel dapat hilang, dikeringkan dengan oven suhu 50°C, selanjutnya diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun singkong adalah hasil maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana daun singkong adalah ekstrak hasil maserasi kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat daun singkong adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air daun singkong adalah residu dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat daun singkong dengan pelarut air.

Ketujuh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* yang di dapat dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol terhadap daun singkong terhadap *Shigella dysenteriae* ditunjukkan dengan mengukur diameter zona hambat dengan metode difusi yaitu antibakteri tidak dapat langsung kontak dengan bakteri maka harus menembus

media agar, sehingga dapat kontak langsung dengan agar. Luas daerah hambat adalah daerah jernih di sekeliling cakram disk yang tidak ditumbuhi bakteri.

Kesembilan, metode dilusi dengan menentukan konsentrasi daya bunuh minimum (KBM) yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi sebagai berikut 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat yang digunakan antara lain : oven, blender untuk membuat serbuk, alat maserasi berupa botol mulut lebar warna coklat, gelas ukur, pembakar spirtus, kaki tiga, kertas saring, selang, corong penyaring, *rotary evaporator*, timbangan analitik, erlenmeyer, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan petri, inkas, jarum ose, pinset, vial, spuit, labu alas bulat, rak tabung, mikroskop, *moisture balance*, pipet ukur, corong pisah, autoklaf, inkubator.

#### 2. Bahan

**2.1 Bahan utama.** Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz). Daun singkong diperoleh dari Desa Krai di Jawa Tengah. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 biakan murni.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut *n*-heksana, etil asetat, etanol 70%, aquadestilata, serbuk Mg, FeCl<sub>3</sub>, safraninin (gram D), alkohol (gram C), larutan Kristal violet (gram A), larutan mordant (gram B), DMSO 5%, reagen mayer, reagen dragendrof.

**2.3 Medium.** Medium yang digunakan BHI (*Brain Heart Infusion*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), SIM (*Sulfida Indol Motility*), KIA (*Kligler Iron Agar*), LIA (*Lysine Iron Agar*), Citrat, SSA (*Salmonella Shigella Agar*).

**2.4 Bakteri Uji.** Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi dan identifikasi tumbuhan**

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah identifikasi daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang dilakukan di bagian Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret. Identifikasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri makroskopis dan mikroskopis, selain itu juga berfungsi untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

### **2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun singkong**

Daun singkong yang sudah disortasi basah, dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan dengan di oven pada suhu 50°C selama 2-3 hari yang bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no. 40.

### **3. Penetapan kadar lembab**

Penetapan kadar kelembaban serbuk daun singkong pada penelitian ini dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Penetapan kadar kelembaban serbuk daun singkong dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk ditimbang 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* yang telah di atur suhunya sebesar 110°C. Kemudian *moisture balance* ditutup dan ditunggu sampai ada bunyi pada alat sebagai tanda. Angka yang muncul dalam satuan persen pada alat *moisture balance* dicatat sebagai kadar kelembaban.

### **4. Pembuatan ekstrak daun singkong secara maserasi**

Pembuatan ekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun singkong sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol berwarna coklat, dengan ditambahkan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog berulang-ulang. Maserat yang didapatkan selama 5 hari diperas dengan kain flanel dan disaring. Filtrat yang didapat kemudian di pekatkan dengan *Vacum Rotatory*

*evaporator* dengan suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak kental dari daun singkong.

## 5. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak tercium bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri (Kurniawati 2015).

## 6. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun singkong kemudian dilarutkan dengan etanol 5 ml dan pelarut air 70 ml sampai terdispersi sempurna. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana 75 ml dilakukan menggunakan corong pisah. Fraksi *n*-heksana merupakan filtrat yang terletak di atas dan fraksi air merupakan filtrat yang terletak di bawah. Fraksi *n*-heksana kemudian dipisahkan dari fraksi air dan dipekatkan di *rotatory evaporator* pada suhu 40°C (Rahmawati *et al.* 2015).

Fraksi air sisa dari fraksi *n*-heksana kemudian difraksinasi kembali dengan 75 ml etil asetat hingga bening menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat merupakan filtrat yang terletak di atas dan fraksi air merupakan filtrat yang terletak di bawah. Fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi air kemudian dipekatkan di *rotatory evaporator* pada suhu 40°C (Rahmawati *et al.* 2015). Filtrat sisa fraksinasi dengan etil asetat adalah fraksi air yang kemudian dikentalkan di waterbath (Rahmawati *et al.* 2015).

## 7. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun singkong

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak daun singkong dan juga fraksi teraktif dari ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

**7.1 Identifikasi flavonoid.** Ekstrak sebanyak  $\pm 0,5$  g dicampurkan dengan aquadestilata. Setelah itu, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 0,5 mg bubuk Mg dan ditambahkan 1 ml HCl pekat dan ambil

alkohol. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah 2014).

**7.2 Identifikasi saponin.** Ekstrak sebanyak  $\pm 0,5$  g ditambahkan aquadestilata, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang menandakan adanya kandungan saponin (Ramyashree et al. 2012).

**7.3 Identifikasi tanin.** Ekstrak sebanyak  $\pm 0,5$  g ditambahkan aquadestilata sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan NaCl 10% lalu direaksikan dengan menambahkan FeCl<sub>3</sub>. Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree et al. 2012).

## **8. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dalam biakan murni diambil masing-masing satu ose dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi yang didapat distandartkan dengan *Mc Farland* 0,5. Pembuatan suspensi bakteri bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri (Bonang & Koeswardono 1982).

## **9. Identifikasi bakteri uji**

*Shigella dysenteriae* termasuk dalam famili Enterobacteriales. merupakan bakteri Gram negatif, bakteri yang memiliki morfologi batang ramping, tidak berkapsul, tidak bergerak, tidak membentuk spora, tidak bermotil, bersifat fakultatif anaerobik, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Bentuk cocobasil dapat terjadi pada biakan muda (Jawetz et al. 2011).

**9.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis.** Suspensi bakteri diinokulasi pada media SSA (*Salmonella Shigella Agar*), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil goresan menunjukkan koloni kecil, halus, konveks, dan permukaan rata.

**9.2 Identifikasi bakteri uji mikroskopis secara pewarnaan gram.** Bakteri *Shigella dysenteriae* pada pengamatan koloni, diambil satu ose kemudian dioleskan pada objek glass. Apusan bakteri pada objek glass ditetesi dengan Gram A (larutan violet)  $\pm$  1 menit kemudian dibilas dengan aquadest, ditetesi lagi dengan Gram B (lugol's iodine)  $\pm$  1 menit kemudian dibilas dengan aquadest, ditetesi lagi dengan Gram C (etanol 70%)  $\pm$  1 menit kemudian dibilas dengan aquadest, ditetesi lagi dengan Gram D (safranin) diamkan  $\pm$  1 menit kemudian dibilas dengan aquadest. Kemudian apusan bakteri pada objek glass yang telah dilakukan pengecatan dilihat di mikroskop lalu diamati dengan hasil dari pengamatan terlihat adanya bakteri. Identifikasi dapat di lihat pada lampiran 6.

**9.3 Identifikasi bakteri uji secara biokimia.** Identifikasi berdasarkan uji biokimia dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan Citrat.

**9.3.1 Media SIM (Sulfida Indol Motility).** Biakan murni diinokulasi pada permukaan media dengan cara diinokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila media berwarna hitam, uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah dengan reagen Erlich A dan B, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media (Anonim 2008). Pada *Shigella dysenteriae* hasilnya (- + -) artinya tidak terbentuk warna hitam (sulfida), terbentuk cincin merah dan bakteri tidak menyebar.

**9.3.2 Media KIA (Kliger Iron Agar).** Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Pada bagian miring, jika bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa, warna media berubah menjadi kuning.



Pada *Shigella dysenteriae* hasilnya K / A S- artinya terbentuk warna merah kuning serta tidak terbentuk warna hitam (Raihana 2011).

**9.3.3 Media LIA (Lysine Iron Agar).** Biakan bakteri diinokulasi tusukan dan goresan kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi berfungsi untuk menguji lisin dan sulfida. Selanjutnya diamati bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan berwarna coklat (ditulis R), berwarna ungu (ditulis K), berwarna kuning (ditulis A), serta terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil pada *shigella dysenteriae* ditunjukkan dengan K/AS- artinya terbentuk warna ungu kuning serta tidak menghasilkan warna hitam (Haryani 2012).

**9.3.4 Media Citrat.** Biakan bakteri diinokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indikator brom thymol blue menyebabkan warna biru pada media. Uji positif bila media berwarna biru dan negatif jika media tetap berwarna hijau. Hasil pada *shigella dysenteriae* ditunjukkan dengan hasil sitrat (-) atau terbentuk warna hijau (Sri 2016).

## 10. Sterilisasi

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan, dibungkus kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 200°C selama 1-2 jam dan media yang akan digunakan diuji mikrobiologi disterilkan dengan autoclave 121°C selama 15-20 menit (Sari *et al.* 2010).

## 11. Pengujian aktivitas antibakteri daun singkong

**10.1 Pengujian antibakteri secara difusi.** Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Ekstrak etanol daun singkong yang telah difraksinasi menggunakan fraksi *n*-Heksan, etil asetat, dan air masing-masing dibuat pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%. Metode difusi menggunakan 3 cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA sebanyak 30 ml. Secara aseptis pada cawan petri digoresi suspensi bakteri menggunakan lidi

steril dengan metode perataan (*Spread plate Method*) dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Uji ini menggunakan metode cakram disk. Cakram berukuran 6 mm dicelupkan masing-masing dalam ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, kotrimoksazol sebagai kontrol positif, dan pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif pada 3 seri konsentrasi fraksi dan direndam selama 2 jam. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset pada tiap cawan. Kemudian cawan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat di sekitar cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun singkong memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae*.

Metode cakram (*tes Kirby & Bauer*) menggunakan piringan atau cakram yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi 2008).

Pengujian ini dapat dievaluasi ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dengan melihat kemampuan ekstrak tersebut menghambat pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Daerah hambat yang terbentuk ditunjukkan dengan lingkungan bening disekitar cakram yang berisi larutan uji. Keuntungan dari metode difusi dibandingkan metode yang lain yaitu lebih ekonomis, sederhana, mudah dibuat, dan reproduksibel (Rostina 2007).

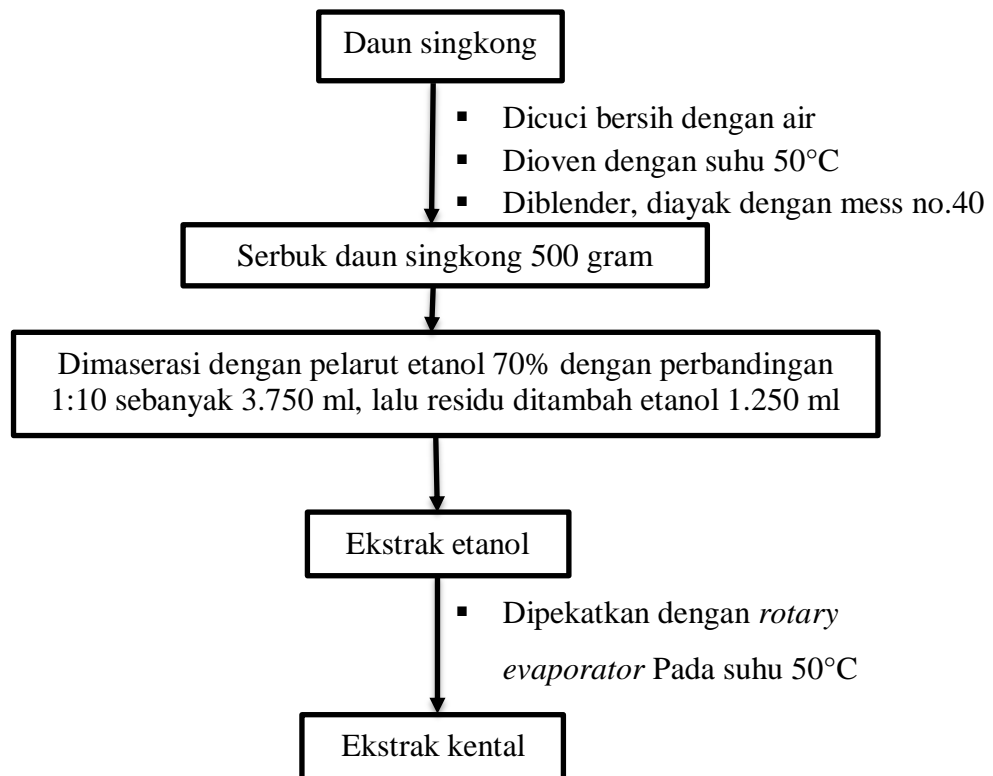
**10.2 Pengujian antibakteri secara dilusi.** Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif atau untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat menghambat bakteri uji. Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung yang terdiri dari 10 tabung. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 5%. Secara aseptis dari larutan

stok tersebut dibuat deret konsentrasi di bawahnya yaitu dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%, suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* sebagai kontrol positif (+) dan larutan stok fraksi sebagai kontrol negatif (-). Media BHI dimasukkan 1 ml pada tabung 3 sampai tabung 9. Secara aseptis, masukkan 2 ml larutan stok fraksi pada tabung 1 sebagai kontrol negatif (-), kemudian pada tabung 2 dan 3 dimasukkan 1 ml larutan stok fraksi, kemudian dari tabung 3 dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 9 kemudian dibuang. Tambahkan 1 ml biakan bakteri dari tabung 2 sampai tabung 9 dan 2 ml pada tabung 10 sebagai kontrol positif (+). Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya.

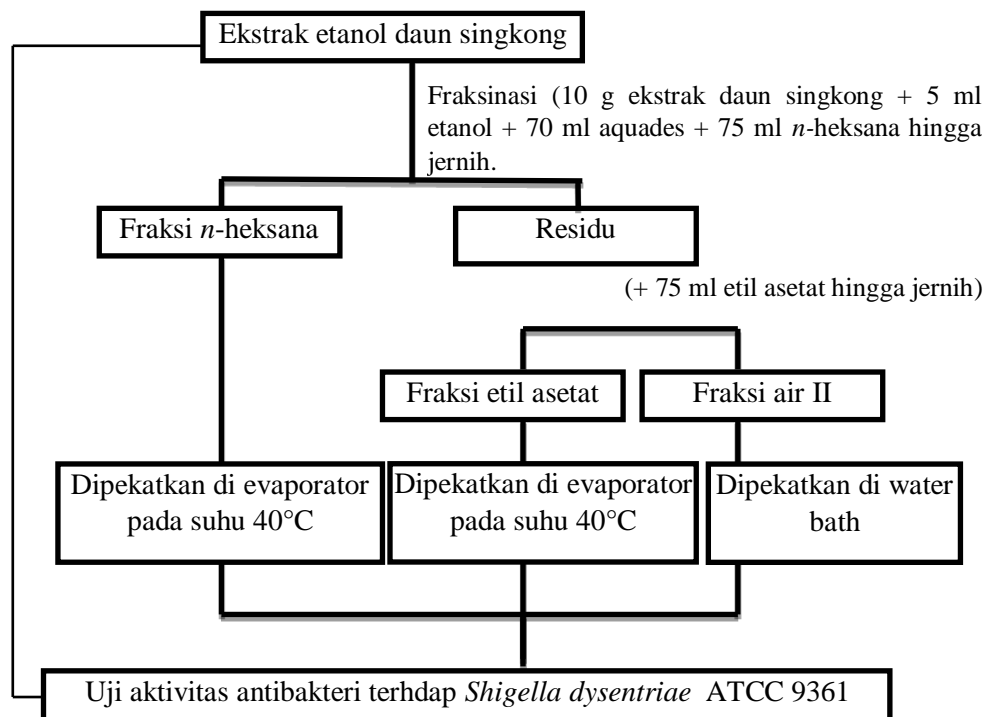
Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah larutan uji dari tabung yang jernih. Tabung yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif SSA (*Salmonella Shigella Agar*). diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media selektif SSA (*Salmonella Shigella Agar*) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

### **E. Analisis Data**

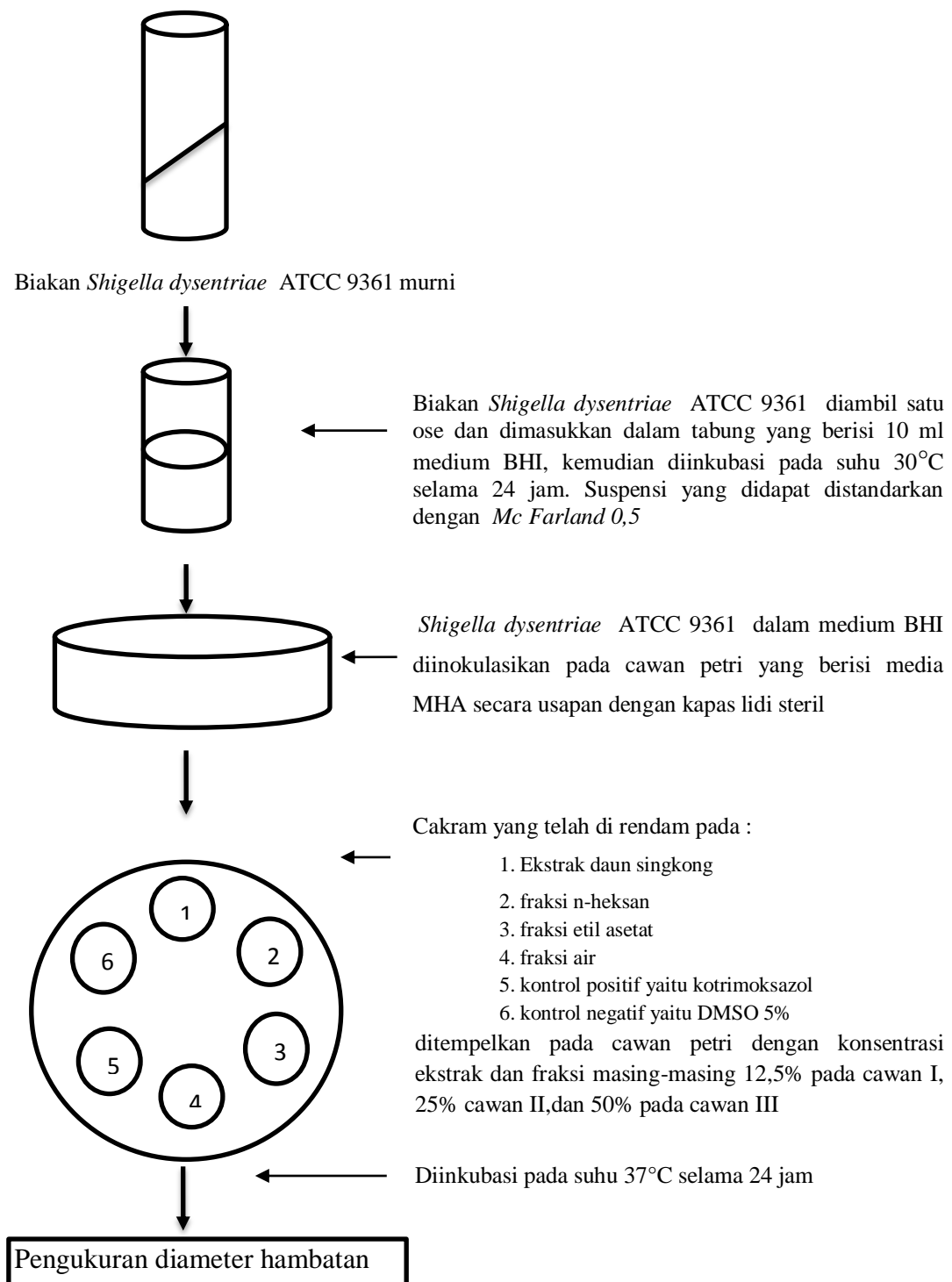
Hasil uji efektifitas antibakteri ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *shigella dysenteriae* ATCC 9361 murni menggunakan metode difusi dinyatakan dengan nilai zona hambat yang terbentuk. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik metode One Way Anova.



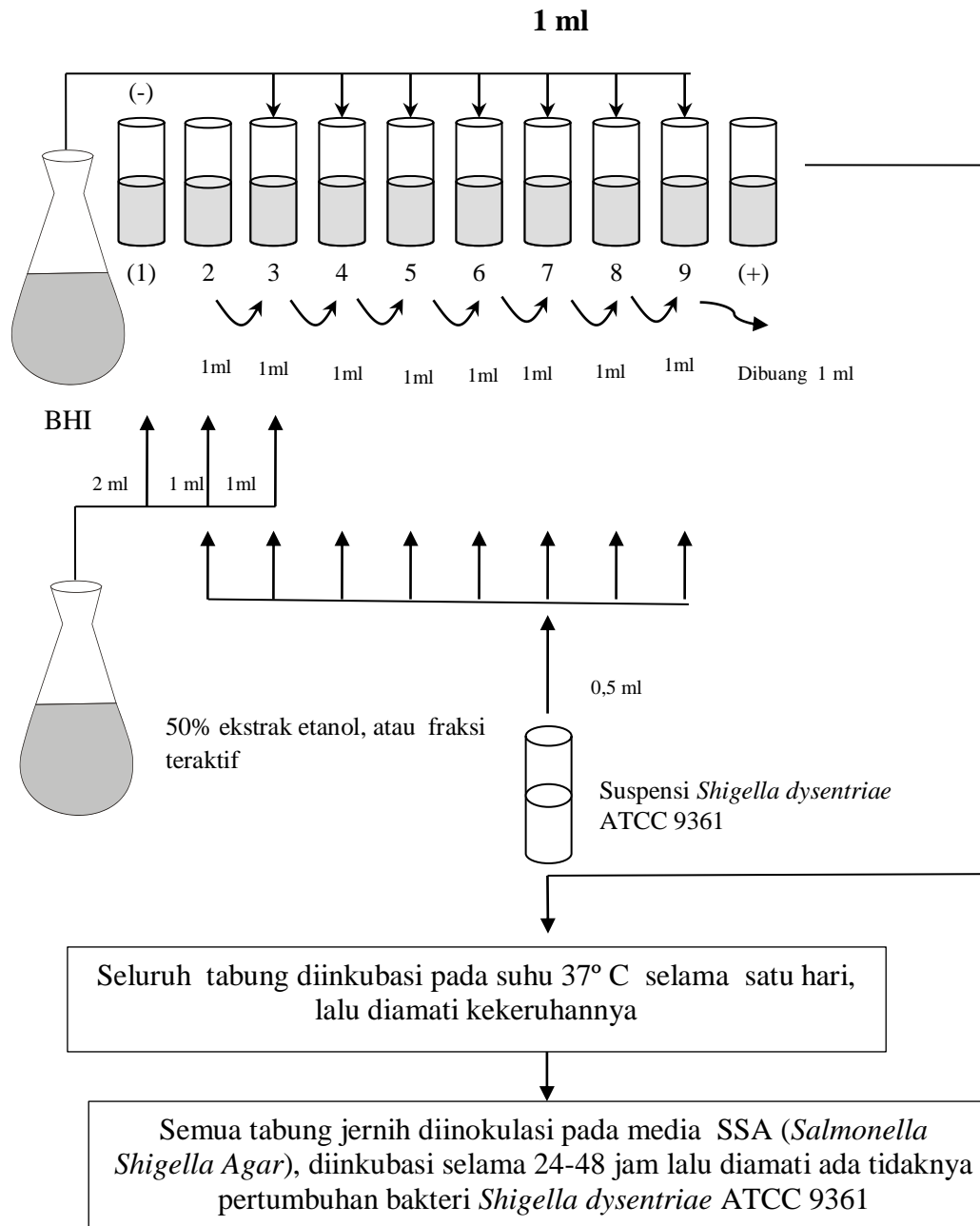
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun singkong



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun singkong



**Gambar 4.** Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri *shigella dysenteriae* ATCC 9361 murni dengan metode difusi.



**Gambar 5.** Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun singkong terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi.

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

#### 1. Hasil identifikasi tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz.)

**1.1 Determinasi tanaman.** Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi daun singkong terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.

Berdasarkan Hasil determinasi tanaman daun singkong :

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b – 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73a. **99. Euphorbiaceae.** 1b – 3b – 4b -6b – 57b – 73b – 80b – 81b – 84b – 85a – 86b – 87b – 88a – 89a. **48. Manihot.** 1a. ***Manihot esculenta* Crantz.** Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

**1.2 Deskripsi tanaman.** Habitus tanaman singkong : perdu, menahun, tumbuh tegak, bergetah, tinggi 2-7 m. Akar : tunggang, kalau diperbanyak dengan stek akan membentuk akar serabut yang kemudian berkembang menjadi mbi akar, umbi akar besar, panjang, berwarna coklat suram, daging umbi berwarna putih hingga kuning. Batang : bulat, berkayu, sedikit bercabang atau tidak bercabang sama sekali, di bagian tengah terdapat jaringan gabus, dipermukaan batang terdapat bekas dudukan tangkai daun yang bertonjolan, licin dan gundul, putih, kotor. Daun : tunggal, tersusun berseling, bentuk helaian daun bulat, diameter 5-20 cm, pangkal tumpul hingga membulat, tepi berbagi menjari dengan 5-9 cangap, cangapnya berbentuk bulat telur memanjang hingga menggaris-lanset, ujung cangap runcing, lebar 1-6 cm, ujung helaian daun membulat, pertulangan menjari, permukaan atas hijau tua dan permukaan bawah hijau muda , licin dan gundul, tangkai daun bulat, hijau hingga hijau kemerahan, licin dan gundul,

panjang 6- 35 cm, daun penumpu sepasang, dekat pangkat tangkai daun, berlepasan, ujungnya rata, mudah rontok. Bunga : majemuk tipe tandan, 3-5 tandan berkumpul di ujung batang, pada bagian pangkal terapat bunga betina, dibagian atas terdapat bunga jantan, panjang tenda bunga 1 cm. Bunga jantan : panjang tangkai bunga 4 -6 mm, tanda bunga berbentuk lonceng, bertaju 5, benangsari 10, berseling panjang dan pendek, tertancap di sekitar penebalan dasar bunga yang kuning dan berlekuk. Bunga betina : panjang tangkai bunga 1,5 – 2,5 cm, kelopak bunga lebih besar dari pada bunga jantan, tenda bunga terbagi 5, bakal buah dikelilingo oleh tonjolan penebalan dasar bunga yang berbentuk cincin, kuning, tangkai putik bersatu, sangat pendek, dengan kepala putik yang lebar berwarna kuning mentega dan berlekuk banyak. Buah : berbentuk seperti bola atau telur, dengan 6 papan yang membujur seperti sayap, hijau tapi berubah menjadi coklat ketika masak. Biji : kecil, terdapat alat tambahan yang berlekuk pada pangkal biji, coklat.

## **2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan seruk daun singkong**

Daun singkong diambil secara acak dari salah satu pekarangan di Desa Krai, Kecamatan Toroh, Kabupaten Grobogan Jawa Tengah pada bulan Januari 2018. Daun singkong yang di ambil secara acak dipilih daun yang masih muda, berwarna hijau dan terbebas dari hama. Daun singkong yang telah dikumpulkan dibersihkan, dicuci dan dikeringkan. Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganism lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1. Daun singkong sebanyak 6000 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering sebanyak 1760 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 29,33 %. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 10.

**Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun singkong**

<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Bobot kering (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
6000	1760	29,33



Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no 40. Penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran serbuk, memperluas permukaan partikel sehingga pengekskresian dapat berlangsung dengan efektif (Depkes RI 2008).

### 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun singkong

Penetapan kadar lembab daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan alat *Moisture Balance*.

**Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun singkong**

No	Bobot serbuk (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	9,0
2	2,00	8,8
3	2,00	8,8
<b>Rata- rata</b>		8,68

Hasil penetapan kadar lembab daun singkong di dapatkan rata-rata sebesar 8,86 % kadar lembab memenuhi syarat di mana kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% karena dengan kadar lembab kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet ( Katno *et al.* 2008).

### 4. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun singkong

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi, maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Keuntungan cara penyari dalam maserasi adalah cara pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga komponen yang tidak tahan panas seperti flavonoid tetap ada di dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun singkong dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun singkong**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	300	60

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun singkong diperoleh adalah 60 % dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 11.

## 5. Hasil uji bebas etanol

Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dapat di lihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun singkong**

Hasil	Pustaka
Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Praeparandi 1978)

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak daun singkong adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian. Hasil dapat dilihat pada lampiran 5.

## 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong

Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong**

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Flavonoid	Warna kuning pada lapisan amil alkohol.	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang.	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)
Tanin	Warna hijau kehitaman.	Terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dapat dilihat pada lampiran 5. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun singkong dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa kimia yang terkandung dalam daun singkong dengan menggunakan tabung reaksi. Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong positif mengandung flavonoid, saponin,

dan tanin yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)**

No	Kandungan kimia	Interprestasi hasil		
		Serbuk	Ekstrak	Fraksi Etil asetat
1	Flavonoid	+	+	+
2	Tanin	+	+	+
3	Saponin	+	+	+

Keterangan :  
 + : ada mengandung senyawa  
 - : tidak ada mengandung senyawa

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia serbuk, fraksi etil asetat, dan ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz), dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun singkong dengan menggunakan tabung reaksi. Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia serbuk, fraksi etil asetat, dan ekstrak etanol daun singkong positif mengandung flavonoid, tanin, dan saponin, dimana senyawa-senyawa tersebut terbukti memiliki aktivitas antibakteri.

Fraksi ekstrak etanol daun singkong menggunakan tiga pelarut berdasarkan polaritas yang berbeda. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksan bersifat non-polar, etil asetat bersifat semi polar dan air sebagai pelarut yang bersifat polar. Fraksi yang diujikan kandungan kimia adalah fraksi etil asetat, karena prosentase hasil kandungan senyawa kimia yang terdapat pada fraksi etil asetat bersifat semi polar lebih banyak tersari dalam daun singkong dan etil asetat merupakan pelarut semi polar yang berindeks polaritas lebar sehingga berbagai senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar seperti flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin, saponin dapat tertarik pada pelarut etil asetat, sehingga ketika diuji terdapat kandungan kimia positif flavonoid, saponin, dan tanin (Snyder 1997).

## 7. Hasil fraksinasi ekstrak daun singkong

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda-beda. Senyawa-

senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu juga senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan juga dengan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harbone 1987). Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dilakukan proses fraksinasi cair-cair. Pelarut non polar yang digunakan adalah *n*-heksana dan pelarut semi polar yang digunakan etil asetat, sedangkan pelarut polar yang digunakan adalah air. Hasil penyarian dari ketiga pelarut tersebut akan digunakan dalam penelitian.

**7.1 Fraksi *n*-heksan.** Hasil sediaan ekstrak maserasi yang telah didapatkan ditimbang kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut non polar yaitu *n*-heksan, diekstraksi dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 ml, kemudian fraksi *n*-heksan yang didapat diuapkan dan dipekatkan. Residu yang didapat dilakukan fraksinasi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Rendemen hasil fraksinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan, etil asetat dan air**

<b>Bobot ekstrak (gram)</b>	<b>Bobot fraksi <i>n</i>-heksan (gram)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
10,00	1,10	11,0
	1,12	11,2
	1,12	11,2
	<b>Rata- rata</b>	<b>11,13 %</b>
	<b>Bobot fraksi etil asetat (gram)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
	1,40	14,0
	1,35	13,5
	1,44	14,4
	<b>Rata – rata</b>	<b>13,69 %</b>
	<b>Bobot fraksi air</b>	<b>Rendemen (%)</b>
	5,60	56,0
	5,87	58,7
	6,20	62,0
	<b>Rata – rata</b>	<b>58,9 %</b>

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksinasi fraksi *n*-heksan serbuk daun singkong didapat presentase rata-rata yaitu 11,13%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan serbuk daun singkong dapat dilihat pada lampiran 12.

**7.2 Fraksi etil asetat.** Residu ekstrak *n*-heksan dilanjutkan dengan perlakuan fraksinasi dengan pelarut semi polar yaitu etil asetat. Residu dari

ekstrak *n*-heksan diekstraksi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing sebanyak 75 ml. fraksi ini diuapkan dan residu yang didapat dilakukan pemekatan.

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan presentase rendemen fraksinasi fraksi etil asetat serbuk daun singkong didapat presentase rata-rata yaitu 13,96%.

**7.3 Fraksi air.** Residu dari ekstrak etil asetat dilanjutkan dengan pemekatan sehingga didapat ekstrak kental. Etanol 70% merupakan pelarut serbaguna yang dapat melarutkan senyawa-senyawa polar, semi polar, dan non polar. Rendemen fraksi air hasil fraksinasi daun singkong dapat dilihat pada tabel 7.

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi air didapat prosentase rata-rata yaitu 58,9 %.

Hasil fraksi air yang didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain karena beberapa senyawa dalam daun singkong bersifat polar. Hasil dari proses fraksinasi dengan *n*-heksan dan etil asetat lebih sedikit dibandingkan dengan fraksi air karena tidak semua senyawa terpisahkan dengan baik. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) berbeda. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena ekstrak banyak yang menempel pada wadah.

## **8. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Bakteri *Shigella dysenteriae* dalam biakan murni diambil masing – masing satu ose dan kemudian dimasukkan kedalam tabung yang telah diisi 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Suspensi yang didapat distandartkan dengan *Mc Farland* 0,5. Pembuatan suspensi bakteri bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri suspensi.

## 9. Hasil identifikasi bakteri uji

**9.1 Identifikasi bakteri makroskopis secara goresan.** Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* biakan *Shigella dysenteriae* diinokulasi pada media selektif SSA (*Salmonella Shigella Agar*) dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37<sup>0</sup> C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu kecil, halus, tidak berwarna, konvek, tepi, dan permukaan rata. Hasil dapat dilihat pada lampiran 6.

### 9.2 Identifikasi bakteri uji mikroskopis secara pewarnaan gram.

Identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* secara morfologi dengan metode pewarnaan Gram pada mikroskop dengan perbesaran kuat akan nampak berwarna merah, berbentuk batang, hal ini membuktikan bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri Gram negatif. Pada pengecatan Gram oleh Gram A, bakteri Gram negatif menyerap warna ungu kebiruan dari kristal violet. Dilanjutkan pengecatan Gram B yang menguatkan afinitas cat terhadap sel bakteri. Bakteri Gram negatif, membran luar bersifat nonpolar sedangkan alkohol asam pada Gram C juga bersifat nonpolar sehingga saat bertemu dengan Gram C akan larut. Prinsip ini menunjukkan bahwa zat yang memiliki kelarutan yang sama maka akan saling melarutkan. Karena hal tersebut, maka membran luar pada bakteri Gram negatif hilang sehingga hanya menyisakan peptidoglikan yang tipis dan warna kristal violet hilang, maka hal tersebut menyebabkan ekstraksi lipid dan memperbesar permeabilitas dinding sel sehingga pewarnaan Gram D masuk kedalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah. Identifikasi dapat dilihat pada lampiran 6.

**9.3 Identifikasi bakteri uji secara biokimia.** hasil identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* secara biokimia dapat dilihat pada tabel 10 dan lampiran 7.

**Tabel 8. Hasil identifikasi uji secara biokimia (*Shigella dysenteriae*)**

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk dan Wheller 1988)
SIM	++	++
KIA	K/A S (-)	K/A S (-)
LIA	K/A S(-)	K/A S(-)
Citrat	-	-

Hasil pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada medium Sulfida Indol Motilitas (SIM) menunjukkan (-+-) yaitu *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam. Indol positif karena bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menghasilkan enzim tryphanase yang mengubah tryptophan menjadi indol ditambah asam piruvat dan  $\text{NH}_3$  indol bereaksi dengan reagen erlic membentuk warna merah dan motilitas negatif karena pertumbuhan bakteri hanya terdapat pada bekas tusukan.

Hasil pengujian pada medium Kliger's Iron Agar (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan medium KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menunjukkan hasil K/A S (-) artinya pada lereng media berwarna merah, dasar berwarna kuning dan medium tidak berwarna hitam. *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menguraikan glukosa dan tidak menguraikan laktosa. Dasar terbentuk warna kuning, karena *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 memfermentasi glukosa yang bersifat asam. Medium tidak berbentuk warna hitam karena tidak memproduksi hydrogen sulfide, menghasilkan gas karena memfermentasi glukosa menjadi asam.

Medium Lysin Iron Agar (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menunjukkan hasil K/AS(-). artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media. S(-) artinya uji  $\text{H}_2\text{S}$  negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA (Volk dan Wheller 1988). Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Hasil pengujian pada medium Citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan medium Citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  menunjukkan hasil negatif sehingga warna media tetap hijau. Menunjukkan bahwa *Shigella*

*dysenteriae* ATCC 9361 tidak menggunakan Citrat sebagai sumber karbon tunggal. Medium Citrat terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan Citrat menyebabkan suasana basa, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada lampiran .

## 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun singkong

**10.1 Hasil pengujian antibakteri secara difusi.** Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun singkong dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menggunakan metode difusi dengan seri konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dengan pembanding kontrol positif adalah kotrimoksazol dan kontrol negatif pelarut DMSO 5% untuk mengetahui fraksi paling aktif dengan melihat luas diameter daya hambat masing-masing fraksi.

Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi kemudian diukur diameter zona hambat sekitar cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun singkong memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

**Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun singkong terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara difusi**

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata
		1	2	3	
Ekstrak	50 %	13	11	13	12,33
	25 %	12	10	10	10,66
	12,5 %	10	11	11	10,33
n-Heksan	50 %	9	10	9	9,33
	25 %	8	9	8	8,33
	12,5 %	8	8	7	7,66
Fraksi etil asetat	50 %	21	20	19	20
	25 %	18	17	17	17,33
	12,5 %	17	16	16	16,33
Fraksi air	50 %	16	16	15	15,66
	25 %	16	14	15	15
	12,5 %	12	14	12	12,66
Kontrol positif (kotrimoksazol)	kotrimoksazole	23	23	23	23
Kontrol negatif (DMSO 5%)	5 %	0	0	0	0



Luas daerah hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditunjukkan dengan adanya daerah jernih disekitar cakram (disk) pada media MHA, dimana pada hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas paling aktif, pada konsentrasi yaitu 50% mempunyai daerah zona hambat rata-rata 20 mm. Aktivitas antibakteri suatu senyawa dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak, jenis bakteri yang dihambat dan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi suatu konsentasi maka semakin banyak pula kandungan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak, dan semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Kontrol positif adalah suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah kotrimoksazole terbukti efektif dalam menghambat bakteri, ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan fraksi teraktif.

Kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan untuk melarutkan bahan uji dimana diketahui tidak memiliki aktivitas antibakteri. DMSO 5% yang digunakan untuk melarutkan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dan ekstrak terbukti tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri, ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat yang terlihat.

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun singkong dapat menarik senyawa golongan alkaloid, polifenol, flavonoid, saponin, dan tannin (Putri *et al.* 2013), yang mana pada daun singkong sendiri terkandung senyawa saponin, flavonoid dan tanin. Senyawa tersebut mempunyai aktivitas masing-masing dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Auronita 2016).

Analisis uji statistik dilakukan untuk mengetahui hubungan aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysentri* diantara fraksi *n*-heksan, etil asetat, air, ekstrak etanol, kontrol positif dan negatif. Terlihat bahwa fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air memiliki potensi daya hambat yang berbeda terhadap *Shigella dysentri*. Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi diuji secara statistik *Analisis of Varian* (ANOVA) *oneway*. *Analisis of*

*Varian* (ANOVA) *oneway* digunakan untuk membandingkan fraksi pada tiap konsentrasi dan aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air, ekstrak etanol, kontrol positif, kontrol negatif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Hasil uji *one-sample Kolmogorov* diperoleh signifikan  $0,884 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan *analisis of variansi* (ANOVA) *oneway* tabel diameter hambat diperoleh  $F = 168,640$  dengan probabilitas  $0,000 < 0,05$  yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Pada tabel *Tukey HSD* terdapat tanda \* pada *Mean Difference* menunjukkan bahwa perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri tersebut signifikan. Tabel *Homogenous Subset* bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Tabel *Homogenous Subset* terbagi kedalam 10 subset. Pada subset ke 7 dan 8 terdapat perbandingan tetapi hasil daya hambat yang besar terdapat pada fraksi etil asetat yaitu 20.0000 Diameter hambat subset 1-10 diketahui mempunyai perbedaan aktivitas antibakteri.

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat paling besar terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi air, fraksi etil asetat mampu menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun singkong yang memiliki aktivitas antibakteri. Perbedaan diameter hambat dikarenakan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun singkong memiliki kepolaran yang berbeda, sehingga senyawa yang tertarik oleh fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air sesuai tingkat kepolaran masing-masing.

Ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam daun singkong, tetapi senyawa tersebut tidak dapat bekerja secara optimum sehingga daya hambatnya kecil setelah fraksi *n*-heksan dan air. Fraksi *n*-heksan memiliki diameter zona hambat paling rendah dibanding fraksi yang lain hal ini disebabkan karena senyawa yg tertarik oleh fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas antibakteri yang sangat rendah. Fraksi air memiliki daya hambat yang lebih besar daripada fraksi *n*-heksan, hal tersebut dikarenakan fraksi air dapat menarik semua senyawa baik senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri maupun senyawa yang

tidak memiliki aktivitas antibakteri. Fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling besar dibandingkan ekstrak dan fraksi yang lainnya.

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Juliantina *et al.* 2014).

Pada pelarut DMSO 5% menunjukkan bahwa tidak terdapatnya zona hambat disekitar cakram disk, hal tersebut membuktikan bahwa pelarut tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri. Pelarut DMSO 5% digunakan sebagai kontrol negatif. Pada kontrol positif (kotrimoksazol) menunjukkan zona hambat paling besar dimana masuk dalam kategori kuat dibandingkan dengan fraksi etil asetat yang masuk dalam kategori sedang, hal tersebut dikarenakan kotrimoksazol merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 8.

## 10.2 Hasil pengujian antibakteri daun singkong secara dilusi.

**Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun singkong terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**

No.	Konsentrasi (% b/v)	Fraksi Etil Asetat		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	50 %	-	-	-
3	25 %	-	-	-
4	12,5 %	-	-	-
5	6,25 %	+	+	+
6	3,12 %	+	+	+
7	1,56 %	+	+	+
8	0,78 %	+	+	+
9	0,39 %	+	+	+
10	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri  
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok (fraksi)  
Kontrol (+) : Suspensi bakteri  
Tabung no. 2-9 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Hasil fraksi etil asetat daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0.39% dengan kontrol positif berupa bakteri uji dalam media BHI dan kontrol negatif berupa fraksi etil asetat. Hasil gambar uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 9. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak bisa dilihat dari kejernihannya karena ditutupi oleh kekeruhan dari bagian fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dapat dilihat dari pengujian fraksi terhadap bakteri uji pada tabung kemudian diinokulasikan pada media SSA dengan tidak atau adanya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media SSA.

Dapat dilihat bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah 12,5%. Hasil uji dilusi menunjukkan bahwa konsentrasi 12,5% tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada replikasi pertama, kedua, dan ketiga. Pertumbuhan bakteri ditemukan pada konsentrasi 6,25% pada replikasi pertama, kedua, dan ketiga sehingga dapat disimpulkan Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat adalah 12,5%. Hasil dapat dilihat pada lampiran 9.

## **BAB V**

### **KESIMPILAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yaitu pada konsentrasi 12,5%

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif yang lain selain *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan yang dapat dikonsumsi masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi & Lukas T. 2006. *Tanaman Obat dan Jus Untuk Asam Urat dan Rematik*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Journal Of Marine Research* 3:69-78.
- Andriano J. 2007. Infiltrasi Sel Inflamasi Pada Ginggiva Tikus Yang Diinduksi Periodonitis Setelah Pemberian Gel Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta* ) Konsentrasi 25 % dan 50 %. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Anief M. 2003. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 168-169.
- Arias, Kathleen Meehan. 2003. *Investigasi dan Pengendalian Wabah di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada* 2:1-4.
- Aulia RN. 2013. Uji Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Jumlah Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka Tikus (*Rattus norvegicus*). Universitas Jember: Fakultas Kedokteran Gigi.
- Auronita PP. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap *Shigella sp.* *Journal Kesehatan*, Volume VII, Nomor 1, April 2016, hlm 161 – 164.
- Ayu C. (2002) Mempelajari Kadar Mineral dan Logam Berat pada Komoditi Sayuran Segar Beberapa Pasar Di Bogor. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Dalam: Nengsih, RF. (2012) Pengaruh Cara Dan Suhu Pengolahan Terhadap Kandungan Kalsium Pada Daun Singkong (*Manihot utilisima*) Tumbuk. Skripsi, Universitas Negeri Medan
- Bonang G dan Koeswardono.1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Chavez, AL. 2000. *Iron, Carotene and Ascorbic Acid in Cassava Roots and Leaves Food Nurt Bull* 21 : 410 – 413.
- Dalimartha S. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya . Hlmn 11-12

- Dalimarta S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Dellany, S. 2017. Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol 70 % Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) Terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 Dengan Metode Difusi. Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Dewanti S dan Wahyudi MT. 2011. Antibacterial activity of bay leaf infuse (Folia *Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherchia coli* in-vitro. Faculty of medicine. Airlangga University. *Jurnal Medika Planta* 1:78-81.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 6-7, 10-12.
- [DepKes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta.
- Dinar PW. 2016. *Potensi Ekstrak Daun Singkong (Manihot esculenta) Terhadap Ekspresi COX – 2 Pada Neutrofil yang di Papar LPS Escherchia Coli* [Skripsi] : Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember.
- Ganiswara, S. (2007). *Obat Otonom*. Dalam Farmakologi dan Terapi ed.5. editor: Sulistia Ganiswara. Jakarata: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Hal: 36,56,57
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 9-13.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth, editor. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. hlm 585-587, 605-608
- Harborne JB. 2007. Metode Fitokimia: *Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-4. penerjemah; Padmawinata K, Soediro I. Bandung: Penerbit ITB Press.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: ITB Bandung. hlm 6, 151. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*
- Hariana, Arief. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harun H., 2009, *Uji Daya Antimikroba Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Bakteri Shigella dysenteriae*

- Hayati KE, Fasyah AG, Sa'adah L. 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Journal of Chemistry* 4:195
- Hidayat N. 2012 Uji Aktivitas Anti Bakteri Fraksi *n*-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Etanolik Batang Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Skripsi. Universitas Setia Budi Surakarta
- Jayanegara A; Sofian A, 2008, *Penentuan Aktivitas Biologi Tanin beberapa Hijauan secara in vitro menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilenglikol secara Dertiman*, jurnal Media Peternakan 31: 44-52
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari : Medical Microbiology.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Medical Mikrobiologi* 2<sup>th</sup>Ed. The McGraw Hill Compaines, USA.
- Khalili M. 2014. *Acute becterial dysentery in children*. Zahedan University of Medical Sciences. Iran. *Int J Infect* 1(3).
- Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 1: 38-46.
- Kumalasari E, Sulistyani N. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51-62, 59-60
- Kurniawati E. 2015. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata* 2: 83-90..
- Miladiyah I, Dayi F, Desrini S. 2011. Analgesic Activity of Ethanolic Extract of *Manihot esculenta* Crantz Leaves in Mice. *Universa Medicina* 30(1): 3-10.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7:361-367.
- Noer HMS, Waspadji S, Rachman AM, Lesmana LA, Widodo D, Isbagio H, Alwi I, Husodo UB. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Ed ke- 3. Jakarta: PAPDI. hlm: 458-459
- Nurainy F, Rizal S, Yudiantoro. 2008. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (sumur). Univeristas



- Diponegoro. Semarang. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13:117-125.
- Okeke dan Adentuji. 2007. Antibacterial Activities of Ageratum Cntracts on Selected Bacterial Pathogens. *The Internet Journal of Microbiology*. 4, (1),
- Okpuzor, J. 2009. Peroxidase Activity of Germinating Sorghum bicolor grains : Effect of some cations. *Journal Science of Food Agriculture*, 82, 1881 – 1885.
- Oliphant, C. M., Green, G. M., 2002, Quinolones: A Comprehensive Review. *Am. Fam. Physician*. 65: 455-464
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta. Penerbit Erlangga. Hal: 136-190.
- Prasetyo H. 2012. Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis*. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Fakultas Farmasi.
- Purwono, H. Purnamawati. 2007. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Pangan Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya. 137 hal.
- Purwono. 2009. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) Bali: Universitas Udayana. hlm 56-60.
- Rahmawati I, Samsumaharto RA, W Iryanto EZ. 2015. Uji aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Kloroform dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi. Surakarta
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice. University of Mysore. Karnataka. India. *Journal of Pharmacy Research* 8: 4554-4558.
- Ravikumar S, Syed A, Ramu A, Ferosekhan M. 2011. Antibacterial activity of chosen mangrove plants against bacterial specified pathogens. *World Applied Sciences Journal* 14: 1198- 1202.
- Richardo, 2012. *Kandungan Organik Tanaman Singkong*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Rukmana, Rahmat. 2002. *Budi Daya Tanaman Singkong*. Kaninus: Yogyakarta.

- Sari YD, Sitti ND, Laela HN, 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara In Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Farmakologi Lapis Tipis. *Journal Kesmas ISSN* 1978-0575: 218-238
- Sintia dan Murhananto. 2004. *Memfaatkan Tanaman Sayur Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sri Harti. 2016. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta. Penerbit: Andi. Hal: 186-193
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Gramedia. hlmn: 42-44
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Jaya
- Suryono. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Wiyata
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extractoin. *Internationale Pharmaceutica Sciecia* 1:98-106.
- Tjay TH dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi I. Jakarta: Depkes. hlm 195-203.
- Tjitrosoepomo. 2005. Pemanfaatan Bagian Tanaman Singkong. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 8: 1-15.
- Waluyo L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wardhani LK dan Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2:1-16.
- WHO. 2005. *The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers*, 4th rev., World Healt Organization, Geneva
- Yatim F. 2001. *Macam macam penyakit menular dan pencegahannya*. Jakarta : Pustaka Populer Obor. Hlm 39-41.

**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

## Lampiran 1. Determinasi daun singkong



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 64/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Aprilly Putryani  
NIM : 20144273A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Manihot esculenta* Crantz  
Synonym : *Manihot utilissima* Pohl.  
Familia : Euphorbiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73a 99. Euphorbiaceae  
1b-3b-4b-6b-57b-73b-80b-81b-84b-85a-86b-87b-88a-89a 48. Manihot  
1a Manihot esculenta Crantz

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, bergetah, tinggi 2-7 m. Akar : tunggang, kalau diperbanyak dengan stek akan membentuk akar serabut yang kemudian berkembang menjadi umbi akar, umbi akar besar, panjang, kulit berwarna coklat suram, daging umbi berwarna putih hingga kuning. Batang : bulat, berkayu, sedikit bercabang atau tidak bercabang sama sekali, di bagian tengah terdapat jaringan gabus, di permukaan batang terdapat bekas dudukan tangkai daun yang bertonjolan, licin dan gundul, putih kotor. Daun : tunggal, tersusun berseling; bentuk helaian daun bulat, diameter 5-20 cm, pangkal tumpul hingga membulat, tepi berbagi menjari dengan 5-9 cangap, cangapnya berbentuk bulat telur memanjang hingga menggaris-lanset, ujung cangap runcing, lebar 1- 6 cm, ujung helaian daun membulat, pertulangan menjari, permukaan atas hijau tua dan permukaan bawah hijau muda, licin dan gundul; tangkai daun bulat, hijau hingga hijau kemerahan, licin dan gundul, panjang 6-35 cm; daun penumpu sepasang, dekat pangkat tangkai daun, berlepasan, ujungnya rata, mudah rontok. Bunga : majemuk tipe tandan, 3-5 tandan berkumpul di ujung batang, pada bagian pangkal terdapat bunga betina, di bagian atas terdapat bunga jantan, panjang tenda bunga 1 cm. Bunga jantan : panjang tangkai bunga 4-6 mm, tenda bunga berbentuk lonceng, bertaju 5, benangsari 10, berseling panjang dan pendek, tertancap di sekitar penebalan dasar bunga yang kuning dan berlekuk. Bunga betina : panjang tangkai bunga 1.5-2.5 cm, kelopak bunga lebih besar daripada bunga jantan, tenda bunga berbagi 5, bakal buah dikelilingi oleh tonjolan penebalan dasar bunga yang berbentuk cincin, kuning, tangkai putik bersatu, sangat pendek, dengan kepala putik yang lebar berwarna kuning mentega dan berlekuk banyak. Buah : berbentuk seperti bola atau telur, dengan 6 papan yang membujur seperti sayap, hijau tapi berubah menjadi coklat ketika masak. Biji : kecil, terdapat alat tambahan yang berlekuk pada pangkal biji, coklat.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  
Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 2. Foto daun dan serbuk daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)**



**Foto daun singkong**



**Foto serbuk daun singkong**

**Lampiran 3. Foto ekstrak dan fraksinasi daun singkong****Foto ekstrak Daun singkong**Fraksi *n*-heksan

Fraksi air

**Foto Fraksinasi *n*-heksan**

Fraksi etil asetat

Fraksi air

**Foto Fraksinasi etil asetat**

**Lampiran 4. Alat penelitian**



**Oven binder**



**Rotary evaporator**



**Autovortex**








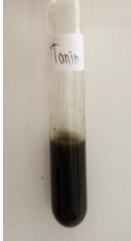




**Alat penyaring**



**Alat moisture balance**

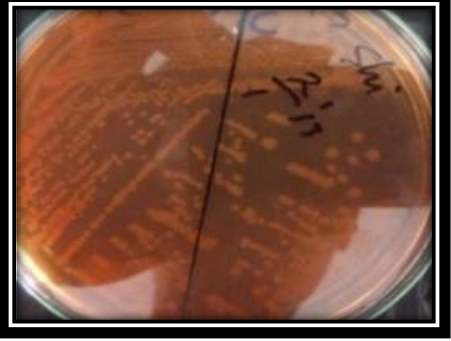
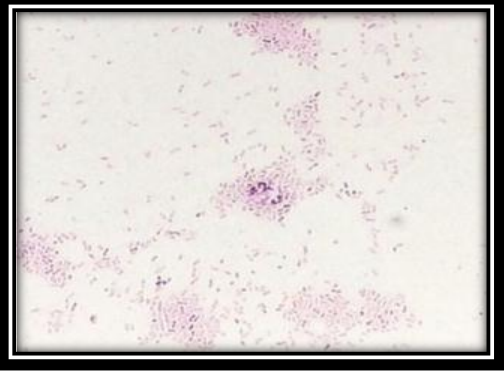
**Lampiran 5. Foto hasil uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong**



Senyawa	Hasil		Fraksi Etil asetat
	Serbuk	Ekstrak	
flavonoid			
Tanin			
Saponin			
Uji bebas etanol			



Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun singkong dan uji bebas etanol


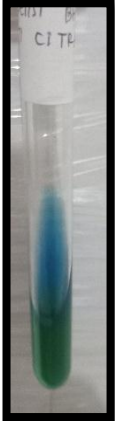
**Lampiran 6. Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara makroskopis dan mikroskopis**

Identifikasi makroskopis	Hasil
Identifikasi secara makroskopis	
Identifikasi secara mikroskopis	

**Identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara makroskopis dan mikroskopis**

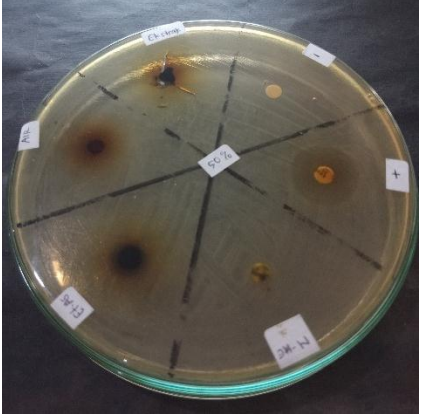
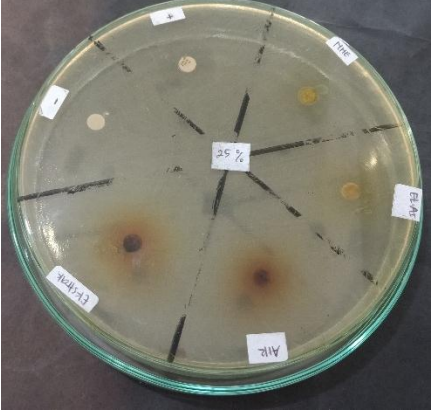
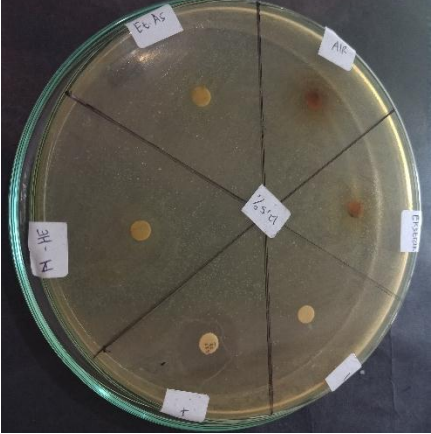
**Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara biokimia**

<b>Identifikasi</b>	<b>Hasil</b>
KIA	 A photograph of a KIA (Kovacs Indole Agar) test tube. The tube contains a red slant on top and a red butt at the bottom, indicating a positive result for both acid and gas production.
SIM	 A photograph of a SIM (Sulfide Indole Motility) test tube. The tube contains a yellow slant on top and a yellow butt at the bottom, indicating a negative result for both sulfide production and indole formation.

LIA	
CITRAT	

Identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara biokimia

**Lampiran 8. Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara difusi**

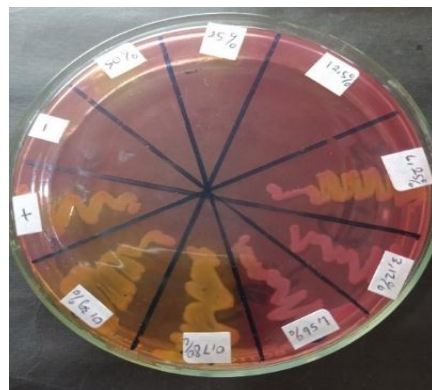
Identifikasi difusi	Hasil
<p><b>Konsentrasi 50%</b></p>	
<p><b>Konsentrasi 25%</b></p>	
<p><b>Konsentrasi 12,5%</b></p>	

**Hasil difusi konsentrasi 50%, 25 % dan 12,5%**

**Lampiran 9. Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi**



**Hasil fraksi etil asetat**



**Hasil dilusi**

**Lampiran 10. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah**

**Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun singkong**

<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Bobot kering (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
6000	1760	29,33

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah:

$$\% \text{ Bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Bobot kering} = \frac{1760 \text{ (g)}}{6000 \text{ (g)}} \times 100\% = 29,33\%$$

Maka persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 29,33%

**Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)**

**Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun singkong**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	300	60

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanol} &= \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{300\text{g}}{500\text{g}} \times 100\% = 60\% \end{aligned}$$

**Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz)**

**Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun singkong**

**Tabel 8. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan, etil asetat dan air**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi <i>n</i> -heksan (gram)	Rendemen (%)
10,00	1,10	11,0
	1,12	11,2
	1,12	11,2
	<b>Rata- rata</b>	<b>11,13 %</b>
	Bobot fraksi etil asetat (gram)	Rendemen (%)
	1,40	14,0
	1,35	13,5
	1,44	14,4
	<b>Rata – rata</b>	<b>13,69 %</b>
	Bobot fraksi air	Rendemen (%)
	5,60	56,0
	5,87	58,7
	6,20	62,0
	<b>Rata – rata</b>	<b>58,9 %</b>

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksan} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{1,10 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,0 \%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,12 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,2 \%$$



$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen II} &= \frac{1,12 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,2 \% \\ \text{Rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\ \% \text{ Rendemen I} &= \frac{1,40 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 14,0\% \\ \% \text{ Rendemen II} &= \frac{1,35 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 13,5\% \\ \% \text{ Rendemen II} &= \frac{1,44 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 14,4\% \\ \text{Rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\% \\ \% \text{ Rendemen I} &= \frac{5,60 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 56,0\% \\ \% \text{ Rendemen II} &= \frac{5,87 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 58,7\% \\ \% \text{ Rendemen II} &= \frac{6,20 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 62,0\% \end{aligned}$$

**Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air pada metode difusi**

Konsentrasi 50%

Menimbang 1 gram ekstrak dilarutkan dengan DMSO 5% ad 2 ml

Konsentrasi 25%

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$V1 \cdot 50\% = 1 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$V1 = 25\%$$

$$V1 = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 5% ad 1 ml

Konsentrasi 12,5%

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$V1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V1 = 12,5\%$$

$$V1 = \frac{12,5\%}{25\%}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan (25%) kemudian ditambah DMSO 5% ad 1 ml

#### Lampiran 14. Pembuatan larutan stok dengan berbagai konsentrasi pada metode dilusi

Pembuatan konsentrasi 50 %

Menimbang  $\pm 0,5$  g hasil ekstrak etanolik atau fraksi kemudian masing-masing ditambah DMSO 1% sampai volume 1 ml, kecuali fraksi air menggunakan aquadest steril.

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 1\text{ml} \cdot 50\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 50\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \cdot 25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml

Pembuatan konsentrasi 12,5 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 6,25%

$$V_1 \cdot N = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 12,5\% = 1 \cdot 6,25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 6,25\%}{12,5\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (12,5%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 3,12%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 6,25\% = 1 \cdot 3,12\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 3,12\%}{6,25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (6,25%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 1,56%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 3,12\% = 1 \cdot 1,56\%$$

$$V_1 = \frac{1.1,56\%}{3,12\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (3,12%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 0,78%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1,56\% = 1 \cdot 0,78\%$$

$$V_1 = \frac{1.0,78\%}{1,56\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (1,56%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 0,39%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,78\% = 1 \cdot 0,39$$

$$V_1 = \frac{1.0,39\%}{0,78\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,78%) kemudian ditambah BHI sampai volume 1 ml.

Tabung 1 sebagai kontrol negatif (-) yang berisi ekstrak 1 ml

Tabung 12 sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 1 ml

### Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media

#### 1. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	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 (Rhodehamel 1992).

#### 2. Formulasi dan pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrated infusion from	300,0 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar-agar	17,0 gram
Aquadestilata ad	1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

#### 3. Formulasi dan pembuatan *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Beef extract	5,0 gram
Enzymatic Digest of Casein	2,5 gram
Enzymatic Digest of Animal Tissue	2,5 gram
Laktosa	10,0 gram
Bile salt	8,5 gram
Sodium citrate	8,5 gram
Sodium Thiosulfat	8,5 gram

Ferric Citrate	1 gram
Brilliant Green	0,00033 gram
Neutral Red	0,25 gram
Agar – agar	13,5 gram

Reagen – reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian dituang dalam cawan petri.

#### 4. Sulfida indol motility (SIM)

Pepton from casein	20 g
Pepton from meat	6 g
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 g
Sodium thiosulfate	0,2 g
Agar-agar	0,2 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

#### 5. Klinger Iron Agar (KIA)

Pepton from casein	15 g
Pepton from meat	5 g
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Meat extract	3 g
Yeast extract	3 g
Sodium chloride	5 g
Laktosa	10 g
Glukosa	1 g
Sodium thiosulfate	0,5 g
Phenol red	0,024 g
Agar-agar	12 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

#### 6. Lysine Iron Agar (LIA)

Pepton from casein	5 g
Yeast extract	3 g
Glukosa	1 g
Lysine monohydrochloride	10 g
Sodium thiosulfate	0,04
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Bromo cresol purple	0,02 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

#### 7. Citrat Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
DI- potassium hydrogen fosfate	1g
Sodium chloride	5 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	12,5 g

Aquadest ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).



## Lampiran 15. Statistik

### NPar Tests

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
N		42
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	7.50
	Std. Deviation	4.080
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.090
	Positive	.090
	Negative	-.090
Kolmogorov-Smirnov Z		.585
Asymp. Sig. (2-tailed)		.884

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### Oneway

#### ANOVA

Dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1304.952	13	100.381	168.640	.000
Within Groups	16.667	28	.595		
Total	1321.619	41			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable:dayahambat

	(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval			
						Lower Bound	Upper Bound		
Tukey HSD	n-heksan 50%	n-heksan 25%	1.66667	.62994	.358	-.6392	3.9725		
		n-heksan 12,5%	2.00000	.62994	.141	-.3058	4.3058		
		Etil asetat 50%	3.00000*	.62994	.003	.6942	5.3058		
		Etil asetat 25%	4.00000*	.62994	.000	1.6942	6.3058		
		Etil asetat 12,5%	4.66667*	.62994	.000	2.3608	6.9725		
		Air 50%	-7.66667*	.62994	.000	-9.9725	-5.3608		
		Air 25%	-5.00000*	.62994	.000	-7.3058	-2.6942		
		Air 12,5%	-4.00000*	.62994	.000	-6.3058	-1.6942		
		Ekstrak 50%	-3.33333*	.62994	.001	-5.6392	-1.0275		
		Ekstrak 25%	-2.66667*	.62994	.013	-4.9725	-.3608		
		Ekstrak 12,5%	-.33333	.62994	1.000	-2.6392	1.9725		
		Kontrol positif (kotrimoksazole)	-10.66667*	.62994	.000	-12.9725	-8.3608		
		Kontrol negatif (DMSO 5%)	12.33333*	.62994	.000	10.0275	14.6392		
		n-heksan 25%	n-heksan 50%	n-heksan 12,5%	-.33333	.62994	1.000	-1.9725	2.6392
Etil asetat 50%	1.33333			.62994	.685	-.9725	3.6392		
Etil asetat 25%	2.33333*			.62994	.045	.0275	4.6392		
Etil asetat 12,%	3.00000*			.62994	.003	.6942	5.3058		
Air 50%	-9.33333*			.62994	.000	-11.6392	-7.0275		
Air 25%	-6.66667*			.62994	.000	-8.9725	-4.3608		
Air 12,5%	-5.66667*			.62994	.000	-7.9725	-3.3608		
Ekstrak 50%	-5.00000*			.62994	.000	-7.3058	-2.6942		
Ekstrak 25%	-4.33333*			.62994	.000	-6.6392	-2.0275		
Ekstrak 12,5%	-2.00000			.62994	.141	-4.3058	.3058		
Kontrol positif (kotrimoksazole)	-12.33333*			.62994	.000	-14.6392	-10.0275		
Kontrol negatif (DMSO 5%)	10.66667*			.62994	.000	8.3608	12.9725		
n-heksan 12,5	n-heksan 50%			n-heksan 25%	-2.00000	.62994	.141	-4.3058	.3058
				Etil asetat 50%	1.00000	.62994	.935	-1.3058	3.3058
		Etil asetat 25%	2.00000	.62994	.141	-.3058	4.3058		
		Etil asetat 12,5%	2.66667*	.62994	.013	.3608	4.9725		
		Air 50%	-9.66667*	.62994	.000	-11.9725	-7.3608		
		Air 25%	-7.00000*	.62994	.000	-9.3058	-4.6942		
		Air 12,5%	-6.00000*	.62994	.000	-8.3058	-3.6942		
		Ekstrak 50%	-5.33333*	.62994	.000	-7.6392	-3.0275		
		Ekstrak 25%	-4.66667*	.62994	.000	-6.9725	-2.3608		
		Ekstrak 12,5%	-2.33333*	.62994	.045	-4.6392	-.0275		
		Kontrol positif (kotrimoksazole)	-12.66667*	.62994	.000	-14.9725	-10.3608		
		Kontrol negatif (DMSO 5%)	10.33333*	.62994	.000	8.0275	12.6392		

Etil asetat 50%	n-heksan 50%	-3.00000	.62994	.003	-5.3058	-.6942
	n-heksan 25%	-1.33333	.62994	.685	-3.6392	.9725
	n-heksan 12,5%	-1.00000	.62994	.935	-3.3058	1.3058
	Etil asetat 25%	1.00000	.62994	.935	-1.3058	3.3058
	Etil asetat 12,5%	1.66667	.62994	.358	-.6392	3.9725
	Air 50%	-10.66667	.62994	.000	-12.9725	-8.3608
	Air 25%	-8.00000	.62994	.000	-10.3058	-5.6942
	Air 12,5%	-7.00000	.62994	.000	-9.3058	-4.6942
	Ekstrak 50%	-6.33333	.62994	.000	-8.6392	-4.0275
	Ekstrak 25%	-5.66667	.62994	.000	-7.9725	-3.3608
	Ekstrak 12,5%	-3.33333	.62994	.001	-5.6392	-1.0275
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-13.66667	.62994	.000	-15.9725	-11.3608
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	9.33333	.62994	.000	7.0275	11.6392
Etil asetat 25%	n-heksan 50%	-4.00000	.62994	.000	-6.3058	-1.6942
	n-heksan 25%	-2.33333	.62994	.045	-4.6392	-.0275
	n-heksan 12,5%	-2.00000	.62994	.141	-4.3058	.3058
	Etil asetat 50%	-1.00000	.62994	.935	-3.3058	1.3058
	Etil asetat 12,5%	.66667	.62994	.998	-1.6392	2.9725
	Air 50%	-11.66667	.62994	.000	-13.9725	-9.3608
	Air 25%	-9.00000	.62994	.000	-11.3058	-6.6942
	Air 12,5%	-8.00000	.62994	.000	-10.3058	-5.6942
	Ekstrak 50%	-7.33333	.62994	.000	-9.6392	-5.0275
	Ekstrak 25%	-6.66667	.62994	.000	-8.9725	-4.3608
	Ekstrak 12,5%	-4.33333	.62994	.000	-6.6392	-2.0275
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-14.66667	.62994	.000	-16.9725	-12.3608
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	8.33333	.62994	.000	6.0275	10.6392
Etil asetat 12,5%	n-heksan 50%	-4.66667	.62994	.000	-6.9725	-2.3608
	n-heksan 25%	-3.00000	.62994	.003	-5.3058	-.6942
	n-heksan 12,5%	-2.66667	.62994	.013	-4.9725	-.3608
	Etil asetat 50%	-1.66667	.62994	.358	-3.9725	.6392
	Etil asetat 25%	-.66667	.62994	.998	-2.9725	1.6392
	Air 50%	-12.33333	.62994	.000	-14.6392	-10.0275
	Air 25%	-9.66667	.62994	.000	-11.9725	-7.3608
	Air 12,5%	-8.66667	.62994	.000	-10.9725	-6.3608
	Ekstrak 50%	-8.00000	.62994	.000	-10.3058	-5.6942
	Ekstrak 25%	-7.33333	.62994	.000	-9.6392	-5.0275
	Ekstrak 12,5%	-5.00000	.62994	.000	-7.3058	-2.6942
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-15.33333	.62994	.000	-17.6392	-13.0275
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	7.66667	.62994	.000	5.3608	9.9725
Air 50%	n-heksan 50%	7.66667	.62994	.000	5.3608	9.9725
	n-heksan 25%	9.33333	.62994	.000	7.0275	11.6392
	n-heksan 12,5%	9.66667	.62994	.000	7.3608	11.9725
	Etil asetat 50%	10.66667	.62994	.000	8.3608	12.9725
	Etil asetat 25%	11.66667	.62994	.000	9.3608	13.9725
	Etil asetat 12,5%	12.33333	.62994	.000	10.0275	14.6392
Air 25%	2.66667	.62994	.013	.3608	4.9725	

	Air 12,5%	3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.3608	5.9725
	Ekstrak 50%	4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.0275	6.6392
	Ekstrak 25%	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.6942	7.3058
	Ekstrak 12,5%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.0275	9.6392
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.003	-5.3058	-.6942
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	20.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	17.6942	22.3058
Air 25%	n-heksan 50%	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.6942	7.3058
	n-heksan 25%	6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.3608	8.9725
	n-heksan 12,5%	7.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.6942	9.3058
	Etil asetat 50%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.6942	10.3058
	Etil asetat 25%	9.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.6942	11.3058
	Etil asetat 12,5%	9.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	7.3608	11.9725
	Air 50%	-2.66667 <sup>+</sup>	.62994	.013	-4.9725	-.3608
	Air 12,5%	1.00000 <sup>+</sup>	.62994	.935	-1.3058	3.3058
	Ekstrak 50%	1.66667 <sup>+</sup>	.62994	.358	-.6392	3.9725
	Ekstrak 25%	2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.045	.0275	4.6392
	Ekstrak 12,5%	4.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.3608	6.9725
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-7.9725	-3.3608
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	17.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	15.0275	19.6392
Air 12,5%	n-heksan 50%	4.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.6942	6.3058
	n-heksan 25%	5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.3608	7.9725
	n-heksan 12,5%	6.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.6942	8.3058
	Etil asetat 50%	7.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.6942	9.3058
	Etil asetat 25%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.6942	10.3058
	Etil asetat 12,5%	8.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.3608	10.9725
	Air 50%	-3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-5.9725	-1.3608
	Air 25%	-1.00000 <sup>+</sup>	.62994	.935	-3.3058	1.3058
	Ekstrak 50%	.66667 <sup>+</sup>	.62994	.998	-1.6392	2.9725
	Ekstrak 25%	1.33333 <sup>+</sup>	.62994	.685	-.9725	3.6392
	Ekstrak 12,5%	3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.3608	5.9725
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-8.9725	-4.3608
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	16.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	14.0275	18.6392
Ekstrak 50%	n-heksan 50%	3.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	1.0275	5.6392
	n-heksan 25%	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.6942	7.3058
	n-heksan 12,5%	5.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.0275	7.6392
	Etil asetat 50%	6.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.0275	8.6392
	Etil asetat 25%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.0275	9.6392
	Etil asetat 12,5%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.6942	10.3058
	Air 50%	-4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-6.6392	-2.0275
	Air 25%	-1.66667 <sup>+</sup>	.62994	.358	-3.9725	.6392
	Air 12,5%	-.66667 <sup>+</sup>	.62994	.998	-2.9725	1.6392
	Ekstrak 25%	.66667 <sup>+</sup>	.62994	.998	-1.6392	2.9725
	Ekstrak 12,5%	3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.003	.6942	5.3058
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-9.6392	-5.0275
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	15.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	13.3608	17.9725

Ekstrak 25%	n-heksan 50%	2.66667	.62994	.013	.3608	4.9725
	n-heksan 25%	4.33333	.62994	.000	2.0275	6.6392
	n-heksan 12,5%	4.66667	.62994	.000	2.3608	6.9725
	Etil asetat 50%	5.66667	.62994	.000	3.3608	7.9725
	Etil asetat 25%	6.66667	.62994	.000	4.3608	8.9725
	Etil asetat 12,5%	7.33333	.62994	.000	5.0275	9.6392
	Air 50%	-5.00000	.62994	.000	-7.3058	-2.6942
	Air 25%	-2.33333	.62994	.045	-4.6392	-.0275
	Air 12,5%	-1.33333	.62994	.685	-3.6392	.9725
	Ekstrak 50%	-.66667	.62994	.998	-2.9725	1.6392
	Ekstrak 12,5%	2.33333	.62994	.045	.0275	4.6392
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-8.00000	.62994	.000	-10.3058	-5.6942
	Kontrol negatif(DMSO 5%)	15.00000	.62994	.000	12.6942	17.3058
	Ekstrak 12,5%	n-heksan 50%	.33333	.62994	1.000	-1.9725
n-heksan 25%		2.00000	.62994	.141	-.3058	4.3058
n-heksan 12,5%		2.33333	.62994	.045	.0275	4.6392
Etil asetat 50%		3.33333	.62994	.001	1.0275	5.6392
Etil asetat 25%		4.33333	.62994	.000	2.0275	6.6392
Etil asetat 12,5%		5.00000	.62994	.000	2.6942	7.3058
Air 50%		-7.33333	.62994	.000	-9.6392	-5.0275
Air 25%		-4.66667	.62994	.000	-6.9725	-2.3608
Air 12,5%		-3.66667	.62994	.000	-5.9725	-1.3608
Ekstrak 50%		-3.00000	.62994	.003	-5.3058	-.6942
Ekstrak 25%		-2.33333	.62994	.045	-4.6392	-.0275
Kontrol positif (kotrimoksazole)		-10.33333	.62994	.000	-12.6392	-8.0275
Kontrol negatif (DMSO 5%)		12.66667	.62994	.000	10.3608	14.9725
Kontrol positif (kotrimo ksazole)		n-heksan 50%	10.66667	.62994	.000	8.3608
	n-heksan 25%	12.33333	.62994	.000	10.0275	14.6392
	n-heksan 12,5%	12.66667	.62994	.000	10.3608	14.9725
	Etil asetat 50%	13.66667	.62994	.000	11.3608	15.9725
	Etil asetat 25%	14.66667	.62994	.000	12.3608	16.9725
	Etil asetat 12,5%	15.33333	.62994	.000	13.0275	17.6392
	Air 50%	3.00000	.62994	.003	.6942	5.3058
	Air 25%	5.66667	.62994	.000	3.3608	7.9725
	Air 12,5%	6.66667	.62994	.000	4.3608	8.9725
	Ekstrak 50%	7.33333	.62994	.000	5.0275	9.6392
	Ekstrak 25%	8.00000	.62994	.000	5.6942	10.3058
	Ekstrak 12,5%	10.33333	.62994	.000	8.0275	12.6392
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	23.00000	.62994	.000	20.6942	25.3058
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	n-heksan 50%	-12.33333	.62994	.000	-14.6392
n-heksan 25%		-10.66667	.62994	.000	-12.9725	-8.3608
n-heksan 12,5%		-10.33333	.62994	.000	-12.6392	-8.0275
Etil asetat 50%		-9.33333	.62994	.000	-11.6392	-7.0275
Etil asetat 25%		-8.33333	.62994	.000	-10.6392	-6.0275
Etil asetat 12,5%		-7.66667	.62994	.000	-9.9725	-5.3608
Air 50%		-20.00000	.62994	.000	-22.3058	-17.6942

	Air 25%	-17.33333	.62994	.000	-19.6392	-15.0275
	Air 12,55	-16.33333	.62994	.000	-18.6392	-14.0275
	Ekstrak 50%	-15.66667	.62994	.000	-17.9725	-13.3608
	Ekstrak 25%	-15.00000	.62994	.000	-17.3058	-12.6942
	Ekstrak 12,5%	-12.66667	.62994	.000	-14.9725	-10.3608
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-23.00000	.62994	.000	-25.3058	-20.6942
LSD	n-heksan 50%	1.66667	.62994	.013	.3763	2.9570
	n-heksan 12,5%	2.00000	.62994	.004	.7096	3.2904
	Etil asetat 50%	3.00000	.62994	.000	1.7096	4.2904
	Etil asetat 25%	4.00000	.62994	.000	2.7096	5.2904
	Etil asetat 12,5%	4.66667	.62994	.000	3.3763	5.9570
	Air 50%	-7.66667	.62994	.000	-8.9570	-6.3763
	Air 25%	-5.00000	.62994	.000	-6.2904	-3.7096
	Air 12,55	-4.00000	.62994	.000	-5.2904	-2.7096
	Ekstrak 50%	-3.33333	.62994	.000	-4.6237	-2.0430
	Ekstrak 25%	-2.66667	.62994	.000	-3.9570	-1.3763
	Ekstrak 12,5%	-.33333	.62994	.601	-1.6237	.9570
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-10.66667	.62994	.000	-11.9570	-9.3763
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	12.33333	.62994	.000	11.0430	13.6237
	n-heksan 25%	-1.66667	.62994	.013	-2.9570	-.3763
	n-heksan 12,5%	.33333	.62994	.601	-.9570	1.6237
	Etil asetat 50%	1.33333	.62994	.043	.0430	2.6237
	Etil asetat 25%	2.33333	.62994	.001	1.0430	3.6237
	Etil asetat 12,5%	3.00000	.62994	.000	1.7096	4.2904
	Air 50%	-9.33333	.62994	.000	-10.6237	-8.0430
	Air 25%	-6.66667	.62994	.000	-7.9570	-5.3763
	Air 12,5%	-5.66667	.62994	.000	-6.9570	-4.3763
	Ekstrak 50%	-5.00000	.62994	.000	-6.2904	-3.7096
	Ekstrak 25%	-4.33333	.62994	.000	-5.6237	-3.0430
	Ekstrak 50%	-2.00000	.62994	.004	-3.2904	-.7096
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-12.33333	.62994	.000	-13.6237	-11.0430
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	10.66667	.62994	.000	9.3763	11.9570
	n-heksan 12,5%	-2.00000	.62994	.004	-3.2904	-.7096
	n-heksan 25%	-.33333	.62994	.601	-1.6237	.9570
	Etil asetat 50%	1.00000	.62994	.124	-.2904	2.2904
	Etil asetat 25%	2.00000	.62994	.004	.7096	3.2904
	Etil asetat 12,5%	2.66667	.62994	.000	1.3763	3.9570
	Air 50%	-9.66667	.62994	.000	-10.9570	-8.3763
	Air 25%	-7.00000	.62994	.000	-8.2904	-5.7096
	Air 12,5%	-6.00000	.62994	.000	-7.2904	-4.7096
	Ekstrak 50%	-5.33333	.62994	.000	-6.6237	-4.0430
	Ekstrak 25%	-4.66667	.62994	.000	-5.9570	-3.3763
	Ekstrak 12,5%	-2.33333	.62994	.001	-3.6237	-1.0430
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-12.66667	.62994	.000	-13.9570	-11.3763
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	10.33333	.62994	.000	9.0430	11.6237
Etil	n-hekan 50%	-3.00000	.62994	.000	-4.2904	-1.7096

asetat 50%	n-heksan 25%	-1.33333	.62994	.043	-2.6237	-.0430
	n-heksan 12,5%	-1.00000	.62994	.124	-2.2904	.2904
	Etil asetat 25%	1.00000	.62994	.124	-.2904	2.2904
	Etil asetat 12,5%	1.66667	.62994	.013	.3763	2.9570
	Air 50%	-10.66667	.62994	.000	-11.9570	-9.3763
	Air 25%	-8.00000	.62994	.000	-9.2904	-6.7096
	Air 12,5%	-7.00000	.62994	.000	-8.2904	-5.7096
	Ekstrak 50%	-6.33333	.62994	.000	-7.6237	-5.0430
	Ekstrak 25%	-5.66667	.62994	.000	-6.9570	-4.3763
	Ekstrak 12,55	-3.33333	.62994	.000	-4.6237	-2.0430
	Kontrl positif (kotrimoksazole)	-13.66667	.62994	.000	-14.9570	-12.3763
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	9.33333	.62994	.000	8.0430	10.6237
Etil asetat 25%	n-heksan 50%	-4.00000	.62994	.000	-5.2904	-2.7096
	n-heksan 25%	-2.33333	.62994	.001	-3.6237	-1.0430
	n-heksan 12,5%	-2.00000	.62994	.004	-3.2904	-.7096
	Etil asetat 50%	-1.00000	.62994	.124	-2.2904	.2904
	Etil asetat 12,5%	.66667	.62994	.299	-.6237	1.9570
	Air 50%	-11.66667	.62994	.000	-12.9570	-10.3763
	Air 25%	-9.00000	.62994	.000	-10.2904	-7.7096
	Air 12,5%	-8.00000	.62994	.000	-9.2904	-6.7096
	Ekstrak 50%	-7.33333	.62994	.000	-8.6237	-6.0430
	Ekstrak 25%	-6.66667	.62994	.000	-7.9570	-5.3763
	Ekstrak 12,5%	-4.33333	.62994	.000	-5.6237	-3.0430
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-14.66667	.62994	.000	-15.9570	-13.3763
Kontrol negatif (DMSO 5%)	8.33333	.62994	.000	7.0430	9.6237	
Etil asetat 12,5%	n-heksan 50%	-4.66667	.62994	.000	-5.9570	-3.3763
	n-heksan 25%	-3.00000	.62994	.000	-4.2904	-1.7096
	n-heksan 12,5%	-2.66667	.62994	.000	-3.9570	-1.3763
	Etil asetat 50%	-1.66667	.62994	.013	-2.9570	-.3763
	Etil asetat 25%	-.66667	.62994	.299	-1.9570	.6237
	Air 50%	-12.33333	.62994	.000	-13.6237	-11.0430
	Air 25%	-9.66667	.62994	.000	-10.9570	-8.3763
	Air 12,5%	-8.66667	.62994	.000	-9.9570	-7.3763
	Ekstrak 50%	-8.00000	.62994	.000	-9.2904	-6.7096
	Ekstrak 25%	-7.33333	.62994	.000	-8.6237	-6.0430
	Ekstrak 12,5%	-5.00000	.62994	.000	-6.2904	-3.7096
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-15.33333	.62994	.000	-16.6237	-14.0430
Kontrol negatif (DMSO5%)	7.66667	.62994	.000	6.3763	8.9570	
Air 50%	n-heksan 50%	7.66667	.62994	.000	6.3763	8.9570
	n-heksan 25%	9.33333	.62994	.000	8.0430	10.6237
	n-heksan 12,5%	9.66667	.62994	.000	8.3763	10.9570
	Etil asetat 50%	10.66667	.62994	.000	9.3763	11.9570
	Etil asetat 25%	11.66667	.62994	.000	10.3763	12.9570
	Etil asetat 12,5%	12.33333	.62994	.000	11.0430	13.6237
	Air 25%	2.66667	.62994	.000	1.3763	3.9570
	Air 12,55	3.66667	.62994	.000	2.3763	4.9570

	Ekstrak 50%	4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.0430	5.6237
	Ekstrak 25%	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.7096	6.2904
	Ekstrak 12,5%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.0430	8.6237
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	-4.2904	-1.7096
	Kontrol negatif(DMSO 5%)	20.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	18.7096	21.2904
Air 25%	n-heksan 50%	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.7096	6.2904
	n-heksan 25%	6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.3763	7.9570
	n-hksan 12,5%	7.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.7096	8.2904
	Etil asetat 50%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.7096	9.2904
	Etil asetat 25%	9.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	7.7096	10.2904
	Etil asetat 12,5%	9.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	8.3763	10.9570
	Air 50%	-2.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-3.9570	-1.3763
	Air 12,5%	1.00000 <sup>+</sup>	.62994	.124	-.2904	2.2904
	Ekstrak 50%	1.66667 <sup>+</sup>	.62994	.013	.3763	2.9570
	Ekstrak 25%	2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	1.0430	3.6237
	Ekstrak 12,5%	4.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.3763	5.9570
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-6.9570	-4.3763
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	17.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	16.0430	18.6237
Air 12,5%	n-heksan 50%	4.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.7096	5.2904
	n-heksan 25%	5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.3763	6.9570
	n-heksan 12,55	6.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.7096	7.2904
	Etil asetat 50%	7.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.7096	8.2904
	Etil asetat 25%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.7096	9.2904
	Etil asetat 12,5%	8.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	7.3763	9.9570
	Air 50%	-3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-4.9570	-2.3763
	Air 25%	-1.00000 <sup>+</sup>	.62994	.124	-2.2904	.2904
	Ekstrak 50%	.66667 <sup>+</sup>	.62994	.299	-.6237	1.9570
	Ekstrak 25%	1.33333 <sup>+</sup>	.62994	.043	.0430	2.6237
	Ekstrak 12,5%	3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.3763	4.9570
	Kontrol positif(Kotrimoks azole)	-6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-7.9570	-5.3763
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	16.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	15.0430	17.6237
Ekstrak 50%	n-heksan 50%	3.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.0430	4.6237
	n-heksan 255	5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.7096	6.2904
	n-heksan 12,5%	5.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.0430	6.6237
	Etil asetat 50%	6.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.0430	7.6237
	Etil asetat 25%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.0430	8.6237
	Etil asetat 12,5%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.7096	9.2904
	Air 50%	-4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-5.6237	-3.0430
	Air 25%	-1.66667 <sup>+</sup>	.62994	.013	-2.9570	-.3763
	Air 12,5%	-.66667 <sup>+</sup>	.62994	.299	-1.9570	.6237
	Ekstrak 25%	.66667 <sup>+</sup>	.62994	.299	-.6237	1.9570
	Ekstrak 12,5%	3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.7096	4.2904
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	-7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-8.6237	-6.0430



	Kontrol negatif (DMSO 5%)	15.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	14.3763	16.9570
Ekstrak 25%	n-heksan 50%	2.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.3763	3.9570
	n-heksan 25%	4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.0430	5.6237
	n-heksan 12,5%	4.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.3763	5.9570
	Etil asetat 50%	5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.3763	6.9570
	Etil asetat 25%	6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.3763	7.9570
	Etil asetat 12,5%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.0430	8.6237
	Air 50%	-5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	-6.2904	-3.7096
	Air 25%	-2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	-3.6237	-1.0430
	Air 12,5%	-1.33333 <sup>+</sup>	.62994	.043	-2.6237	-.0430
	Ekstrak 50%	-.66667 <sup>+</sup>	.62994	.299	-1.9570	.6237
	Ekstrak 12,5%	2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	1.0430	3.6237
	Kontrol positif (kotrimokszole)	-8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	-9.2904	-6.7096
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	15.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	13.7096	16.2904
	Ekstrak 12,5%	n-heksan 50%	.33333 <sup>+</sup>	.62994	.601	-.9570
n-heksan 25%		2.00000 <sup>+</sup>	.62994	.004	.7096	3.2904
n-heksan 12,5%		2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	1.0430	3.6237
Etil asetat 50%		3.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	2.0430	4.6237
Etil asetat 25%		4.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.0430	5.6237
Etil asetat 12,5%		5.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	3.7096	6.2904
Air 50%		-7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-8.6237	-6.0430
Air 25%		-4.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-5.9570	-3.3763
Air 12,5%		-3.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-4.9570	-2.3763
Ekstrak 50%		-3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	-4.2904	-1.7096
Ekstrak 25%		-2.33333 <sup>+</sup>	.62994	.001	-3.6237	-1.0430
Kontrol positif (kotrimokszazole)		-10.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-11.6237	-9.0430
Kontrol negatif (DMSO 5%)		12.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	11.3763	13.9570
Kontrol positif (kotrimokszazole)		n-heksan 50%	10.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	9.3763
	n-heksan 25%	12.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	11.0430	13.6237
	n-heksan 12,5%	12.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	11.3763	13.9570
	Etil asetat 50%	13.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	12.3763	14.9570
	Etil asetat 25%	14.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	13.3763	15.9570
	Etil asetat 12,5%	15.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	14.0430	16.6237
	Air 50%	3.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	1.7096	4.2904
	Air 25%	5.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	4.3763	6.9570
	Air 12,5%	6.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	5.3763	7.9570
	Ekstrak 50%	7.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.0430	8.6237
	Ekstrak 25%	8.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	6.7096	9.2904
	Ekstrak 12,5%	10.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	9.0430	11.6237
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	23.00000 <sup>+</sup>	.62994	.000	21.7096	24.2904
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	n-heksan 50%	-12.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-13.6237
n-heksan 25%		-10.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-11.9570	-9.3763
n-heksan 12,5%		-10.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-11.6237	-9.0430
Etil asetat 50%		-9.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-10.6237	-8.0430
Etil asetat 25%		-8.33333 <sup>+</sup>	.62994	.000	-9.6237	-7.0430
Etil asetat 12,5%		-7.66667 <sup>+</sup>	.62994	.000	-8.9570	-6.3763

Air 50%	-20.0000 <sup>*</sup>	.62994	.000	-21.2904	-18.7096
Air 25%	-17.3333 <sup>*</sup>	.62994	.000	-18.6237	-16.0430
Air 12,5%	-16.3333 <sup>*</sup>	.62994	.000	-17.6237	-15.0430
Ekstrak 50%	-15.6667 <sup>*</sup>	.62994	.000	-16.9570	-14.3763
Ekstrak 25%	-15.0000 <sup>*</sup>	.62994	.000	-16.2904	-13.7096
Ekstrak 12,5%	-12.6667 <sup>*</sup>	.62994	.000	-13.9570	-11.3763
Kontrol positif (kotrimoksazole)	-23.0000 <sup>*</sup>	.62994	.000	-24.2904	-21.7096

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

## Homogeneous Subsets

konsentrasi		dayahambat										
		N	Subset for alpha = 0.05									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tuke	Kontrol negatif (DMSO 5%)	3	.0000									
y	n-heksan 12,5%	3		7.6667								
HSD <sup>a</sup>	n-heksan 25%	3		8.3333	8.3333							
	n-heksan 50%	3		9.3333	9.3333	9.3333						
	Ekstrak 12,5%	3			10.3333	10.3333	10.3333					
	Ekstrak 25%	3				10.6667	10.6667	10.6667				
	Ekstrak 50%	3					12.3333	12.3333				
	Air 12,5%	3						12.6667				
	Air 25%	3							15.0000			
	Air 50%	3							15.6667	15.6667		
	Etil asetat 12,5%	3							16.3333	16.3333		
	Etil asetat 25%	3								17.3333		
	7etil asetat 50%	3									20.0000	
	Kontrol positif (kotrimoksazole)	3										23.0000
	Sig.		1.000	.358	.141	.685	.141	.141	.685	.358	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.