

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

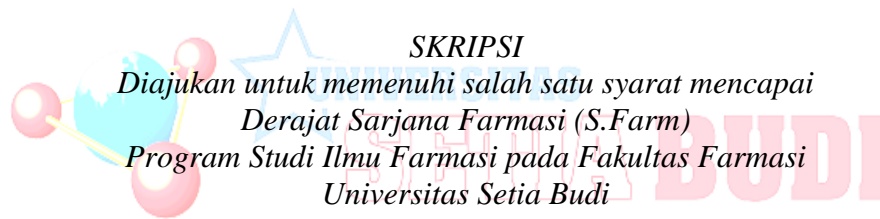


Oleh :

**Indra Fathur Firmansyah
19133773A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Indra Fathur Firmansyah
19133773A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :

Indra Fathur Firmansyah

19133773A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Bu



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Drs. Edy Prasetya, M.Si
3. Ghani Nurfiana FS, M.Farm., Apt
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

1.		
2.		
3.		
4.		

PERNYATAAN

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 pustaka.

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

Surakarta, 9 Juni 2017



Indra Fathur Firmansyah

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Allah menghendaki untukmu kemudahan dan tidak menghendaki
untukmu kesukaran”

(Q.S Al-Baqarah : 185)

“Sesungguhnya sesudah ada kesulitan itu ada kemudahan”

(Q.S Al-Insyirah : 6)

Tidak ada kata arti kesulitan jika kita terus mampu berusaha, terus
berusaha, berdoa, dan pantang menyerah

(Indra Fathur Firmansyah)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

ALLAH SWT yang senantiasa memberikan Rahmat dan
Anugrah-Nya kepada penulis

Ayahku (Burhanuddin. G) dan Ibuku (Wagini), Kakaku (Ade dan
Elin), Kekasihku (Niysa) dan seluruh keluarga besarku yang
telah memberikan pengorbanan, nasehat, pengertian, dan
dukungan moril maupun materiil, serta memberikan
semangat dan doa untuk segera
menyelesaikan skripsi ini.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Tuhan semesta alam Sang Pemberi Rizki dan kesempatan, atas magfirah dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**” 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. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama dan D. Andang Arif Wibawa, S.P., 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. Rekan penelitian Hanifatih Eka S, Setiaji Wisnu W, Dika Putri Ratna S, Atmita Dwi W, Yuliana Devianti, Agusthina Try A, Tiara Eka F, atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuanganku FKK 2,teman-teman kost, teman-teman anak kutai kartanegara, teman-teman KKN dan teman-teman S1-Farmasi yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta, 9 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Masalah	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Kenikir.....	4
1. Klasifikasi tanaman	4
2. Deskripsi tanaman	5
3. Khasiat tanaman	5
4. Kandungan kimia.....	5
B. Simplisia.....	7
1. Pengertian simplisia.....	7
2. Pengumpulan simplisia.....	7
3. Penyortiran awal (segar).....	7
4. Pencucian dan pengeringan	7
C. Metode Penyarian.....	8
1. Ekstraksi	8
2. Maserasi.....	8
3. Fraksinasi.....	9
4. Larutan penyari.....	9
D. Media.....	10
1. Pengertian	10
E. Sterilisasi	11
F. <i>Staphylococcus aureus</i>	12

1. Sistematika bakteri	12
2. Karakteristik bakteri	12
3. Patogenesis	12
G. Antibakteri.....	13
1. Definisi	13
H. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	14
I. Siprofloksasin.....	15
J. Landasan Teori.....	16
K. Hipotesis.....	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Populasi dan Sampel	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi variabel utama	19
2. Klasifikasi variabel utama	19
3. Definisi operasional variabel utama	20
C. Alat dan Bahan	21
1. Alat	21
2. Bahan	21
D. Jalannya Penelitian	22
1. Determinasi tanaman	22
2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk.....	22
3. Kadar air serbuk daun kenikir	22
4. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir	23
5. Uji bebas etanol daun kenikir	23
6. Fraksinasi.....	23
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir.....	23
8. Sterilisasi	24
9. Pembuatan suspensi bakteri uji	25
10. Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25
11. Uji aktivitas antibakteri	26
12. Analisis hasil	27
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
1. Determinasi tanaman kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.).....	33
2. Pengambilan bahan.....	33
3. Pembuatan serbuk.....	33
4. Penetapan kadar air serbuk daun kenikir.....	34
5. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir	34
6. Uji bebas etanol daun kenikir	35
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir.....	35
8. Fraksinasi daun kenikir.....	36
9. Identifikasi senyawa fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.).....	37
10. Pembuatan suspensi bakteri uji	38

11. Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	38
12. Sterilisasi	39
13. Uji aktivitas antibakteri secara difusi	40
14. Uji aktivitas antibakteri secara dilusi dan antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	43
BAB VKESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan.....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Cosmos caudatus</i> Kunth. (Dokumen pribadi)	4
Gambar 2. Skema jalannya penelitian.....	28
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.)	29
Gambar 4. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir terhadap <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	30
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat secara dilusi.....	31
Gambar 6. Skema pengujian siprofloksasin sebagai kontrol pembanding secara dilusi.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah	33
Tabel 2. Penetapan kadar air daun kenikir dengan <i>Sterling bidwell</i>	34
Tabel 3. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir	35
Tabel 4. Uji bebas etanol ekstrak daun kenikir	35
Tabel 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kenikir.....	35
Tabel 6. Rendemen hasil total fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air	36
Tabel 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi daun kenikir	37
Tabel 8. Identifikasi bakteri uji katalase dan uji koagulase.....	39
Tabel 9. Diameter hambat pada aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat,dan air	40
Tabel 10. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi fraksi etil asetat daun kenikir	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kenikir.....	51
Lampiran 2. Foto daun kenikir dan serbuk daun kenikir	52
Lampiran 3. Foto alat	53
Lampiran 4. Foto alat	54
Lampiran 5. Foto uji bebas etanol, dan alat <i>Sterling bidwell</i>	55
Lampiran 6. Foto hasil ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air	56
Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun kenikir	57
Lampiran 8. Foto identifikasi senyawa kimia fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air	58
Lampiran 9. Foto corong pisah fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan air.....	59
Lampiran 10. Foto suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, identifikasi bakterimedia selektif, mikroskopis, uji biokimia dan suspensi bakteri.....	60
Lampiran 11. Foto hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi	61
Lampiran 12. Diameter hambat pada aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan airdari ekstrak etanol daun kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	62
Lampiran 13. Foto hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat secara dilusi ...	63
Lampiran 14. Foto hasil siprofloksasin secara dilusi	64
Lampiran 15. Perhitungan Persentase bobot kering terhadap bobot basah	65
Lampiran 16. Hasil Perhitungan persen rendemen kadar air daun kenikir	65
Lampiran 17. Hasil persentase ekstrak daun kenikir	66
Lampiran 18. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air	66
Lampiran 19. Pembuatan larutan stok difusi dan dilusi.....	67
Lampiran 20. Perhitungan siprofloksasin	69
Lampiran 21. Hasil data difusi secara ANOVA one way	71

INTISARI

FIRMANSYAH, I. F., 2017 AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak etanol daun kenikir sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Daun kenikir diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5%, sedangkan metode dilusi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,196%; dan 0,098%. Kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5 μ g dan kontrol negatif DMSO 5%.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Diameter zona hambat yang paling besar yaitu etil asetat pada konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat 18,56 mm. Fraksi etil asetat merupakan fraksi paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga dilanjutkan dengan metode dilusi dan hasil konsentrasi bunuh minimum 3,125%.

Kata kunci : Kenikir, fraksinasi, antibakteri, difusi, dilusi.

ABSTRACT

FIRMANSYAH, I. F., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER FRACTION OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF KENIKIR LEAF (*Cosmos caudatus* Kunth.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

(*Cosmos caudatus* Kunth.) leaves containing flavonoids, saponins, alkaloids and tannins This research aims to determine the activity of *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction, and ethanolic extract of Kenikir leaf as antibacterial against the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kenikir leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol solvent, then continued with fractination used *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvent. The antibacterial activity used diffusion method concentrated of 50%; 25%; and 12.5%, while dilution method with concentrated of 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.563%; 0.781%; 0.391%; 0.196%; and 0.098%. The positive control used ciprofloxacin 5 μ g and negative control used 5 % of DMSO

The results showed that extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The largest diameter of inhibitory zone was ethyl acetate at concentration of 50% with mean inhibition zone is 18.56 mm. The most effective fraction of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 is the ethyl acetate fraction, so it was followed by dilution method and the result of Minimum Killing Concentration is 3.125%.

Keywords: Kenikir, fractination, antibacterial, diffusion, dilution

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia, jauh sebelum pelayanan kesehatan dengan obat-obatan modern yang dikenal masyarakat. Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat merupakan pengobatan yang dimanfaatkan dan diakui masyarakat dunia, yang menandai kesadaran untuk kembali ke alam (*back to nature*) adalah untuk mencapai kesehatan yang optimal dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma 2000). Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan memiliki efek samping dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah 2005).

Penyakit infeksi bakteri pada kulit cukup banyak ditemukan di Indonesia, yang merupakan negara tropis beriklim panas dan lembab, apalagi bila kebersihan tidak terjaga dengan baik, sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri yang sangat mudah terjadi dan dapat menimbulkan penyakit yang serius pada manusia. Munculnya luka bernanah disebabkan karena adanya luka yang terinfeksi ringan oleh bakteri pembentuk nanah seperti *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan hemolisis darah, mengkoagulasi plasma, serta menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler, dan toksin ekstraseluler (Jawetz *et al.* 2012).

Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling banyak menyebabkan infeksi dalam kehidupan sehari-hari. Bakteri ini merupakan bakteri patogen utama bagi manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai masalah seperti keracunan makanan berat atau infeksi kulit yang kecil sampai infeksi yang tidak dapat disembuhkan (Jawetz *et al.* 2012).

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan salah satu tumbuhan alam yang banyak tersedia dan mudah diperoleh di Asia seperti di Indonesia. Bagian daun muda kenikir sering dikonsumsi masyarakat sebagai lalapan atau

dijadikan makanan pembuka karena memiliki rasa dan aroma yang khas (Shui 2005). Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, tumbuhan kenikir memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* (Rasdi *et al.* 2010).

Daun kenikir memiliki kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Rasdi *et al.* 2010). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gaty (2015) terhadap daun kenikir dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode sumur difusi agar dengan oksitetrasiklin sebagai antibakteri pembanding dan pelarut ekstrak yang digunakan adalah dimetilsulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif, diketahui bahwa ekstrak uji diperoleh dengan cara maserasi secara bertingkat menggunakan 3 pelarut yang berbeda kepolaran (*n*-heksana, etil asetat, etanol 70%). Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan ekstrak *n*-heksana dihasilkan daya hambat sebesar $1,28 \pm 0,12$ mm, ekstrak etil asetat $1,49 \pm 0,05$ mm, dan ekstrak etanol $0,55 \pm 0,78$ mm. Pada penelitian tersebut dilihat dari zona hambatnya bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar $1,49 \pm 0,05$ mm.

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, dari ekstrak etanol dan ketiga fraksi daun kenikir tersebut manakah yang memiliki aktivitas paling efektif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Masalah

Pertama, mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui fraksi yang paling efektif terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Pengembangan tanaman tradisional khususnya daun kenikir sebagai antibakteri dapat memberikan landasan ilmiah bagi peneliti selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kenikir

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi secara lengkap tanaman kenikir adalah sebagai berikut (Simpson 2006).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : *Fabales*
Famili : *Asteraceae*
Genus : *Cosmos*
Spesies : *Cosmos caudatus*



Gambar 1. *Cosmos caudatus* Kunth. (Dokumen pribadi)

Tanaman daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki beberapa nama daerah yaitu Ulam raja (Melayu), Kenikir (Jawa Tengah), Kembang tahi ayam (Bangka), Cosmos (Inggris), Turay-turay (Filipina), Estrella de Mar (Spanyol), Khamhae (Thailand) (Hariana 2008).

2. Deskripsi tanaman

Kenikir termasuk keluarga *Asteraceae*. Tumbuhan ini termasuk tumbuhan herbal semusim dengan tinggi antara 0,5–1,5 meter. Batang tegak, beralur, dan mempunyai banyak percabangan serta berwarna hijau terang keunguan. Daunnya lembut dan tajam. Ketika malam hari, biasanya daun melipat untuk menutup kuncup terminal. Daun majemuk berbentuk lanset dengan ujung meruncing dan berwarna hijau dengan tepi daun bergerigi. Bunga dari tumbuhan ini ditemukan soliter atau berkumpul dalam kelompok (majemuk) pada satu tangkai. Bunga majemuk mempunyai tangkai bunga berbentuk seperti cawan berwarna kuning. Setiap dibagian bawah bunga terdapat daun pembalut berwarna hijau berbentuk lonceng. Buahnya keras, berbentuk jarum, dan ujungnya berambut. Biji keras, kecil, berbentuk jarum dengan panjang ± 1 cm serta berwarna hitam (Hassan 2006).

Kenikir merupakan herba yang tersebar di Pulau Jawa dan tumbuh pada ketinggian 10-1400 mdpl. Tumbuhan yang termasuk dalam suku *Asteraceae* ini berasal dari Amerika Tengah, dan tersebar luas di seluruh wilayah Malaysia (Shui *et al.* 2005).

Kenikir merupakan sayuran tradisional yang sering dikonsumsi mentah sebagai lalapan atau dimasak sebagai sayur. Tumbuhan ini memiliki karakter yang unik, dengan aroma yang menarik sehingga menambah cita rasa pada makanan. Kenikir juga digunakan sebagai penyedap makanan dan obat tradisional (Abbas *et al.* 2003).

3. Khasiat tanaman

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) banyak dikonsumsi masyarakat sebagai sayuran. Secara tradisional daun ini juga digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, lemah lambung, penguat tulang, pengobatan infeksi kuman penyebab penyakit, dan pengusir serangga (Hariana 2013).

4. Kandungan kimia

Tanaman kenikir memiliki kandungan kimia antara lain: alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Rasdi 2010).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010).

Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri kemudian diikuti dengan adanya senyawa yang keluar dari dalam sel (Ngajow *et al.* 2013).

4.2. Saponin. Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, sehingga dapat direaksikan dengan air dan digojog maka akan terbentuk busa yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin bersifat racun bagi hewan yang berdarah dingin, sehingga saponin dapat digunakan sebagai racun ikan. Saponin bersifat keras atau racun yang biasa disebut sebagai saptotoksin (Prihatman 2001). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel menjadi rusak (Ayuningtyas 2008).

4.3. Tanin. Tanin adalah senyawa yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin merupakan senyawa fenol yang dapat larut dalam air dan memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da (Ismarani 2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba atau aktivitas enzim (Ajizah 2004).

4.4. Alkaloid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak

terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.* 2008).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang sudah dikeringkan dan dipergunakan sebagai obat, serta belum mengalami pengolahan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam antara lain simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang keluar secara spontan dari tanaman atau dengan cara yang sengaja dikeluarkan dari isinya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami pengolahan atau telah mengalami pengolahan dengan cara yang sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Utami *et al.* 2013).

2. Pengumpulan simplisia

Pengumpulan daun dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai pada saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak. Untuk pengambilan daun, dianjurkan dipetik pada saat warna daun berubah menjadi daun tua (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Penyortiran awal (segar)

Daun dari hasil panen secepatnya dilakukan penyortiran supaya mutunya dan kualitasnya tetap terjaga. Kotoran yang menempel pada daun langsung dibersihkan. Tujuan sortasi adalah untuk mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan dan mempermudah pencucian (Katno 2008).

4. Pencucian dan pengeringan

Pencucian bahan baku simplisia dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air

bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, pencucian dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prasetyo & Entang 2013).

Tujuan dilakukan pengeringan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut zat aktif, memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering yaitu oven. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan (Winangsih *et al.* 2013).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes 2000). Cairan penyari yang digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol, dan air. Penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011).

2. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Prinsip metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang *continue* (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes 2000).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, dimasukkan dalam bejana lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang digojog, kemudian ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Keuntungan metode maserasi adalah alat yang digunakan sederhana, murah, dan mudah dilakukan (Depkes 1986). Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan senyawa utama, kandungan satu dari senyawa utama lainnya berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya telah dipisahkan akan menjadi fraksi berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tersari ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan tersari ke pelarut non polar (Tiwari *et al.* 2011).

4. Larutan penyari

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar 2010).

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil, serta lemak, malam, tanin, dan saponin. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif dalam penyarian. Kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol diatas 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan (Depkes 1986).

Pelarut *n*-heksana merupakan pelarut non polar 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 non polar antara lain minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 1986).

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 menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri, diantaranya. Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol (Putri *et al.* 2013).

Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Pemekatan dapat dilakukan dengan penguapan menggunakan penangas air. Pelarut air dipilih karena air dapat melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lender, enzim, lilin, lemak, pektin, dan zat warna asam organik. Selain itu, air dapat dipertimbangkan sebagai penyari karena murah, mudah didapat, tidak mudah menguap, dan tidak beracun. Kekurangan dalam menggunakan air adalah mudah ditumbuhi kapang dan kuman serta cepat rusak dan untuk pengeringan dibutuhkan waktu yang lama (Depkes 1986).

D. Media

1. Pengertian

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi zat makanan yang dipakai untuk menumbuhkan mikroba. Nutrisi adalah substansi anorganik dan organik yang dalam larutan dapat melintas membran sitoplasma untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme. Proses penyerapan nutrisi disebut nutrisi. Persyaratan suatu media adalah harus mengandung semua nutrisi mudah digunakan bakteri harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai, tidak mengandung zat-zat penghambat dan harus steril (Suryono 1995).

Konsistensi media dapat dibuat bermacam-macam berdasarkan pada keperluannya. Klasifikasi media berdasarkan konsistensinya terdapat tiga bentuk media yaitu media cair (*liquid medium*), media padat (*solid medium*), dan media setengah padat (*semisolid medium*). Media cair (*liquid medium*) dapat digunakan

pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi, dan berbagai uji. Media padat (*solid medium*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid medium*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti & Wijayani 2008).

Berdasarkan fungsinya media dapat dibedakan menjadi tiga yaitu media selektif, media diferensial, dan media diperkaya. Media selektif adalah media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangan biakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Media diferensial digunakan untuk menyeleksi suatu mikroorganisme dari berbagai jenis dalam suatu lempengan agar. Media diperkaya digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang diperoleh dari lingkungan alami karena jumlah mikroorganisme yang ada terdapat dalam jumlah sedikit (Radji 2010).

E. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup yaitu mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma*, virus) yang terdapat dalam suatu benda (Darmawan 2006).

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering. Sterilisasi pemanasan kering bertujuan untuk mematikan organisme dengan cara mengoksidasi komponen sel atau mendenaturasi enzim, metode tersebut tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari karet atau plastik, waktu sterilisasinya adalah 2-3 jam dan alat yang digunakan yaitu oven dengan suhu 160-170°C. Sterilisasi pemanasan basah dengan menggunakan air yang mendidih 100°C selama 10 menit dan alat yang digunakan yaitu autoklaf, proses sterilisasi dengan autoklaf dapat membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membran sel mikroorganisme (Cahyani 2009).

Penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar x, sinar α , dan sinar UV untuk bahan yang tidak aktif akan berubah karena temperatur yang tinggi atau

tekanan yang tinggi. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Pratiwi 2008).

F. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika bakteri

Menurut G.M. Garrity *et al.* (2007) sistematika ilmiah dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Karakteristik bakteri

Staphylococcus aureus berbentuk kokus, bergaris tengah 0,8-1 mikrometer, termasuk Gram positif, terdapat tunggal, berpasangan, bergerombol menyerupai untaian anggur, dan biasanya tersusun dalam kelompok tak teratur. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas (Radji 2010).

Staphylococcus menghasilkan katalase. *Staphylococcus* memfermentasi banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak terdapat gas (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas dan dapat

memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe (Jawetz *et al.*2012).

Staphylococcus aureus terdapat di hidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1. Enterotoksin bersifat stabil terhadap panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Radji 2010).

G. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia (Agustrina 2011). Mekanisme kerja antibakteri ada lima yaitu :

1.1. Menghambat metabolisme dinding sel bakteri. Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat dan sulfon. Mekanisme kerja antibiotik ini dengan cara menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamide dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, sedangkan trimetoprim bekerja menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Setiabudy 2007).

1.2. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihambat oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel sedangkan yang lainnya menghambat reaksi di akhir sintesis peptidoglikan, sehingga

mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak dapat mempertahankan pertumbuhan sel bakteri secara normal, sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada tekanan diluar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis yang merupakan efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Jawetz *et al.*2012).

1.3. Mengganggu 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 proses, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain (Radji 2010).

1.4. Menghambat sintesis protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini yaitu aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, dan gentamisin (Radji 2010).

1.5. Menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) sel bakteri. Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin yang berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Pratiwi 2008).

H. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode antara lain:

Pertama, metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring dan sumuran. Metode dengan sumuran, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan media padat, media sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter

zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika-kimia, faktor antar obat, dan organisme (Jawetz *et al.* 2007).

Kedua, metode dilusi digunakan untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2007).

I. Siprofloksasin

Penelitian ini menggunakan siprofloksasin sebagai kontrol pembanding, siprofloksasin merupakan senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan cara menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesis DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Mirabillis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeroginosa*, serta bakteri Gram positif, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp* (Siswandono & Soekardjo 2000).

J. Landasan Teori

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan salah satu tumbuhan alam yang banyak tersedia dan mudah diperoleh di Asia seperti di Indonesia. Bagian daun muda kenikir sering dikonsumsi masyarakat sebagai lalapan atau dijadikan makanan pembuka karena memiliki rasa dan aroma yang khas (Shui 2005). Daun kenikir mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Rasdi *et al.*2010). Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, tumbuhan kenikir memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* (Rasdi *et al.*2010). Khasiat daun kenikir secara empiris digunakan untuk penambah nafsu makan, lemah lambung, penguat tulang, pengobatan infeksi kuman penyebab penyakit dan pengusir serangga (Hariana 2013).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gaty (2015) terhadap daun kenikir dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode sumur difusi agar dengan oksitetrasiklin sebagai antibakteri pembanding dan pelarut ekstrak yang digunakan adalah dimetilsulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif, diketahui bahwa ekstrak uji diperoleh dengan cara maserasi secara bertingkat menggunakan 3 pelarut yang berbeda kepolaran (*n*-heksana, etil asetat, etanol 70%).

Penelitian dari (Gaty 2015) menyatakan bahwa ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak *n*-heksana dihasilkan daya hambat sebesar $1,28 \pm 0,12$ mm, ekstrak etil asetat $1,49 \pm 0,05$ mm, dan ekstrak etanol $0,55 \pm 0,78$ mm. Pada penelitian tersebut dilihat dari zona hambatnya bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar $1,49 \pm 0,05$ mm. Pada penelitian tersebut hanya dilakukan pada ekstrak etil asetat untuk penetapan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan aktivitas antibakteri yang terkuat dengan zona hambat $1,49 \pm 0,05$ mm. Variasi konsentrasi yang digunakan untuk penetapan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah 6000 ppm, 7000 ppm, 8000 ppm, 9000 ppm, 10.000 ppm, 11.000 ppm, dan 12.000 ppm. Dari hasil

penetapan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 11.000 ppm ekstrak etil asetat merupakan konsentrasi yang memiliki zona hambat yang paling besar yaitu $1,29 \pm 0,25$ mm.

Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013). Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur (Ayuningtyas 2008). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri (Ajizah 2004). Mekanisme alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.* 2008).

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil, serta lemak, malam, tanin, dan saponin (Depkes 1986). Pelarut *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar antara lain minyak atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 1986). Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol (Putri *et al.* 2013). Air merupakan pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari kandungan kimia seperti antosianin, tanin, saponin, glikosida, dan gula (Depkes 1986).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode dilusi digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

K. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai pengaruh antibakteri yang paling efektif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ketiga, ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kenikir yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang berwarna hijau tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua diambil secara acak pada bulan Januari 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.).

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang diperoleh dari ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air dengan berbagai konsentrasi.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali

dalam penelitian adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkas, alat, dan bahan yang digunakan harus steril), kondisi fisik peneliti, tempat tumbuh tanaman, penanaman bakteri, waktu pengamatan, waktu panen, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode ekstraksi.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kenikir merupakan daun dari tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang berwarna hijau (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua) yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun kenikir merupakan daun kenikir yang telah diambil kemudian dicuci pada air mengalir untuk membersihkan kotoran yang masih menempel kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun kenikir adalah hasil ekstraksi dari serbuk daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut non polar.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar.

Keenam, fraksi air dari daun kenikir adalah fraksinasi dari residu fraksi etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar.

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

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO 5% dan kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin 5 μ g. Metode dilusi berupa seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, 0,196%, 0,098%. Kontrol negatif dalam dilusi tersebut merupakan fraksi efektif dan kontrol positif berupa suspensi bakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1 Alat untuk pembuatan dan analisis serbuk simplisia. Alat yang digunakan yaitu timbangan, oven, blender, ayakan no 40, *Sterling bidwell*, *vacum rotary evaporator*.

1.2 Alat maserasi. Alat yang digunakan yaitu botol berwarna coklat, kain flanel.

1.3 Alat uji aktivitas antibakteri. Alat yang digunakan yaitu inkas, ose, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, mikropipet, lampu spirtus, *obyek glass*, *deck glass*, mikroskop, dan *autoclave*.

1.4 Alat identifikasi kandungan senyawa. Alat yang digunakan yaitu rak tabung dan tabung reaksi, pipet tetes.

2. Bahan

2.1 Bahan utama. Bahan utama yang digunakan adalah daun kenikir yang diambil di Tawangmangu Jawa Tengah.

2.2 Bahan kimia. Pelarut *n*-heksana, etil asetat, air, etanol 70%, larutan standar Mc.Farland 0,5, aquadestilata, siprofloksasin 5 μ g (Sebagai kontrol positif), HCl, FeCl₃ 1%, DMSO 5%, larutan mayer, larutan dragendroff, kalium tellurite, hidrogen peroxida, CH₃COOH, H₂SO₄pekat, cat kristal violet, larutan lugol, iodine, dan safranin.

2.3 Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.4 Media. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan plasma sitrat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman kenikir sesuai kepustakaan dan dibuktikan di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk

Pengambilan daun kenikir yaitu secara acak dengan memilih daun yang berwarna hijau (tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua), masih segar dan diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah.

Pembuatan serbuk daun kenikir dilakukan dengan cara daun dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun kenikir yang sudah bersih dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dioven pada suhu 40°C selama 3 hari. Daun kenikir yang sudah kering diserbuk dan dihaluskan kemudian diayak dengan menggunakan pengayak nomor 40. Pembuatan serbuk daun kenikir bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

3. Kadar air serbuk daun kenikir

Kadar air daun kenikir menggunakan alat *Sterling bidwell* dengan cara menimbang 20 gram serbuk daun kenikir kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat ditambahkan *xylene* sebanyak 100 ml dan dipanaskan sampai tidak ada tetesan lagi kemudian dilihat volume tersebut dan dihitung kadarnya dalam satuan persen. Kadar air memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Katno2008).

4. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir

Maserasi dilakukan dengan perbandingan 10 bagian simplisia dimasukkan ke dalam 75 bagian cairan penyari, selanjutnya campuran tersebut didiamkan selama 5 hari sambil sesekali digojog. Filtrat dengan ampas dipisahkan dengan menggunakan kain flanel. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 40°C sehingga didapat ekstrak kental daun kenikir. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot ($\frac{b}{b}$) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan. Rendemen harus mencapai angka sekurang-kurangnya sebagaimana ditetapkan pada masing-masing monografi ekstrak (Kemenkes 2011).

5. Uji bebas etanol daun kenikir

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas (Aquariushinta 2015).

6. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak daun kenikir didispersikan dengan pelarut etanol : air (1:14) sebanyak 75 ml untuk mendispersikan, kemudian dilakukan fraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 75 ml. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi *n*-heksana terletak di bagian atas dan fraksi air terletak di bagian bawah. Fraksi *n*-heksana yang didapat diuapkan pelarutnya dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat sebanyak yang digunakan untuk mendispersikan. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat terletak di bagian atas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi etil asetat diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C dan fraksi air diuapkan dengan menggunakan *waterbath*.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk daun kenikir. Identifikasi

kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1 Identifikasi alkaloid. Ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan 10 tetes asam sulfat 2N kemudian dibuat dalam 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan reagen Mayer terbentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan. Tabung 2 ditambahkan reagen Dragendroff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga (Alamsyah 2014).

7.2 Identifikasi saponin. Ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan aquadestilata 20 mL, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat, ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Sampel dinyatakan positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah penetesan HCl 2N (Alamsyah 2014).

7.3 Identifikasi tanin. Ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan aquadestilata 20 mL, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit lalu disaring. Filtrat ditambahkan FeCl_3 1 %, vortex hingga mengalami perubahan warna. Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Alamsyah 2014).

7.4 Identifikasi flavonoid. Ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan aquadestilata 10 mL. Setelah itu, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 0,5 mg bubuk Mg dan ditambahkan 1 ml HCl pekat dan amil alkohol. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau jingga (Alamsyah 2014).

8. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan harus dalam keadaan steril. Cawan petri, pipet, tabung reaksi, labu erlenmeyer, beaker glass, dan gelas ukur disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu $170-180^\circ\text{C}$ selama 1-2 jam. Alat penanam bakteri (osc/sengkelit) disterilkan dengan pembakaran, yaitu dengan membakarnya sampai pijar dengan lampu spirtus. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-30 menit.

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi diawali dengan mengambil 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari biakan murni dan dimasukkan kedalam tabung yang berisi 5 ml media *Brain Heart Infusion* (BHI). Kekeruhannya setara dengan larutan standar Mc.Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan Mc.Farland 0,5 mempunyai populasi $(1,5 \times 10^8$ CFU/ml), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5-8 jam.

10. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.1 Identifikasi koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasikan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sudah ditambahkan kalium tellurite 1% sebanyak 3 tetes dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna media di sekitar koloni kuning. Hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasikan manitol menjadi asam dan mereduksi kalium tellurit disekitar koloni menjadi hitam, dengan adanya indikator fenol red menyebabkan warna media di sekitar koloni menjadi kuning. (Jawetz *et al.* 2007).

10.2 Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (Kristal Violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol:acetone 1:1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup).

Pengecatan dilakukan dengan cara dibuat preparat ulas (*smear*) yang telah difiksasi kemudian ditetesi Gram A sampai ulasan terwarnai, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir kemudian tetesi Gram B, didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C dan didiamkan selama 45 detik dan dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian dikeringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila

berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskopik.

10.3 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan uji secara biokimia. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada media cair dengan penambahan 1 tetes hidrogen peroksida 3 %. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi air dan oksigen hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara di sekitar koloni, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2012).

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci dan diberi asam sitrat yang telah diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri yang berumur 4 jam atau lebih. Hasilnya positif kuat jika pada tabung tes dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2012).

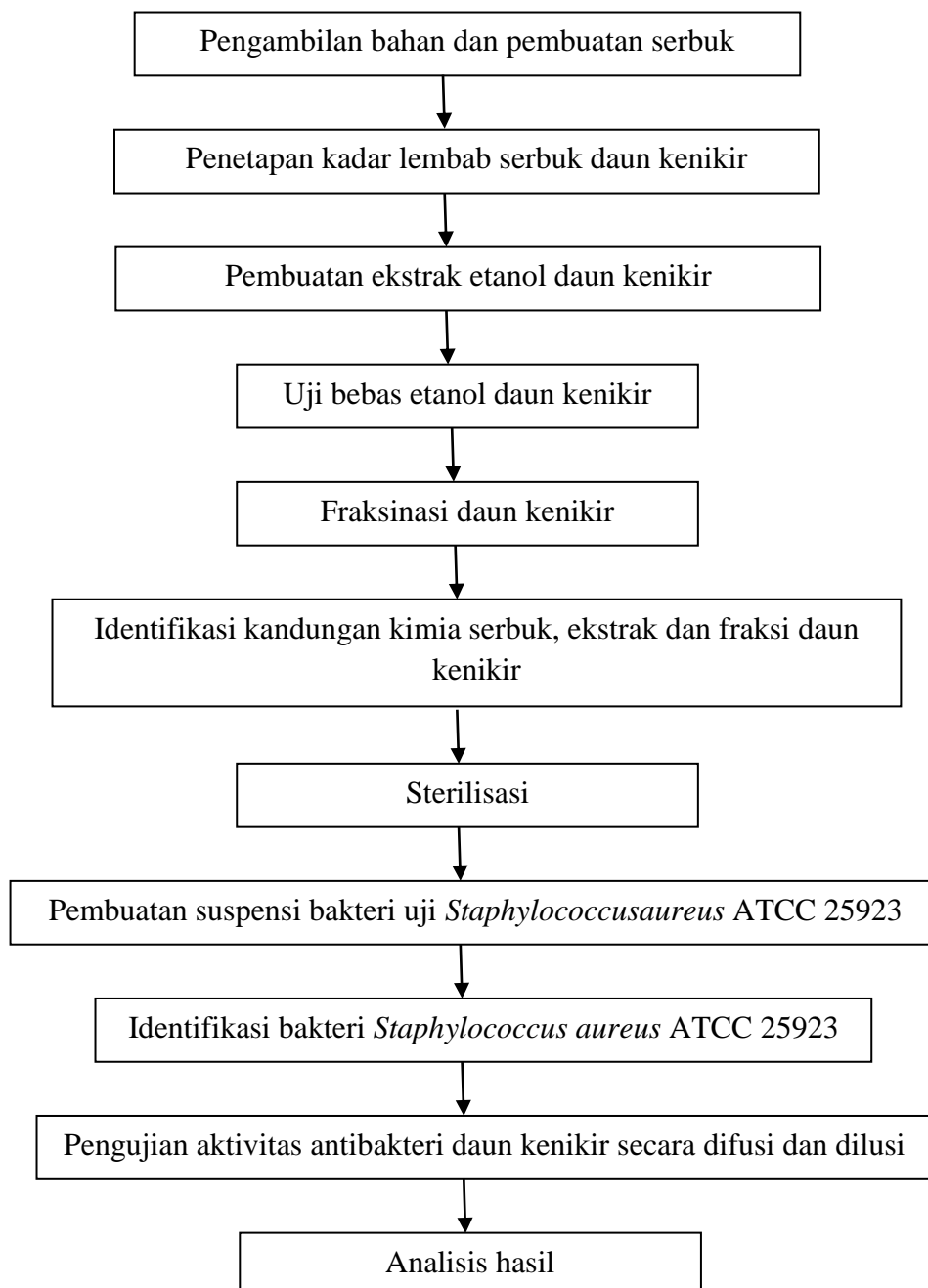
11. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi yaitu dengan mengetahui hambatan pertumbuhan dari biakan bakteri uji. Suspensi bakteri uji yang sudah disiapkan dioleskan merata pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan kapas lidi steril, masing-masing disk kosong berdiameter 6 mm diisi kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak etanol daun kenikir, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air, serta kontrol positif cakram (*disk*) siprofloksasin 5µg diletakkan diatas media. Replikasi dilakukan tiga kali, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan amati hasilnya, setelah diukur diameter hambat sekitar kertas cakram yang dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun kenikir memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Setelah didapatkan fraksi yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi dilanjutkan ke metode dilusi hanya fraksi yang efektif yang digunakan untuk mengetahui berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

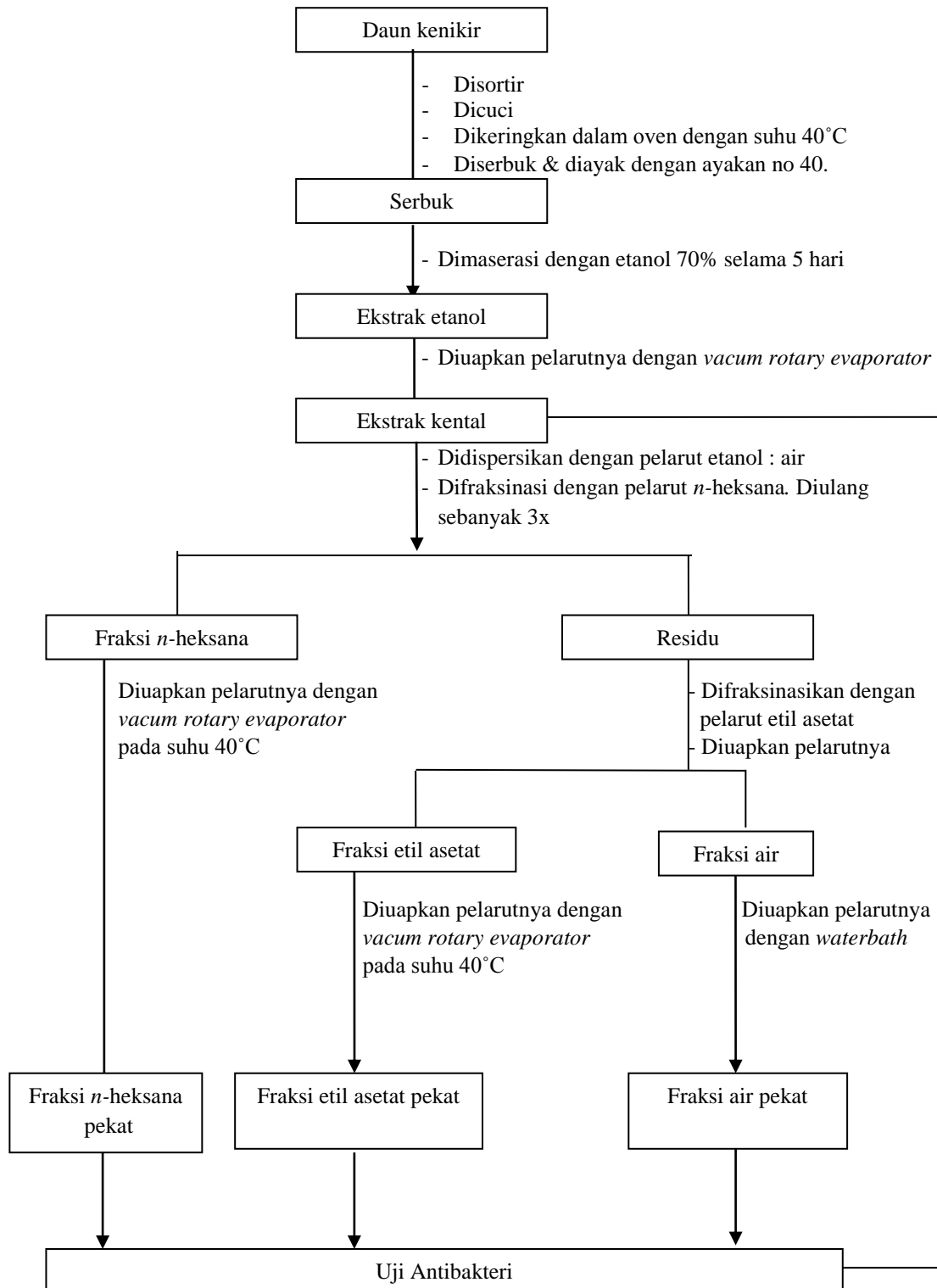
Konsentrasi pada difusi tersebut digunakan untuk mengetahui fraksi yang paling efektif. Konsentrasi yang digunakan pada metode dilusi yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,196%; dan 0,098%. Metode dilusi dilakukan dengan memasukan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol uji positif dan negatif. Pembuatan larutan stok fraksi efektif daun kenikir menggunakan pelarut DMSO 5%. Media BHI masing-masing dimasukkan dari tabung 3 sampai 11 secara aseptis, tabung pertama di tambahkan 1 ml larutan stok fraksi efektif daun kenikir sebagai kontrol negatif dan tabung 2 ditambahkan 0,5 ml larutan stok fraksi efektif daun kenikir, kemudian tabung 3 ditambahkan 0,5 ml larutan stok fraksi efektif daun kenikir, dari tabung 3 dipipet 0,5 ml kemudian dimasukkan ke tabung 4, dari tabung 4 dipipet 0,5 ml dimasukkan ke tabung 5 dan begitu seterusnya sampai tabung 11, pada tabung 11 dipipet 0,5 ml kemudian dibuang, kemudian dari tabung 3 sampai 11 masing-masing diisi 0,5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tabung 12 dimasukkan suspensi bakteri sebanyak 1 ml. Tabung terakhir berlaku sebagai kontrol positif. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat batas terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dari goresan bakteri yang sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi.

12. Analisis hasil

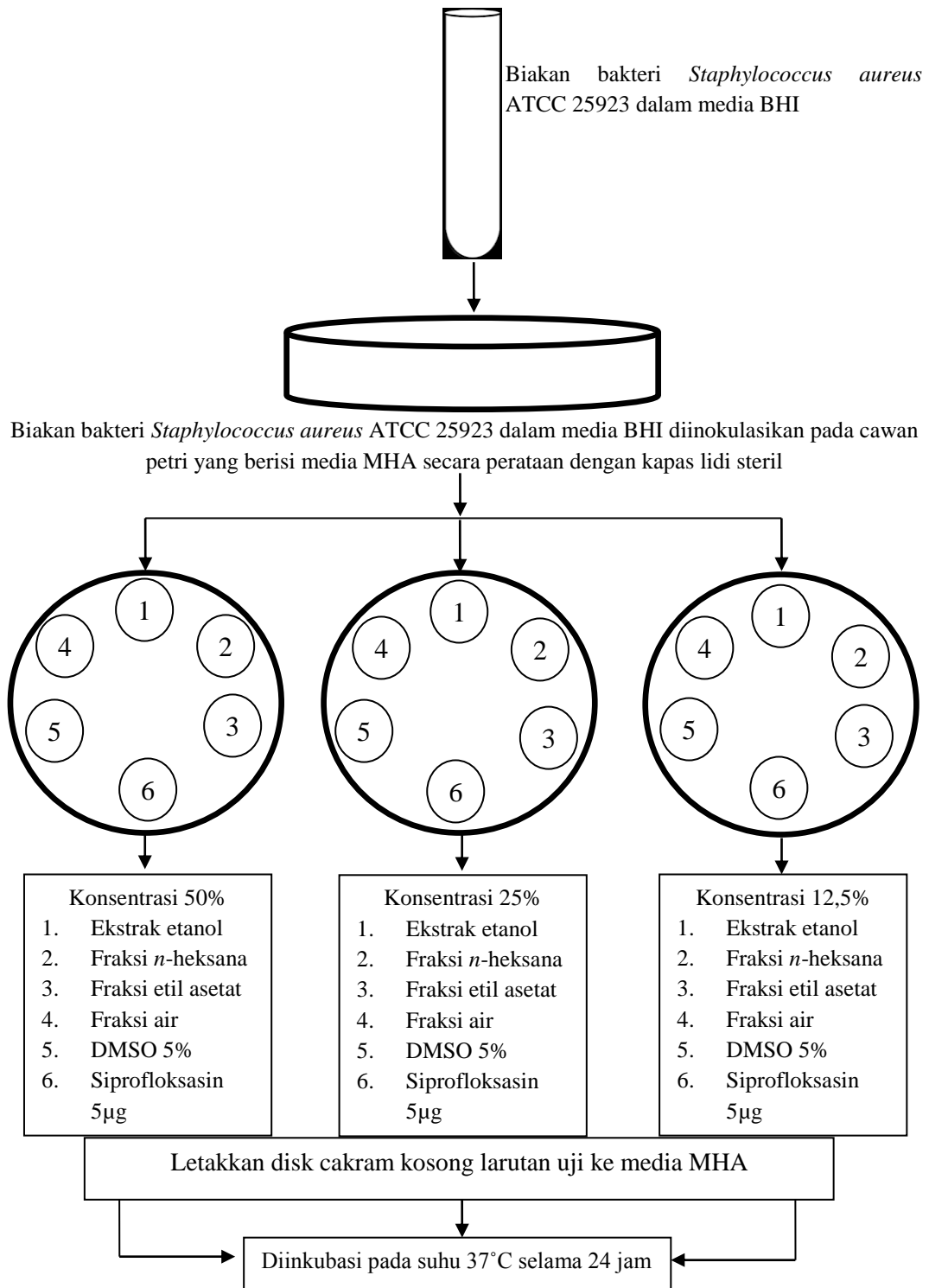
Data aktivitas antibakteri antar fraksi ekstrak etanol daun kenikir diuji secara statistik dengan Analisis of Varian (ANOVA) dengan menggunakan *software* SPSS pada konsentrasi yang sama untuk data hasil uji difusi. Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal (*Kolmogorov-Smirnov*), jika data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non parametrik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA).



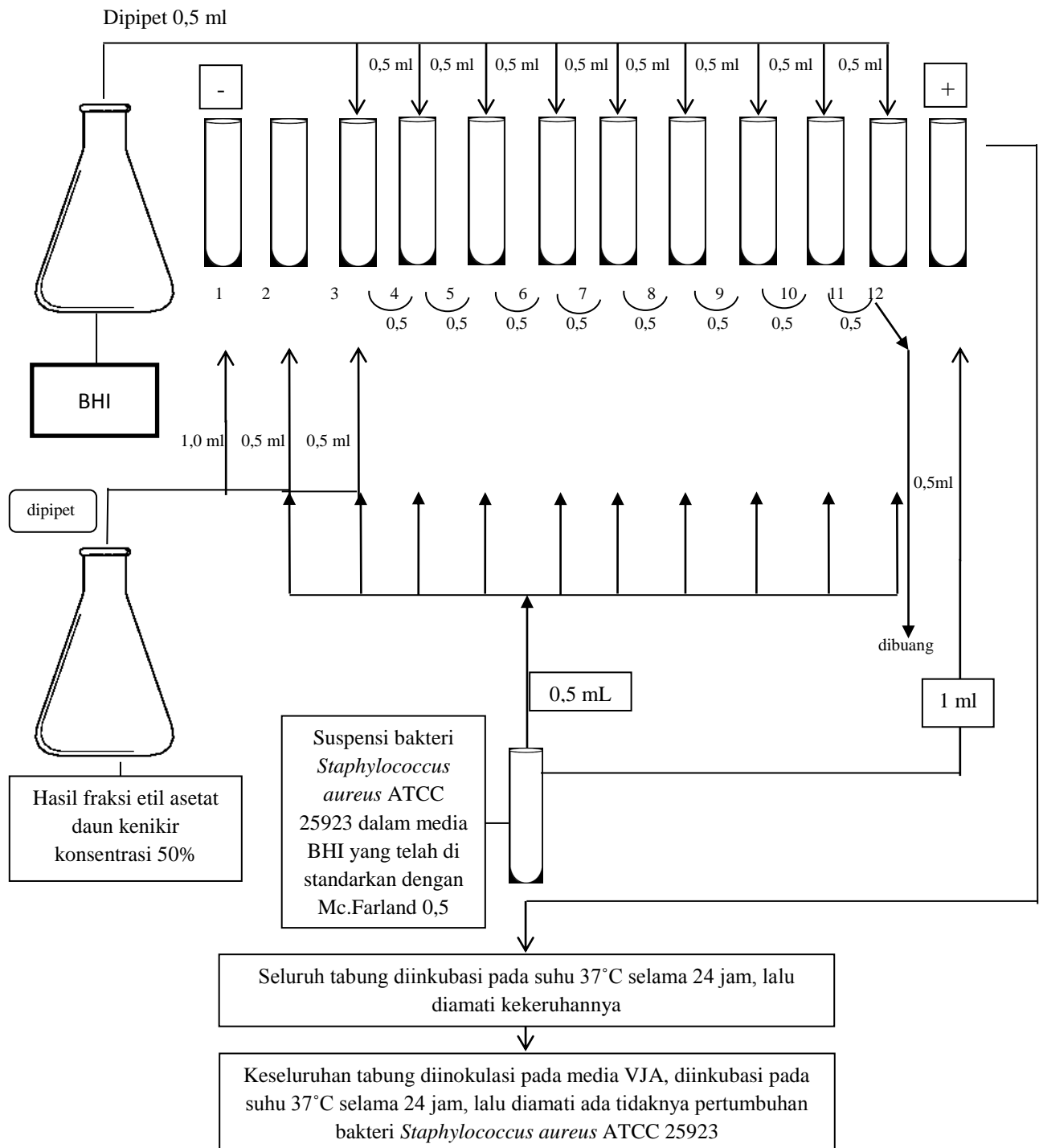
Gambar 2. Skema jalannya penelitian



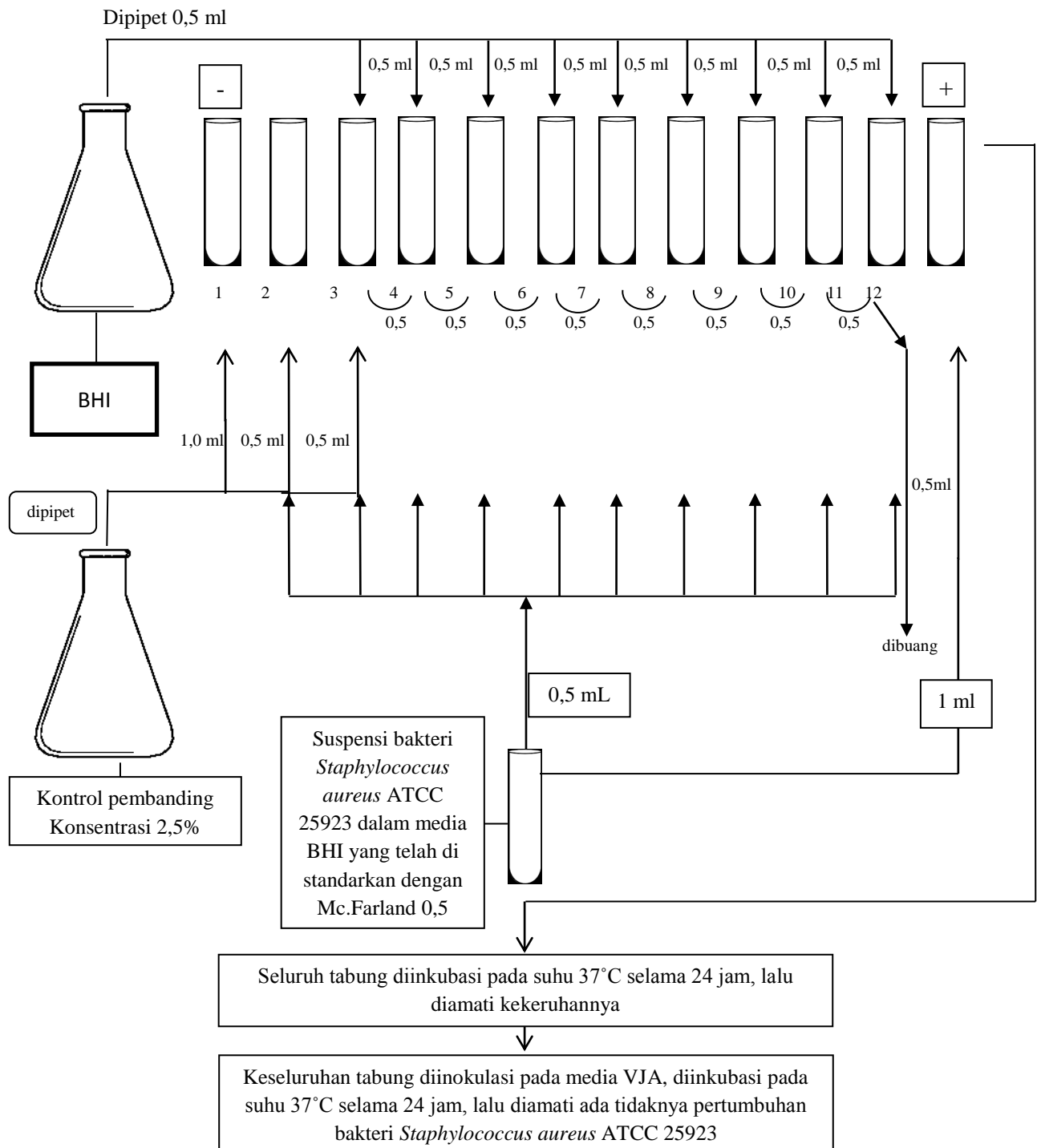
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)



Gambar 4. Skema uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat secara dilusi.



Gambar 6. Skema pengujian siprofloksasin sebagai kontrol pembeding secara dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

Determinasi tanaman kenikir dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun yang diteliti merupakan jenis (*Cosmos caudatus* Kunth.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Daun kenikir yang diambil secara acak dalam keadaan segar yang tumbuh di daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar Jawa Tengah pada bulan Januari 2017. Daun kenikir sebanyak 10 kg dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel kemudian ditiriskan. Gambar daun kenikir dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Pembuatan serbuk

Daun kenikir yang telah diambil secara acak dicuci dengan menggunakan air mengalir sampai terbebas dari pengotor, kemudian proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan tanpa paparan sinar matahari secara langsung. Hal ini bertujuan agar senyawa aktif dalam sampel tidak mengalami kerusakan dan kadar air dalam sampel berkurang, setelah itu ditimbang dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, kemudian dihaluskan dengan mesin penggiling dan diayak dengan pengayak nomor 40. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Persentase (%)
10000	2350	23,5

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang dapat mengakibatkan pertumbuhan jamur dan bakteri, memperlama masa penyimpanan, dan mendapatkan bahan dengan kadar air yang rendah, sehingga bahan tidak menjadi busuk dalam penyimpanan. Daun kenikir yang sudah dikeringkan kemudian digiling sehingga didapatkan serbuk kemudian diayak dengan pengayak

nomor 40. Pembuatan serbuk dengan tujuan untuk memperluas permukaan, sehingga dalam proses ekstraksi kontak antara bahan semakin banyak, diharapkan semua senyawa dapat terekstrak ke dalam pelarut dan dapat berlangsung efektif. Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa daun kenikir dengan bobot basah 10000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 2350 gram. Persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 23,5%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 15.

4. Penetapan kadar air serbuk daun kenikir

Penetapan kadar air simplisia dilakukan untuk mengetahui kadar air dalam serbukdaun kenikir. Penentuan kadar air daun kenikir dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling bidwell*. Kadar air tidak boleh lebih dari 13%, kadar air yang terlalu tinggi dapat menurunkan kualitas simplisia tersebut karena air merupakan media sebagai tempat tumbuhnya mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Hasil penetapan kadar air tercantum pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air daun kenikir dengan *Sterling bidwell*

Replikasi	Serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,6	8,0
2	20	1,5	7,5
3	20	1,6	8,0
Rata-rata			7,83

Berdasarkan hasil perhitungan kadar air menggunakan metode *Sterling bidwell* didapatkan persentase kadar air 7,83%, sehingga penentuan kadar air serbuk dapat disimpulkan bahwa serbuk daun kenikir memenuhi syarat karena persentase kadar air serbuk daun kenikir kurang dari 13% (Depkes 2008). Perhitungan penentuan kadar air daun kenikir dapat dilihat pada lampiran 16.

5. Pembuatan ekstrak etanol daun kenikir

Metode pembuatan ekstrak etanol daun kenikir pada penelitian ini dengan menggunakan cara maserasi karena pengerjaan dan peralatannya sederhana. Tujuan maserasi untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam sampel, dimana pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Senyawa aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi dari luar sel dan dari dalam sel (Depkes 1986). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dan didiamkan selama 5 hari sambil sesekali

digojog. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator*. Hasil pembuatan ekstrak tercantum pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kenikir

Serbuk daun kenikir (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen ekstrak(%)
900	197,9	21,9

Hasil maserasi serbuk daun kenikir 900 gram didapatkan ekstrak kental sebesar 197,9 gram dan rendemen sebesar 21,9%. Hasil perhitungan dilihat pada lampiran 17.

6. Uji bebas etanol ekstrak daun kenikir

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan tidak ada kandungan etanol dalam ekstrak daun kenikir, sehingga saat digunakan untuk uji antibakteri bukan karena senyawa pelarut etanol yang membunuh bakteri tersebut melainkan ekstraknya. Hasil uji bebas etanol tercantum pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kenikir

Hasil	Pustaka (Aquariushinta 2015)
Positif	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kenikir sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol 70%. Hasil ditandai dengan tidak terdapatnya bau ester yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir

Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir dilakukan untuk memastikan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin tercantum pada tabel 5.

Tabel 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kenikir

Kandungan Kimia	Hasil		Pustaka (Alamsyah 2014)
	Serbuk	Ekstrak	
Alkaloid	+	+	<ul style="list-style-type: none"> • Reagen Mayer terbentuk endapan putih kekuningan. • Reagen Dragendroff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga
Saponin	+	+	Reaksi positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah penetesan HCl 2N
Tanin	+	+	Reaksi positif terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Flavonoid	+	+	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning jingga

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

Berdasarkan tabel 5 menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun kenikir menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Hasil kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 7.

8. Fraksinasi daun kenikir

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama, kandungan satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya telah dipisahkan akan menjadi fraksi berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan tersari ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan tersari ke pelarut non polar (Tiwari *et al.* 2011). Pada saat fraksinasi terbentuk dua lapisan yaitu lapisan bagian atas merupakan pelarut *n*-heksana dan lapisan bagian bawah merupakan pelarut air. Hal ini terjadi karena massa jenis *n*-heksana (0,66 g/ml) lebih kecil dibandingkan dengan massa jenis air (1 g/ml). Pada fraksinasi dengan pelarut etil asetat, lapisan bagian atas merupakan pelarut etil asetat dan pada lapisan bagian bawah merupakan pelarut air karena etil asetat memiliki massa jenis (0,89 g/ml) lebih kecil dibandingkan dengan massa jenis air (1 g/ml).

Tabel 6. Hasil rendemen total fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air

Bobot ekstrak (gram)	Pelarut	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
90	<i>n</i> -heksana	10,11	11,23
	Etil asetat	21,18	23,53
	Air	39,97	44,41

Hasil fraksinasi ekstrak daun kenikir menunjukkan bahwa kandungan senyawa terlarut dalam fraksi air lebih banyak dibandingkan senyawa terlarut dalam fraksi etil asetat maupun fraksi *n*-heksana. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan 3 pelarut yang berbeda berdasarkan polaritasnya. Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa perhitungan persentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana daun kenikir yaitu 11,23%. Persentase fraksi *n*-heksana memiliki rendemen lebih kecil karena *n*-heksana bersifat non polar, sehingga pelarut *n*-heksana hanya melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Depkes 1986), sehingga berat fraksi *n*-heksana yang diperoleh lebih kecil dari fraksi etil asetat. Perhitungan persentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat daun kenikir

yaitu 23,53%. Persentase rendemen pada fraksi etil asetat lebih besar dibandingkan fraksi *n*-heksana karena senyawa yang bersifat semi polar (etil asetat) lebih banyak daripada senyawa non polar (*n*-heksana). Perhitungan persentase rata-rata rendemen fraksi air daun kenikir yaitu 44,41 %. Persentase rendemen fraksi air paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksana maupun fraksi etil asetat karena sebagian besar senyawa dalam daun kenikir bersifat polar (air) atau semi polar (etil asetat). Organoleptis fraksi *n*-heksana berwarna kehijauan, fraksi etil asetat berwarna hijau tua dan fraksi air berwarna coklat. Hasil perhitungan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat dilihat pada lampiran 18.

9. Identifikasi senyawa fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

Identifikasi senyawa dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air tercantum pada tabel 7.

Tabel 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia Fraksi daun kenikir

Kandungan kimia	Hasil			Pustaka (Alamsyah 2014)
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air	
Alkaloid	+	+	+	<ul style="list-style-type: none"> • Reagen Mayer terbentuk endapan warna putih kekuningan. • Reagen Dragendroff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga
Saponin	-	+	+	Reaksi positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah penetesan HCl 2N
Tanin	+	+	+	Reaksi positif terjadi perubahan warna hijau kehitaman
Flavonoid	-	+	-	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau jingga

Keterangan : (+): Ada senyawa

(-) : Tidak ada senyawa

Hasil identifikasi secara kualitatif memberikan kesimpulan bahwa kandungan senyawa kimia yang terdapat pada fraksi *n*-heksana memiliki kandungan senyawa alkaloid dan tanin, sedangkan fraksi etil asetat memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid, serta pada fraksi air memiliki kandungan senyawa saponin, alkaloid, dan tannin. Fraksi *n*-heksana memiliki hasil negatif kandungan kimia pada saponin dan alkaloid karena saponin

lebih larut terhadap semi polar atau polar sedangkan flavonoid memiliki sifat polar, selain itu pada pelarut *n*-heksana merupakan pelarut yang bersifat non polar, artinya hanya dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar (Depkes 1986).

Fraksi air memiliki hasil negatif kandungan kimia pada flavonoid karena tidak tertariknya secara sempurna senyawa pada fraksi tersebut, selain itu fraksi air diduga tidak memiliki aglikon pada daun kenikir yang menyebabkan flavonoid hasilnya negatif. Hasil kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 8.

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi yang telah terbentuk disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar Mc.Farland 0,5. Standar kekeruhan Mc.Farland dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per-satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Sutton 2011). Keuntungan penggunaan standar Mc.Farland adalah tidak dibutuhkannya waktu inkubasi yang cukup untuk memperoleh jumlah kepadatan bakteri yang diinginkan.

11. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

11.1. Identifikasi bakteri secara makroskopis. Hasil menunjukkan adanya beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasikan manitol, yaitu asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan indikator fenol red pada media agar berubah dari warna merah menjadi berwarna kuning dan mereduksi tellurit disekitar koloni hitam (Jawetz *et al.* 2007). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 10.

11.2. Pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan benar bahwa bakteri uji tersebut adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditunjukkan positif berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskopik dengan perbesaran 100 kali. Proses identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tersebut dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram dimana Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet sedangkan Gram negatif tidak mempertahankan warna ungu kristal

violet, tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan berwarna merah. Hasil identifikasi dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada lampiran 10.

11.3. Uji biokimia. Ada dua cara yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri secara biokimia yaitu uji katalase dan koagulase. Hasil uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah ditambah 2 tetes H₂O₂ 3% menunjukkan adanya gelembung udara disekitar koloni, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2012). Hasil uji koagulase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan plasma darah kelinci yang ditambah dengan sitrat yang telah diencerkan (1:5), kemudian diinkubasi selama 1-4 jam pada suhu 37°C. Hasilnya positif pada tabung tes dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2012).

Tabel 8. Hasil identifikasi bakteri uji katalase dan uji koagulase

Jenis uji	Hasil	Pustaka	Keterangan
Uji katalase	Terbentuk gelembung gas	Terbentuk gelembung gas	+
Uji koagulase	Terjadi penjendalan	Terjadi penjendalan	+
Keterangan : (+)	= Positif <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		
(-)	= Negatif <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		

Berdasarkan hasil identifikasi dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada lampiran 10.

12. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Gelas ukur, cawan petri, dan beker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 1 jam, sedangkan alat seperti ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin. Formalin bereaksi dengan protein dan hal tersebut mengurangi aktivitas mikroorganisme. Formalin dapat membunuh bakteri dengan membuat jaringan dalam bakteri dehidrasi (kekurangan air), sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi kering.

13. Uji aktivitas antibakteri secara difusi

Pengujian aktivitas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi untuk mengetahui hambatan pertumbuhan pada biakan bakteri uji. Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun kenikir dilakukan pengujian antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 untuk mengetahui fraksi yang efektif. Konsentrasi yang digunakan adalah 50% ^{b/v}; 25% ^{b/v}; dan 12,5% ^{b/v}, serta kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin 5 μ g dan kontrol negatif menggunakan DMSO 5%. Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Diameter hambat pada aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etilasetat dan air dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 secara difusi

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata
		1	2	3	
Ekstrak	50	14,33	14,33	14,33	14,33
	25	11	11,33	11,33	11,22
	12,5	10,33	10,33	10,67	10,44
Fraksi <i>n</i> -heksana	50	12	12,33	12,33	12,22
	25	9,67	9,67	9,67	9,67
	12,5	8	8,33	8,33	8,22
Fraksi etil asetat	50	18,33	18,67	18,67	18,56
	25	16,33	16,67	16,67	16,56
	12,5	15,33	15,33	15,67	15,44
Fraksi air	50	13,33	13,67	13,67	13,56
	25	10	10	10,33	10,11
	12,5	9,33	9,67	9,67	9,56
Kontrol positif (siprofloksasin)	5 μ g	29	29,33	29,33	29,22
Kontrol negatif (DMSO 5%)	5	0	0	0	0

Berdasarkan hasil tabel di atas dari pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun kenikir terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan adanya daya hambat dibuktikan dengan adanya daerah disekitar disk yang tidak ditumbuhi bakteri, dari tabel di atas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai daya hambat paling

besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena fraksi etil asetat mampu menarik semua senyawa kandungan kimia pada daun kenikir tersebut. Perbedaan diameter hambat dikarenakan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan masing-masing fraksi memiliki kemampuan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda tergantung tingkat kepolaran dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air. Pada pelarut DMSO 5% tidak ada pertumbuhan bakteri karena DMSO 5% digunakan untuk melarutkan bahan uji (sebagai kontrol negatif), sehingga pelarut tersebut tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri artinya, pelarut DMSO 5% tersebut tidak memiliki zona hambat pada media tersebut. Jika dibandingkan dengan siprofloksasin sebagai kontrol positif maka fraksi etil asetat memiliki zona hambat yang termasuk dalam kategori sedang, sedangkan kontrol positif (siprofloksasin) termasuk dalam kategori kuat karena kontrol positif merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga kontrol positif (siprofloksasin) terbukti efektif dalam menghambat bakteri yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 11.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi diuji secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *oneway*. ANOVA *oneway* digunakan untuk membandingkan fraksi pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *oneway* adalah konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5% fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak etanol daun kenikir, serta kontrol positif dan kontrol negatif juga diikut sertakan dalam analisis ANOVA *oneway*. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanol serta kontrol positif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Hasil data statistik dapat dilihat pada lampiran 21.

Berdasarkan tabel 9 dan analisis data maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan mempunyai aktivitas terbesar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana, fraksi air, dan ekstrak etanol daun kenikir.

Ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam daun kenikir, tetapi senyawa tersebut tidak mampu bekerja secara optimum sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan fraksi yang lain. Pada penelitian ini fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas penghambatan paling rendah dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi air. Identifikasi senyawa fraksi *n*-heksana memiliki hasil positif pada alkaloid sedangkan pada senyawa flavonoid hasilnya adalah negatif, sehingga senyawa alkaloid belum bisa bekerja secara optimum sebagai antibakteri. Fraksi air memiliki aktivitas sebagai antibakteri lebih besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hal ini kemungkinan fraksi air mampu menarik senyawa yang aktif sebagai antibakteri. Senyawa aktif dalam fraksi air setelah dilakukan identifikasi senyawa dengan menggunakan uji tabung yaitu alkaloid, tanin, dan saponin. Fraksi etil asetat mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri, sehingga fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Senyawa aktif dalam fraksi etil asetat yang telah dibuktikan pada identifikasi senyawa kimia dengan uji tabung yaitu saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid. Hal ini diduga kandungan senyawa kimia yang bersifat semipolar di dalam fraksi etil asetat dapat menarik senyawa yang bersifat polar (air) maupun nonpolar (*n*-heksana) sehingga lebih optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Putri *et al.* 2013). Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri *et al.* 2013).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013). Menurut Gunawan & Mulyani (2004), senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri berdasarkan mekanisme flavonoid yang dapat mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme dan bersifat irreversible atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat. Saponin mudah larut dalam air dan etanol tetapi

tidak larut dalam eter. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan 2015). Tanin mempunyai sifat sebagai pengelat, menciutkan atau mengkerutkan usus sehingga gerak peristaltik usus berkurang, akan tetapi efek spasmolitik juga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas, sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah 2004). Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel sehingga menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Juliantina *et al.* 2008).

14. Uji aktivitas antibakteri secara dilusi dan antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Fraksi efektif yaitu fraksi etil asetat kemudian dilanjutkan pada uji menggunakan metode dilusi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini untuk mendapatkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,196%; dan 0,098%; Kontrol (+) dan Kontrol (-). Jumlah bakteri yang digunakan dalam medium BHI mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000 setelah distandarkan dengan Mc.Farland 0,5. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat dilihat dari kejernihan tabung reaksi yang menunjukkan bahwa pada tabung tersebut dapat menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kemudian dari semua tabung tersebut dilakukan inokulasi bakteri pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Inokulasi dilakukan karena pada hasil penelitian tidak dapat dilihat kejernihannya pada tabung karena tertutup oleh kekeruhan dari bahan fraksi etil asetat yang digunakan. Inokulasi dari tabung pada medium agar dalam cawan petri perlu

dilakukan sehingga diketahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi fraksi etil asetat daun kenikir terhadap *Staphylococcus aureus* dan hasil inokulasi sediaan siprofloksasin

Sampel	Konsentrasi (%) ^{b/v}	Hasil inokulasi		
		Replikasi		
		1	2	3
Fraksi etil asetat	Kontrol (-)	-	-	-
	50	-	-	-
	25	-	-	-
	12,5	-	-	-
	6,25	-	-	-
	3,125	-	-	-
	1,563	+	+	+
	0,781	+	+	+
	0,391	+	+	+
	0,196	+	+	+
	0,098	+	+	+
	Kontrol (+)	+	+	+
Siprofloksasin	Kontrol (-)	-	-	-
	2,5	-	-	-
	1,25	-	-	-
	0,625	-	-	-
	0,3125	-	-	-
	0,156	+	+	+
	0,078	+	+	+
	0,039	+	+	+
	0,019	+	+	+
	0,009	+	+	+
	0,004	+	+	+
	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- + : Ada pertumbuhan koloni bakteri pada media
- : Tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada media
- K(+): Kontrol positif berisi suspensi bakteri
- K(-): Kontrol negatif berisi fraksi etil asetat
- K(-): Kontrol negatif berisi siprofloksasin

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi fraksi etil asetat 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098%. Pengujian tersebut dilakukan tiga kali replikasi, hasil pengamatan pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1,563% terlihat adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri begitu pula pada replikasi kedua dan ketiga, sehingga dapat disimpulkan fraksi etil asetat memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

3,125%. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil kontrol perbandingan menggunakan antibiotik siprofloksasin dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu 0,3125%. Perbandingan fraksi etil asetat sebagai fraksi paling efektif dengan antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol perbandingan menunjukkan hasil yang masih jauh dari yang diharapkan karena siprofloksasin merupakan antibiotik yang berspektrum luas, selain itu antibiotik siprofloksasin merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme penghambatan bakteri oleh siprofloksasin dengan menghambat DNA-girase pada bakteri yang menyebabkan bakteri tersebut mati, sehingga aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat dilihat dari Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) lebih lemah jika dibandingkan dengan aktivitas antibakteri siprofloksasin. Hasil uji aktivitas antibakteri secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 12. Siprofloksasin dapat digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Mirabillis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp* (Siswandono & Soekardjo 2000).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi paling efektif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun kenikir mempunyai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 3,125%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri secara *in vivo* terhadap fraksi etil asetat daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.).

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan bakteri yang berbeda.

Ketiga, perlu dilakukan isolasi terhadap senyawa aktif dari fraksi etil asetat daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Abas Fet al.2003. Antioxidative and radical scavenging properties of the constituents isolated from *Cosmos caudatus* Kunth. *Nat. Prod. Sci.* 9. 245-248.
- Abdi R. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Berlian*. Vol. 9 no.2 sep. 2010: 196-202.
- AgustrinaG. 2011. Potensi propolis lebah madu *Apis malifera spp* sebagai bahan antibakteri [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Jurnal Biologi Pertanian*.
- Akbar HR. 2010. Isolasi dan identifikasi golongan flavonoid daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi sebagai antioksidan [Skripsi]. Bogor: IPB.
- 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 epidermis*. *Journal of Marine Research* 3:69-78.
- Aquariushinta SN. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)
- Ayuningtyas AK. 2008. Efektivitas campuran meniran *Phyllanthus niruri* dan bawang putih *Allium sativum* untuk pengendalian infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele jumbo *Clarias gariepenus* [Skripsi]. Bogor: Prodi Teknologi dan Manajemen Akuakultur, Institut Pertanian Bogor.
- Cahyani, V. R., 2009. *Pengaruh Beberapa Metode Sterilisasi Tanah Terhadap Status Hara, Populasi Mikrobiota, Potensi Infeksi Mikorisa dan Pertumbuhan Tanaman*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Darmawan D. 2006. *Sterilisasi Produk Kesehatan (Health Care Products) Dengan Radiasi Berkas Elektron*.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 5-11.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 3-11.


- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 62.
- Garrity GM *et al* 2007. *Taxonomic Outline of the bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364, 464.
- Gaty S, Endah RES, Livia S. 2015. Uji Aktivitas Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore.) terhadap *Bakteri Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bandung: Fakultas MIPA, Universitas Bandung.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal 11-13.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. Hal 585-587, 605-608.
- Hariana A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cetakan pertama. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hariana AH. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya seri 2*. Jakarta:Penebar Swadaya. Hal 47-48.
- Hassan WE. 2006. *Healing Herbs of Malaysia* Kuala Lumpur: Federal Land, Development Agency.
- Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tanin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal agribisnis dan pengembangan wilayah*. Hal 3;46.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed-23. Nani W, Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*. Hal 170.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed-25. Elferia NR, Penerjemah; Jakarta. Hal 195-199, 225-228, 266-270, 354-355.
- Juliantina F, *et al*. 2008. manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Jurnal kedokteran dan kesehatan indonesia*.
- Katno. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Surakarta: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Hal11; 24-26.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta.

- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanioda, Alkaloid*. Medan: ISU Repository.
- Kurniawan B, Ferly WA. 2015. Binahong (*Cassia alata* L.) as inhibitor of *Escherichiacoli* Growth.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbar Swadaya.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7:361-367.
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat online* 2(2): 128-132.
- Prasetyo, Entang I.S. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB. Hal 18.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga Hal:136-142, 159, 190.
- Prihatman K. 2001. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Penelitian Perkebunan Gambung. Bandung.
- Putri WS, Warditiani, N. K, Larasanty LPF. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) [Skripsi]. Bali: Fakultas Farmasi, Universitas Udayana.
- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 31-33,180-184, 189-192.
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasabaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice. University of Mysore. Karnataka. India, *Journal of Pharmacy Research* 8: 4554-4558.
- Rasdi NHM, Samah OA, Sule A, Ahmed QU, 2010. Antimicrobial Studies of *Cosmos caudatus* Kunth. (Compositae). *Journal of Medicinal Plants Research* 4(8): 669-673.
- Setiabudy R. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal 586-587.
- Shui G, Leong LP, Shih PW. (2005). Rapid screening and characterization of antioxidants of cosmos caudatus using liquid chromatography coupledwith mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Anal. Tech. Biomed. Life Sci.* 827, 127 13.
- Simpson MG. 2006. *Plant Systematics*. USA: Elsevier Academic Press.

- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Hal:56.
- Sriyanti DP, Wijayani A. 2008. *Teknik Kultur Jaringan*. Cetakan ke-9. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. hal 86.
- Suriawiria U. 1985. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta : Papas Sinar Sinanti, Jakarta. Hal 64-66.
- Suryono B, 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Akademi Analis Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Hal 48-50.
- Tiwari P., Bimlesh K., Mandeep K, Gurpreet, Harleen K. 2011. *Skrinning Fitokimia dan Ekstraksi. Internationale PharmaceuticaScientia* Jan-Maret 2011: Vol 1 Issue 1. Departemen Farmasi Ilmu Sekolah, Indah Ilmu Farmasi. Phagwara, Punjab.
- Utami M, Widiawati Y, Hidayah H.A, 2013. Keragaman dan Pemanfaatan Simplisia Nabati Yang Diperdagangkan di Purwokerto. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.
- Wardhani L. K, Sulistyani. 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.
- Wiladatika, Meily Mega. 2013. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz And Pav.) dan siprofloksasin terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumoniae* beserta bioautografinya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wijayakusuma Prof.H.M. Hembing. 2000. *Ensiklopedia Milenium Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*. Jakarta: PT. Prestasi Insan Indonesia.
- Winangsih, Prihastanti E., Parman S. 2013. *Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (Zingiber aromaticum L.)*. Semarang: Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Tembalang.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kenikir



UPT- LABORATORIUM

No : 103/DET/UPT-LAB/13/XI/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
Nama : Indra Fathur Firmansyah
NIM : 19133773 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kenikir**(*Cosmos caudatus* H.B.K.)
Determinasi berdasarkan Steenis: FLORA
1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16b. golongan 11. 286b – 288b – 289b. 121. Familia Compositae. 1b – 12a – 13b – 15a. 14. Cosmos. *Cosmos caudatus* H.B.K.

Deskripsi :

Habitus : Herba 1 tahun, kokoh kuat, tegak, sering bercabang banyak, jika diremas aromatis.

Batang : Segiempat, beralur membujur, berambut jarang.

Daun : **Berhadapan, tangkai panjang; helaian dari yang rendah menyirip rangkap 3-4 atau berbagi menyirip, 15-25 cm panjang dan lebarnya; daun yang atas berturut-turut bertangkai makin pendek, lebih kecil, kurang berbagi.**

Bunga : Bongkol terminal atau di ketiak daun, bertangkai panjang; tangkai berusuk. Daun pembalut 8 yang terluar hijau, kemudian berujung melengkung kembali, 8 yang terdalam dari warna dengan bunga tepinya, tegak; dasar bunga majemuk dengan sisik-sisik jerami. Bunga tepi 8, banci; pinggir memanjang hingga bulat telur terbalik, dengan ujung bergigi 3, merah atau kuning kepuatan. Bunga cakram banyak, berkelamin 2; mahkota tinggi 1 cm, bertaju 5, pucat dengan ujung kuning. Tabung kepala sari coklat kehitaman. Cabang tangkai putik 2, runcing, bagian luar berambut panjang.


Buah : Keras, bentuk spul sempit, beralur, coklat kehitaman, berparuh; paruh 1-1,5 cm panjangnya, menjadi lebih pendek jika berasal dari bunga yang makin keluar letaknya, pada ujung dengan tombol pucat, yang berambut sikat langsing 2-3.

Biji : Bentuk jarum, kecil, hitam, lk 1 cm.

Akar : Tunggang.

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

Surakarta, 13 November 2016
Tim determinasi



Dr. Karimah Wiryosoendjojo, SU.

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

Lampiran 2. Foto daun kenikir dan serbuk daun kenikir



A



B



C

**Keterangan : A = Daun kenikir basah
B = Daun kenikir kering
C = Serbuk daun kenikir**

Lampiran 3. Foto alat**A****B****C****D****F****G**

Keterangan : A = Oven

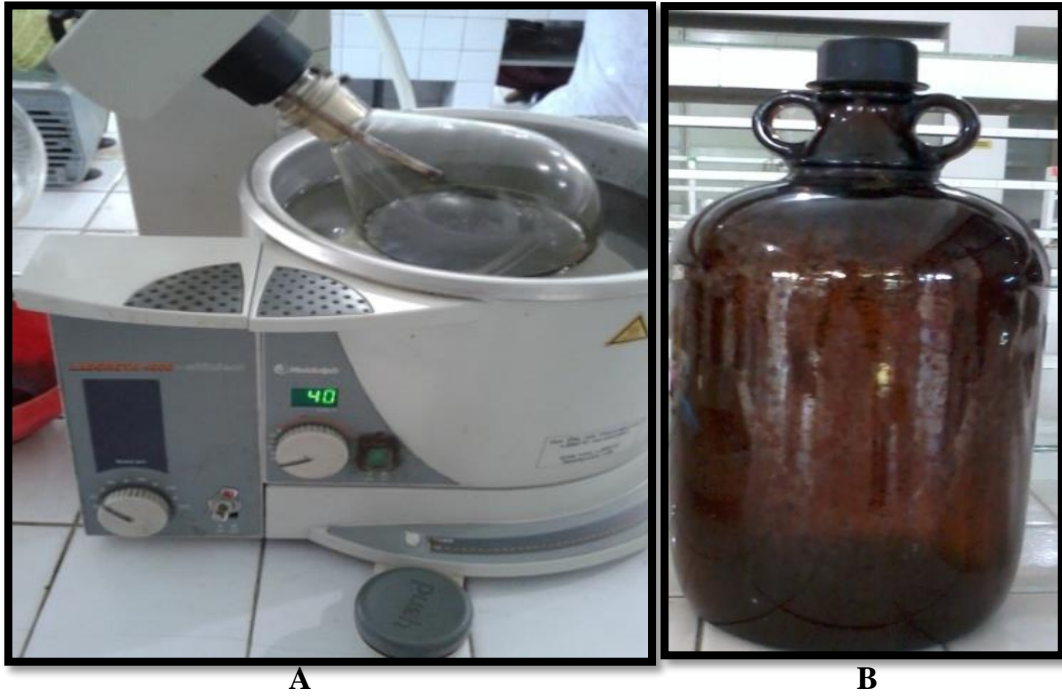
B = Autoklaf

C = Inkubator

D = Inokas

F = Vortex

G = Timbangan analitik

Lampiran 4. Foto alat**Keterangan :**

A = *Vacum Rotary Evaporator*

B = Botol maserasi

Lampiran 5. Foto uji bebas etanol, dan alat *Sterling bidwell*



Keterangan :

A = *Sterling bidwell*

B = Uji bebas etanol

Lampiran 6. Foto hasil ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air



A



B



C



D

Keterangan :







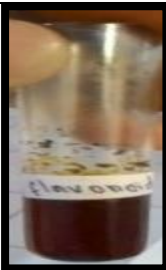

A = Ekstrak

B = Fraksi *n*-heksana







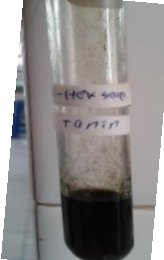
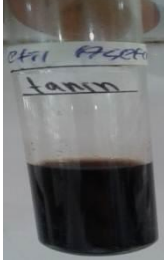




C = Fraksi etil asetat

D = Fraksi air

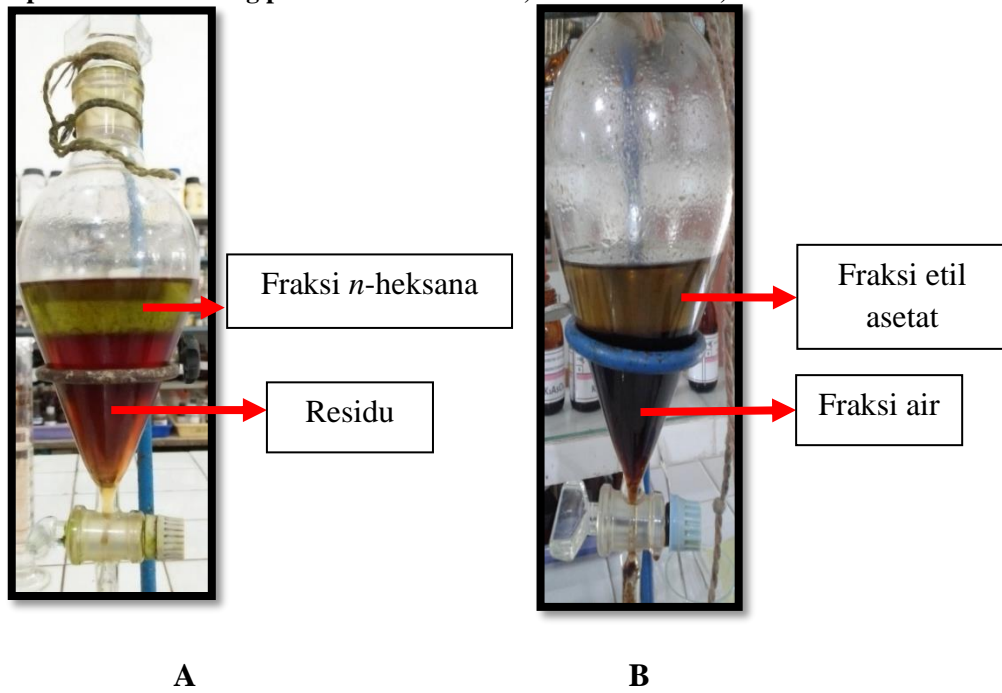
Lampiran 7. Foto Identifikasi Senyawa Kimia Serbuk dan Ekstrak Daun Kenikir

Senyawa	Interpretasi hasil (serbuk)	Interpretasi hasil (ekstrak)
Alkaloid	 <p>Endapan putih ←</p>	 <p>Endapan putih ←</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Reagen mayer terbentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan. • Reagen dragendorff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga. 	
Saponin		
	Sampel dinyatakan positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah penetesan HCl 2N	
Tanin		
	Perubahan warna hijau kehitaman	
Flavonoid		
	Warna merah atau kuning jingga	

Lampiran 8. Foto identifikasi senyawa kimia fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air

Senyawa	Hasil Fraksi		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Alkaloid			
Saponin			
Tanin			
Flavonoid			

Lampiran 9. Foto corong pisah fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan air

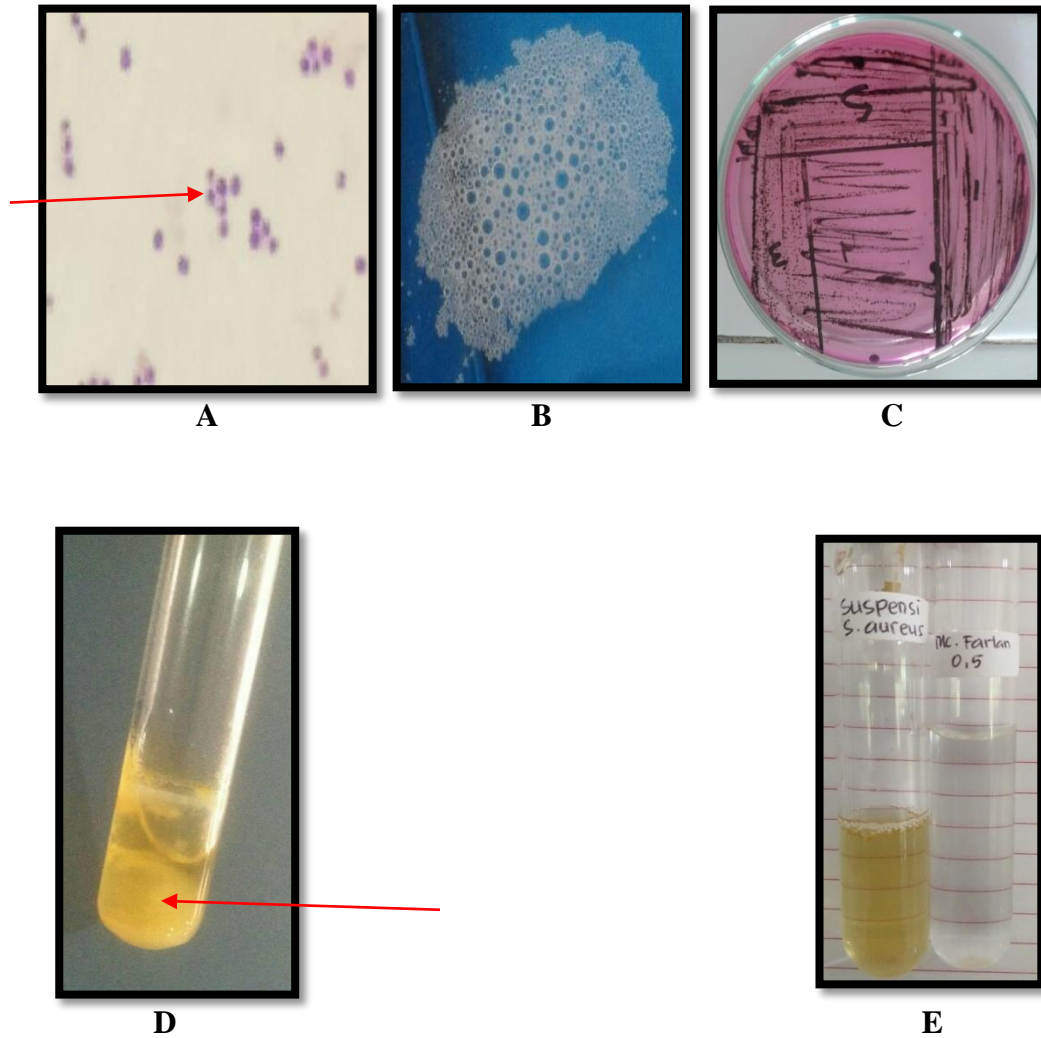


Keterangan :

A = Fraksi *n*-heksana

B = Fraksi etil asetat dan fraksi air

Lampiran 10. Foto suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, identifikasi bakteri media selektif, mikroskopis, uji biokimia, dan suspensi bakteri



Keterangan :

A = Identifikasi pewarnaan Gram positif

B = Identifikasi biokimia (katalase)

C = Identifikasi secara makroskopis

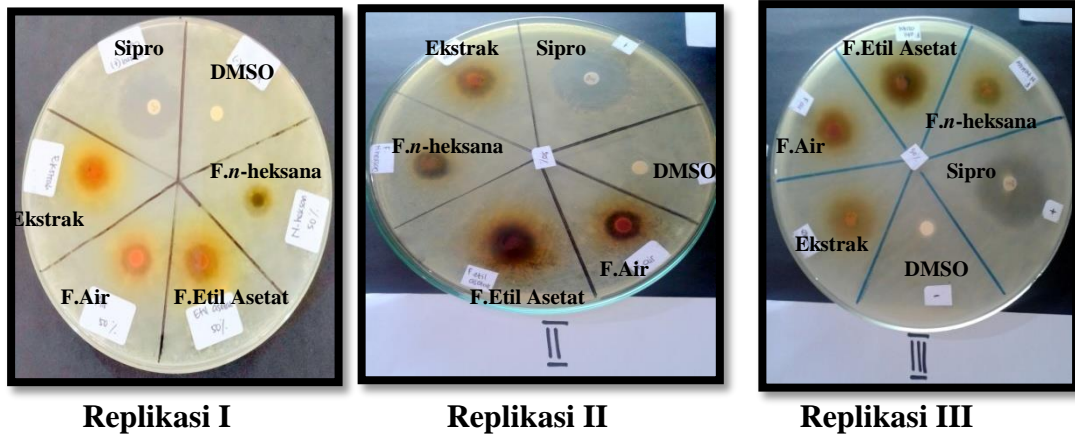
D = Identifikasi biokimia (koagulase)

E = Suspensi bakteri

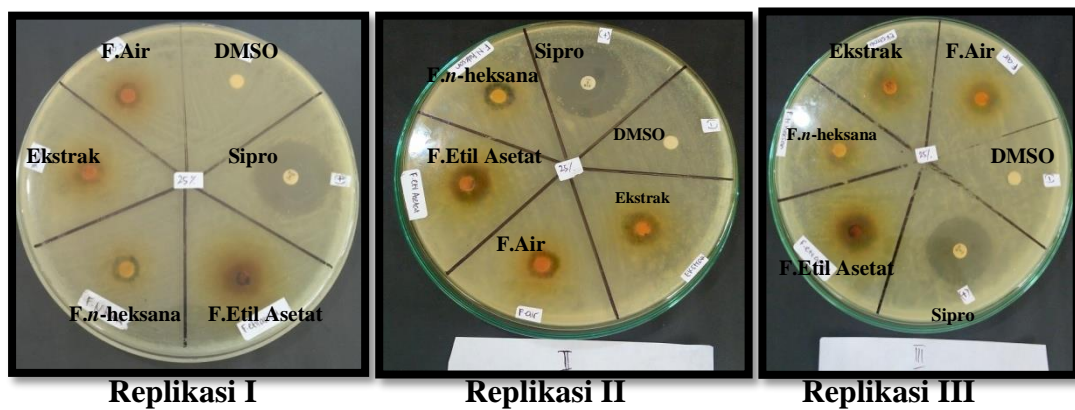
Lampiran 11. Foto hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi

Difusi

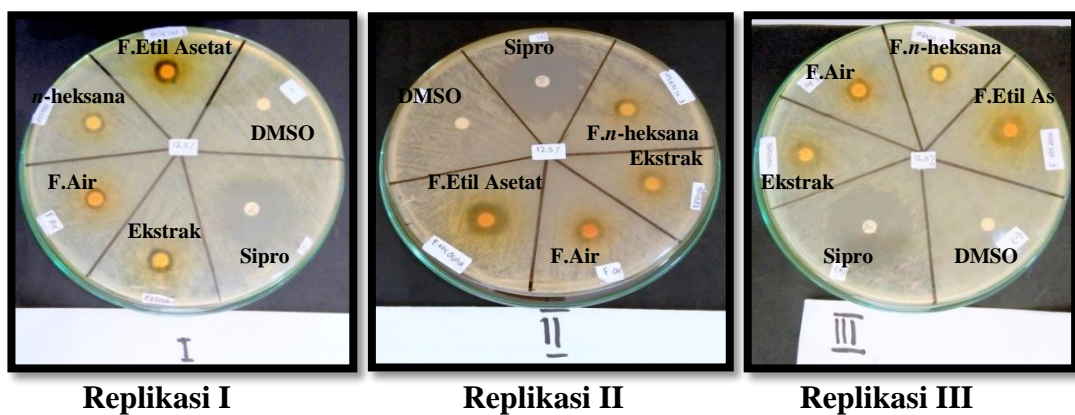
Konsentrasi 50%



Konsentrasi 25%



Konsentrasi 12,5%

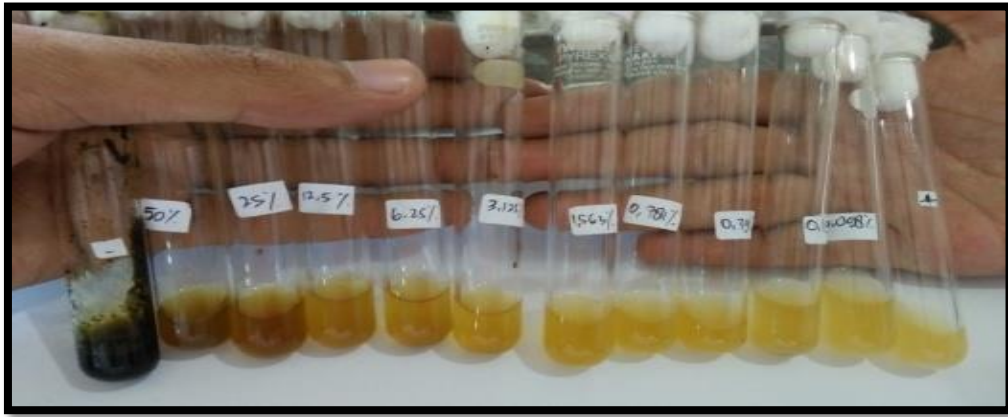


Lampiran 12. Diameter hambat pada aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

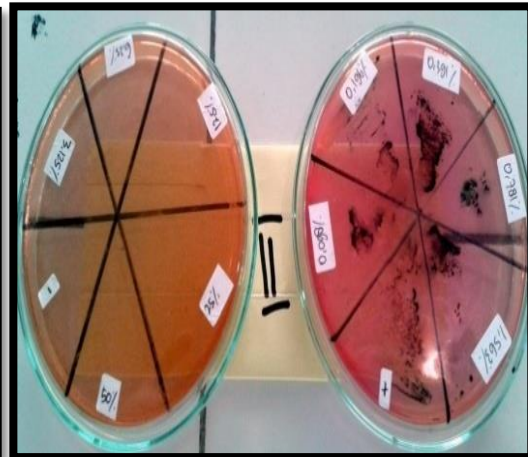
Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata
		1	2	3	
Ekstrak	50	14,33	14,33	14,33	14,33
	25	11	11,33	11,33	11,22
	12,5	10,33	10,33	10,67	10,44
Fraksi <i>n</i> -heksana	50	12	12,33	12,33	12,22
	25	9,67	9,67	9,67	9,67
	12,5	8	8,33	8,33	8,22
Fraksi etil asetat	50	18,33	18,67	18,67	18,56
	25	16,33	16,67	16,67	16,56
	12,5	15,33	15,33	15,67	15,44
Fraksi air	50	13,33	13,67	13,67	13,56
	25	10	10	10,33	10,11
	12,5	9,33	9,67	9,67	9,56
Kontrol positif (siprofloksasin)	5 μ g	29	29,33	29,33	29,22
Kontrol negatif (DMSO 5%)	5	0	0	0	0

Lampiran 13. Foto hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat secara dilusi

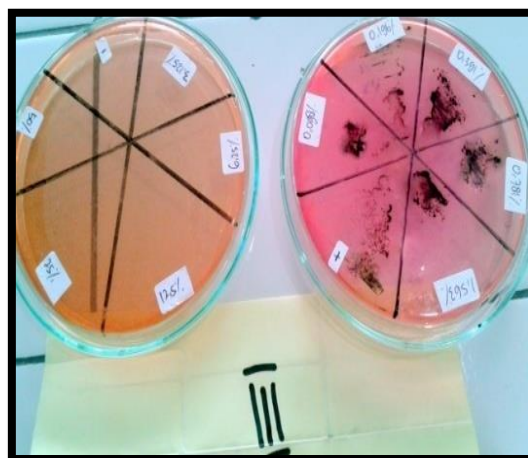
Dilusi



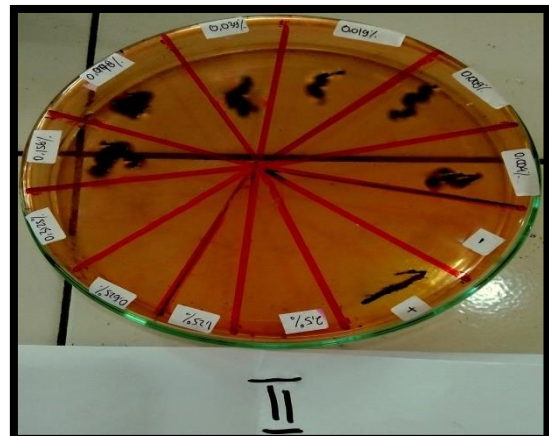
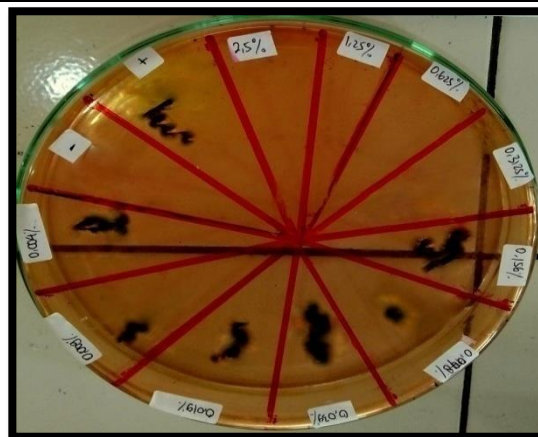
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 14. Foto hasil siprofloksasin secara dilusi**Dilusi****Replikasi I****Replikasi II****Replikasi III**

Lampiran 15. Perhitungan Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun kenikir

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Persentase (%)
10000	2350	23,5

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen serbuk} &= \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\% \\
 &= \frac{2350 \text{ g}}{10000 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 23,5\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 16. Hasil Perhitungan persen rendemen kadar air daun kenikir

No	Serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,6	8,0
2	20	1,5	7,5
3	20	1,6	8,0
Rata-rata			7,83

Penetapan kadar air

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100\% \\
 \text{Replikasi I} &= \frac{1,6 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 8,0\% \\
 \text{Replikasi II} &= \frac{1,5 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 7,5\% \\
 \text{Replikasi III} &= \frac{1,6 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% = 8,0\%
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{8,0\% + 7,5\% + 8,0\%}{3} = 7,83\%$$

Lampiran 17. Hasil persentase ekstrak daun kenikir

Perhitungan kadar rendemen ekstrak

Serbuk daun kenikir (gram)	Hasil ekstrak kental (gram)	Rendemen ekstrak (%)
900	197,9	21,9

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

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen daun kenikir} &= \frac{197,5 \text{ gram}}{900 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 21,9\% \end{aligned}$$

Lampiran 18. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun Kenikir

Bobot ekstrak (gram)	Pelarut	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
90	<i>n</i> -heksana	10,11	11,23
	Etil asetat	21,18	23,53
	Air	39,97	44,41

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak etanol (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{10,11 \text{ gram}}{90 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,23\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak etanol (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{21,18 \text{ gram}}{90 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 23,53 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (gram)}}{\text{bobot ekstrak etanol (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{39,97 \text{ gram}}{90 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 44,41 \% \end{aligned}$$

Lampiran 19. Pembuatan larutan stok difusi dan dilusi

A. Larutan stok difusi

- Konsentrasi 50% $\frac{b}{v}$ = 50 g/100 mL
= 2 g/4mL

Ditimbang 2 gram fraksi, dilarutkan dalam DMSO 5% ad 4mL

- Konsentrasi 25% $\frac{b}{v}$ $V \cdot C(50\%) = V(2 \text{ ml}) \cdot C(25\%)$
 $V = 1 \text{ ml}$

Dipipet 1 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 2ml.

- Konsentrasi 12,5% $\frac{b}{v}$ $V \cdot C(25\%) = V(2 \text{ ml}) \cdot C(12,5\%)$
 $V = 1 \text{ ml}$

Dipipet 1 ml larutan induk konsentrasi 25% dimasukkan dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 2ml.

B. Larutan stok dilusi fraksi etil asetat

Larutan stok 50% = % $\frac{b}{v}$ = 50 g/100 mL

Konsentrasi 50% = 2 g/4mL

- Ditimbang 2 gram fraksi etil asetat kemudian dimasukkan kedalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 4 ml

Tabung reaksi 3 sampai 11 diisi BHI terlebih dahulu

1. Konsentrasi 50%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 2.

2. Konsentrasi 25%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 3 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

- ##### 3. Konsentrasi 12,5% $= V \cdot C(25\%) = V(1 \text{ ml}) \cdot C(12,5\%)$ $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (25%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 4 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$4. \text{ Konsentrasi } 6,25\% = V \cdot C (12,5\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (6,25\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (12,5%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 5 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$5. \text{ Konsentrasi } 3,125\% = V \cdot C (6,25\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (3,125\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (6,25%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 6 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$6. \text{ Konsentrasi } 1,563\% = V \cdot C (3,125\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (1,563\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (3,125%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 7 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$7. \text{ Konsentrasi } 0,781\% = V \cdot C (1,563\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,781\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (1,563%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 8 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$8. \text{ Konsentrasi } 0,391\% = V \cdot C (0,781\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,391\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,781%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 9 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$9. \text{ Konsentrasi } 0,196\% = V \cdot C (0,391\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,196\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,391%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 10 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$10. \text{ Konsentrasi } 0,098\% = V \cdot C (0,196\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,098\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,196%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 11 yang telah berisi BHI ad 1 ml. Dipipet dari tabung 11 sebanyak 0,5 ml kemudian dibuang.

Dari tabung reaksi 2 sampai tabung reaksi 11 masing-masing dimasukkan 0,5 suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Lampiran 20. Perhitungan siprofloksasin

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi siprofloksasin} &= 125 \text{ mg}/5\text{ml} \\ &= 2500 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 2,5 \%\end{aligned}$$

Ditimbang 125 mg siprofloksasin kemudian dimasukkan kedalam vial dan dilarutkan dengan aquadest steril ad 5 ml

1. Konsentrasi 2,5%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 2.

2. Konsentrasi 1,25%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 3 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$\begin{aligned}3. \text{Konsentrasi } 0,625\% &= V \cdot C (1,25\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,625\%) \\ &V = 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (1,25%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 4 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$\begin{aligned}4. \text{Konsentrasi } 0,312\% &= V \cdot C (0,625\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,312\%) \\ &V = 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,625%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 5 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$\begin{aligned}5. \text{Konsentrasi } 0,156\% &= V \cdot C (0,312\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,156\%) \\ &V = 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,312%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 6 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$\begin{aligned}6. \text{Konsentrasi } 0,078\% &= V \cdot C (0,156\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,078\%) \\ &V = 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,156%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 7 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$\begin{aligned}7. \text{Konsentrasi } 0,039\% &= V \cdot C (0,078\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,039\%) \\ &V = 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu (0,078%) dimasukkan kedalam tabung reaksi 8 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$8. \text{ Konsentrasi } 0,019\% = V \cdot C(0,039\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,019\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu (0,039%) dimasukkan kedalam tabung reaksi 9 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$9. \text{ Konsentrasi } 0,009\% = V \cdot C (0,019\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,009\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal lalu (0,019%) dimasukkan kedalam tabung reaksi 10 yang telah berisi BHI ad 1 ml.

$$10. \text{ Konsentrasi } 0,004\% = V \cdot C (0,009\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,004\%)$$

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

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal (0,009%) lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi 11 yang telah berisi BHI ad 1 ml. Dipipet dari tabung 11 sebanyak 0,5 ml kemudian dibuang.

Dari tabung reaksi 2 sampai tabung reaksi 11 masing-masing dimasukkan 0,5 suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Lampiran 21. Hasil data difusi secara ANOVA *one way*

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dayahambat	42	12,7931	6,33110	,00	29,33

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayahambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	12,7931
	Std. Deviation	6,33110
	Absolute	,153
Most Extreme Differences	Positive	,127
	Negative	-,153
Kolmogorov-Smirnov Z		,992
Asymp. Sig. (2-tailed)		,279

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Descriptives

dayahambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak 50%	3	14,3300	,00000	,00000	14,3300	14,3300	14,33	14,33
ekstrak 25%	3	11,2200	,19053	,11000	10,7467	11,6933	11,00	11,33
ekstrak 12,5%	3	10,4433	,19630	,11333	9,9557	10,9310	10,33	10,67
fraksi n-heksana 50%	3	12,2200	,19053	,11000	11,7467	12,6933	12,00	12,33
fraksi n-heksana 25%	3	9,6700	,00000	,00000	9,6700	9,6700	9,67	9,67
fraksi n-heksana 12,5%	3	8,2200	,19053	,11000	7,7467	8,6933	8,00	8,33
fraksi etil asetat 50%	3	18,5567	,19630	,11333	18,0690	19,0443	18,33	18,67
fraksi etil asetat 25%	3	16,5567	,19630	,11333	16,0690	17,0443	16,33	16,67
fraksi etil asetat 12,5%	3	15,4433	,19630	,11333	14,9557	15,9310	15,33	15,67
fraksi air 50%	3	13,5567	,19630	,11333	13,0690	14,0443	13,33	13,67
fraksi air 25%	3	10,1100	,19053	,11000	9,6367	10,5833	10,00	10,33
fraksi air 12,5%	3	9,5567	,19630	,11333	9,0690	10,0443	9,33	9,67
siprofloksasin	3	29,2200	,19053	,11000	28,7467	29,6933	29,00	29,33
DMSO 5%	3	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	42	12,7931	6,33110	,97691	10,8202	14,7660	,00	29,33

Test of Homogeneity of Variances

dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,695	13	28	,002

ANOVA

dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1642,570	13	126,352	4286,217	,000
Within Groups	,825	28	,029		
Total	1643,396	41			

Descriptives

dayahambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ekstrak 50%	3		
ekstrak 25%	3	11,2200	,19053	,11000	10,7467	11,6933	11,00	11,33
ekstrak 12,5%	3	10,4433	,19630	,11333	9,9557	10,9310	10,33	10,67
fraksi n-heksana 50%	3	12,2200	,19053	,11000	11,7467	12,6933	12,00	12,33
fraksi n-heksana 25%	3	9,6700	,00000	,00000	9,6700	9,6700	9,67	9,67
fraksi n-heksana 12,5%	3	8,2200	,19053	,11000	7,7467	8,6933	8,00	8,33
fraksi etil asetat 50%	3	18,5567	,19630	,11333	18,0690	19,0443	18,33	18,67
fraksi etil asetat 25%	3	16,5567	,19630	,11333	16,0690	17,0443	16,33	16,67
fraksi etil asetat 12,5%	3	15,4433	,19630	,11333	14,9557	15,9310	15,33	15,67
fraksi air 50%	3	13,5567	,19630	,11333	13,0690	14,0443	13,33	13,67
fraksi air 25%	3	10,1100	,19053	,11000	9,6367	10,5833	10,00	10,33
fraksi air 12,5%	3	9,5567	,19630	,11333	9,0690	10,0443	9,33	9,67
siprofloksasin	3	29,2200	,19053	,11000	28,7467	29,6933	29,00	29,33
DMSO 5%	3	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Total	42	12,7931	6,33110	,97691	10,8202	14,7660	,00	29,33

Test of Homogeneity of Variances

dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,695	13	28	,002

ANOVA

dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1642,570	13	126,352	4286,217	,000
Within Groups	,825	28	,029		
Total	1643,396	41			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayahambat

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval			
						Lower Bound	Upper Bound		
Tukey	ekstrak 50%	ekstrak 25%	3,11000 [†]	,14019	,000	2,5969	3,6231		
		ekstrak 12,5%	3,88667 [†]	,14019	,000	3,3735	4,3998		
		fraksi n-heksana 50%	2,11000 [†]	,14019	,000	1,5969	2,6231		
		fraksi n-heksana 25%	4,66000 [†]	,14019	,000	4,1469	5,1731		
		fraksi n-heksana 12,5%	6,11000 [†]	,14019	,000	5,5969	6,6231		
		fraksi etil asetat 50%	-4,22667 [†]	,14019	,000	-4,7398	-3,7135		
		fraksi etil asetat 25%	-2,22667 [†]	,14019	,000	-2,7398	-1,7135		
		fraksi etil asetat 12,5%	-1,11333 [†]	,14019	,000	-1,6265	-,6002		
		fraksi air 50%	,77333 [†]	,14019	,000	,2602	1,2865		
		fraksi air 25%	4,22000 [†]	,14019	,000	3,7069	4,7331		
		fraksi air 12,5%	4,77333 [†]	,14019	,000	4,2602	5,2865		
		HSD	ekstrak 25%	Siprofloksasin	-	,14019	,000	-15,4031	-14,3769
				DMSO 5%	14,89000 [†]				
				DMSO 5%	14,33000 [†]	,14019	,000	13,8169	14,8431
ekstrak 50%	-3,11000 [†]			,14019	,000	-3,6231	-2,5969		
ekstrak 12,5%	,77667 [†]			,14019	,000	,2635	1,2898		
fraksi n-heksana 50%	-1,00000 [†]			,14019	,000	-1,5131	-,4869		

	fraksi air 50%	-2,33667 ⁺	,14019	,000	-2,8498	-1,8235
	fraksi air 25%	1,11000 ⁺	,14019	,000	,5969	1,6231
	fraksi air 12,5%	1,66333 ⁺	,14019	,000	1,1502	2,1765
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-18,5131	-17,4869
	DMSO 5%	18,00000 ⁺				
	DMSO 5%	11,22000 ⁺	,14019	,000	10,7069	11,7331
	ekstrak 50%	-3,88667 ⁺	,14019	,000	-4,3998	-3,3735
	ekstrak 25%	-,77667 ⁺	,14019	,000	-1,2898	-,2635
	fraksi n-heksana 50%	-1,77667 ⁺	,14019	,000	-2,2898	-1,2635
	fraksi n-heksana 25%	,77333 ⁺	,14019	,000	,2602	1,2865
	fraksi n-heksana 12,5%	2,22333 ⁺	,14019	,000	1,7102	2,7365
	fraksi etil asetat 50%	-8,11333 ⁺	,14019	,000	-8,6265	-7,6002
ekstrak 12,5%	fraksi etil asetat 25%	-6,11333 ⁺	,14019	,000	-6,6265	-5,6002
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,00000 ⁺	,14019	,000	-5,5131	-4,4869
	fraksi air 50%	-3,11333 ⁺	,14019	,000	-3,6265	-2,6002
	fraksi air 25%	,33333	,14019	,518	-,1798	,8465
	fraksi air 12,5%	,88667 ⁺	,14019	,000	,3735	1,3998
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-19,2898	-18,2635
	DMSO 5%	18,77667 ⁺				
	DMSO 5%	10,44333 ⁺	,14019	,000	9,9302	10,9565
	ekstrak 50%	-2,11000 ⁺	,14019	,000	-2,6231	-1,5969
	ekstrak 25%	1,00000 ⁺	,14019	,000	,4869	1,5131
	ekstrak 12,5%	1,77667 ⁺	,14019	,000	1,2635	2,2898
	fraksi n-heksana 25%	2,55000 ⁺	,14019	,000	2,0369	3,0631
	fraksi n-heksana 12,5%	4,00000 ⁺	,14019	,000	3,4869	4,5131
	fraksi etil asetat 50%	-6,33667 ⁺	,14019	,000	-6,8498	-5,8235
fraksi n-	fraksi etil asetat 25%	-4,33667 ⁺	,14019	,000	-4,8498	-3,8235
heksana 50%	fraksi etil asetat 12,5%	-3,22333 ⁺	,14019	,000	-3,7365	-2,7102
	fraksi air 50%	-1,33667 ⁺	,14019	,000	-1,8498	-,8235
	fraksi air 25%	2,11000 ⁺	,14019	,000	1,5969	2,6231
	fraksi air 12,5%	2,66333 ⁺	,14019	,000	2,1502	3,1765
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-17,5131	-16,4869
	DMSO 5%	17,00000 ⁺				
	DMSO 5%	12,22000 ⁺	,14019	,000	11,7069	12,7331
fraksi n-	ekstrak 50%	-4,66000 ⁺	,14019	,000	-5,1731	-4,1469
heksana 25%	ekstrak 25%	-1,55000 ⁺	,14019	,000	-2,0631	-1,0369

	ekstrak 12,5%	-,77333 ⁺	,14019	,000	-1,2865	-,2602
	fraksi n-heksana 50%	-2,55000 ⁺	,14019	,000	-3,0631	-2,0369
	fraksi n-heksana 12,5%	1,45000 ⁺	,14019	,000	,9369	1,9631
	fraksi etil asetat 50%	-8,88667 ⁺	,14019	,000	-9,3998	-8,3735
	fraksi etil asetat 25%	-6,88667 ⁺	,14019	,000	-7,3998	-6,3735
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,77333 ⁺	,14019	,000	-6,2865	-5,2602
	fraksi air 50%	-3,88667 ⁺	,14019	,000	-4,3998	-3,3735
	fraksi air 25%	-,44000	,14019	,151	-,9531	,0731
	fraksi air 12,5%	,11333	,14019	1,000	-,3998	,6265
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-20,0631	-19,0369
	DMSO 5%	19,55000 ⁺				
	ekstrak 50%	9,67000 ⁺	,14019	,000	9,1569	10,1831
	ekstrak 25%	-6,11000 ⁺	,14019	,000	-6,6231	-5,5969
	ekstrak 12,5%	-3,00000 ⁺	,14019	,000	-3,5131	-2,4869
	fraksi n-heksana 50%	-2,22333 ⁺	,14019	,000	-2,7365	-1,7102
	fraksi n-heksana 25%	-4,00000 ⁺	,14019	,000	-4,5131	-3,4869
	fraksi n-heksana 12,5%	-1,45000 ⁺	,14019	,000	-1,9631	-,9369
	fraksi etil asetat 50%	-	,14019	,000	-10,8498	-9,8235
	fraksi etil asetat 25%	10,33667 ⁺	,14019	,000	-8,8498	-7,8235
	fraksi etil asetat 12,5%	-8,33667 ⁺	,14019	,000	-7,7365	-6,7102
	fraksi air 50%	-7,22333 ⁺	,14019	,000	-5,8498	-4,8235
	fraksi air 25%	-5,33667 ⁺	,14019	,000	-2,4031	-1,3769
	fraksi air 12,5%	-1,89000 ⁺	,14019	,000	-1,8498	-,8235
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-21,5131	-20,4869
	DMSO 5%	21,00000 ⁺				
	ekstrak 50%	8,22000 ⁺	,14019	,000	7,7069	8,7331
	ekstrak 25%	4,22667 ⁺	,14019	,000	3,7135	4,7398
	ekstrak 12,5%	7,33667 ⁺	,14019	,000	6,8235	7,8498
	fraksi n-heksana 50%	8,11333 ⁺	,14019	,000	7,6002	8,6265
	fraksi n-heksana 25%	6,33667 ⁺	,14019	,000	5,8235	6,8498
	fraksi n-heksana 12,5%	8,88667 ⁺	,14019	,000	8,3735	9,3998
	fraksi etil asetat 25%	10,33667 ⁺	,14019	,000	9,8235	10,8498
	fraksi etil asetat 12,5%	2,00000 ⁺	,14019	,000	1,4869	2,5131
	fraksi air 50%	3,11333 ⁺	,14019	,000	2,6002	3,6265
	fraksi air 25%	5,00000 ⁺	,14019	,000	4,4869	5,5131

	fraksi air 25%	8,44667 ⁺	,14019	,000	7,9335	8,9598
	fraksi air 12,5%	9,00000 ⁺	,14019	,000	8,4869	9,5131
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-11,1765	-10,1502
	DMSO 5%	10,66333 ⁺				
	ekstrak 50%	18,55667 ⁺	,14019	,000	18,0435	19,0698
	ekstrak 25%	2,22667 ⁺	,14019	,000	1,7135	2,7398
	ekstrak 12,5%	5,33667 ⁺	,14019	,000	4,8235	5,8498
	fraksi n-heksana 50%	6,11333 ⁺	,14019	,000	5,6002	6,6265
	fraksi n-heksana 25%	4,33667 ⁺	,14019	,000	3,8235	4,8498
	fraksi n-heksana 12,5%	6,88667 ⁺	,14019	,000	6,3735	7,3998
	fraksi etil asetat 50%	8,33667 ⁺	,14019	,000	7,8235	8,8498
fraksi etil asetat 25%	fraksi etil asetat 50%	-2,00000 ⁺	,14019	,000	-2,5131	-1,4869
	fraksi etil asetat 12,5%	1,11333 ⁺	,14019	,000	,6002	1,6265
	fraksi air 50%	3,00000 ⁺	,14019	,000	2,4869	3,5131
	fraksi air 25%	6,44667 ⁺	,14019	,000	5,9335	6,9598
	fraksi air 12,5%	7,00000 ⁺	,14019	,000	6,4869	7,5131
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-13,1765	-12,1502
	DMSO 5%	12,66333 ⁺				
	ekstrak 50%	16,55667 ⁺	,14019	,000	16,0435	17,0698
	ekstrak 25%	1,11333 ⁺	,14019	,000	,6002	1,6265
	ekstrak 12,5%	4,22333 ⁺	,14019	,000	3,7102	4,7365
	fraksi n-heksana 50%	5,00000 ⁺	,14019	,000	4,4869	5,5131
	fraksi n-heksana 25%	3,22333 ⁺	,14019	,000	2,7102	3,7365
	fraksi n-heksana 12,5%	5,77333 ⁺	,14019	,000	5,2602	6,2865
	fraksi etil asetat 50%	7,22333 ⁺	,14019	,000	6,7102	7,7365
fraksi etil asetat 12,5%	fraksi etil asetat 50%	-3,11333 ⁺	,14019	,000	-3,6265	-2,6002
	fraksi etil asetat 25%	-1,11333 ⁺	,14019	,000	-1,6265	-,6002
	fraksi air 50%	1,88667 ⁺	,14019	,000	1,3735	2,3998
	fraksi air 25%	5,33333 ⁺	,14019	,000	4,8202	5,8465
	fraksi air 12,5%	5,88667 ⁺	,14019	,000	5,3735	6,3998
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-14,2898	-13,2635
	DMSO 5%	13,77667 ⁺				
	ekstrak 50%	15,44333 ⁺	,14019	,000	14,9302	15,9565
	ekstrak 25%	-,77333 ⁺	,14019	,000	-1,2865	-,2602
fraksi air 50%	ekstrak 25%	2,33667 ⁺	,14019	,000	1,8235	2,8498
	ekstrak 12,5%	3,11333 ⁺	,14019	,000	2,6002	3,6265

	fraksi n-heksana 50%	1,33667 ⁺	,14019	,000	,8235	1,8498
	fraksi n-heksana 25%	3,88667 ⁺	,14019	,000	3,3735	4,3998
	fraksi n-heksana 12,5%	5,33667 ⁺	,14019	,000	4,8235	5,8498
	fraksi etil asetat 50%	-5,00000 ⁺	,14019	,000	-5,5131	-4,4869
	fraksi etil asetat 25%	-3,00000 ⁺	,14019	,000	-3,5131	-2,4869
	fraksi etil asetat 12,5%	-1,88667 ⁺	,14019	,000	-2,3998	-1,3735
	fraksi air 25%	3,44667 ⁺	,14019	,000	2,9335	3,9598
	fraksi air 12,5%	4,00000 ⁺	,14019	,000	3,4869	4,5131
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-16,1765	-15,1502
	DMSO 5%	15,66333 ⁺				
	ekstrak 50%	13,55667 ⁺	,14019	,000	13,0435	14,0698
	ekstrak 25%	-4,22000 ⁺	,14019	,000	-4,7331	-3,7069
	ekstrak 12,5%	-1,11000 ⁺	,14019	,000	-1,6231	-,5969
	ekstrak 12,5%	-,33333	,14019	,518	-,8465	,1798
	fraksi n-heksana 50%	-2,11000 ⁺	,14019	,000	-2,6231	-1,5969
	fraksi n-heksana 25%	,44000	,14019	,151	-,0731	,9531
	fraksi n-heksana 12,5%	1,89000 ⁺	,14019	,000	1,3769	2,4031
fraksi air 25%	fraksi etil asetat 50%	-8,44667 ⁺	,14019	,000	-8,9598	-7,9335
	fraksi etil asetat 25%	-6,44667 ⁺	,14019	,000	-6,9598	-5,9335
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,33333 ⁺	,14019	,000	-5,8465	-4,8202
	fraksi air 50%	-3,44667 ⁺	,14019	,000	-3,9598	-2,9335
	fraksi air 12,5%	,55333 ⁺	,14019	,026	,0402	1,0665
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-19,6231	-18,5969
	DMSO 5%	19,11000 ⁺				
	ekstrak 50%	10,11000 ⁺	,14019	,000	9,5969	10,6231
	ekstrak 25%	-4,77333 ⁺	,14019	,000	-5,2865	-4,2602
	ekstrak 12,5%	-1,66333 ⁺	,14019	,000	-2,1765	-1,1502
	ekstrak 12,5%	-,88667 ⁺	,14019	,000	-1,3998	-,3735
	fraksi n-heksana 50%	-2,66333 ⁺	,14019	,000	-3,1765	-2,1502
fraksi air 12,5%	fraksi n-heksana 25%	-,11333	,14019	1,000	-,6265	,3998
	fraksi n-heksana 12,5%	1,33667 ⁺	,14019	,000	,8235	1,8498
	fraksi etil asetat 50%	-9,00000 ⁺	,14019	,000	-9,5131	-8,4869
	fraksi etil asetat 25%	-7,00000 ⁺	,14019	,000	-7,5131	-6,4869
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,88667 ⁺	,14019	,000	-6,3998	-5,3735
	fraksi air 50%	-4,00000 ⁺	,14019	,000	-4,5131	-3,4869

	fraksi air 25%	-,55333 ⁺	,14019	,026	-1,0665	-,0402
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-20,1765	-19,1502
	DMSO 5%	19,66333 ⁺				
	ekstrak 50%	9,55667 ⁺	,14019	,000	9,0435	10,0698
	ekstrak 25%	14,89000 ⁺	,14019	,000	14,3769	15,4031
	ekstrak 12,5%	18,00000 ⁺	,14019	,000	17,4869	18,5131
	fraksi n-heksana 50%	18,77667 ⁺	,14019	,000	18,2635	19,2898
	fraksi n-heksana 25%	17,00000 ⁺	,14019	,000	16,4869	17,5131
	fraksi n-heksana 12,5%	19,55000 ⁺	,14019	,000	19,0369	20,0631
siprofloksasin	fraksi etil asetat 50%	21,00000 ⁺	,14019	,000	20,4869	21,5131
	fraksi etil asetat 25%	10,66333 ⁺	,14019	,000	10,1502	11,1765
	fraksi etil asetat 12,5%	12,66333 ⁺	,14019	,000	12,1502	13,1765
	fraksi air 50%	13,77667 ⁺	,14019	,000	13,2635	14,2898
	fraksi air 25%	15,66333 ⁺	,14019	,000	15,1502	16,1765
	fraksi air 12,5%	19,11000 ⁺	,14019	,000	18,5969	19,6231
	DMSO 5%	19,66333 ⁺	,14019	,000	19,1502	20,1765
	ekstrak 50%	29,22000 ⁺	,14019	,000	28,7069	29,7331
	ekstrak 25%	-	,14019	,000	-14,8431	-13,8169
	ekstrak 12,5%	14,33000 ⁺				
	fraksi n-heksana 50%	-	,14019	,000	-11,7331	-10,7069
	fraksi n-heksana 25%	11,22000 ⁺				
	fraksi n-heksana 12,5%	-	,14019	,000	-10,9565	-9,9302
	fraksi etil asetat 50%	10,44333 ⁺				
	fraksi etil asetat 25%	-	,14019	,000	-12,7331	-11,7069
	fraksi etil asetat 12,5%	12,22000 ⁺				
DMSO 5%	fraksi air 50%	-9,67000 ⁺	,14019	,000	-10,1831	-9,1569
	fraksi air 25%	-8,22000 ⁺	,14019	,000	-8,7331	-7,7069
	fraksi air 12,5%	-	,14019	,000	-19,0698	-18,0435
	DMSO 5%	18,55667 ⁺				
	ekstrak 50%	-	,14019	,000	-17,0698	-16,0435
	ekstrak 25%	16,55667 ⁺				
	ekstrak 12,5%	-	,14019	,000	-15,9565	-14,9302
	fraksi n-heksana 50%	15,44333 ⁺				
	fraksi n-heksana 25%	-	,14019	,000	-14,0698	-13,0435
	fraksi n-heksana 12,5%	13,55667 ⁺				

	fraksi n-heksana 25%	,77333 [±]	,14019	,001	,2266	1,3200
	fraksi n-heksana 12,5%	2,22333 [±]	,14019	,000	1,6766	2,7700
	fraksi etil asetat 50%	-8,11333 [±]	,14019	,000	-8,6600	-7,5666
	fraksi etil asetat 25%	-6,11333 [±]	,14019	,000	-6,6600	-5,5666
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,00000 [±]	,14019	,000	-5,5467	-4,4533
	fraksi air 50%	-3,11333 [±]	,14019	,000	-3,6600	-2,5666
	fraksi air 25%	,33333	,14019	1,000	-,2134	,8800
	fraksi air 12,5%	,88667 [±]	,14019	,000	,3400	1,4334
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-19,3234	-18,2300
	DMSO 5%	18,77667 [±]				
	ekstrak 50%	10,44333 [±]	,14019	,000	9,8966	10,9900
	ekstrak 25%	-2,11000 [±]	,14019	,000	-2,6567	-1,5633
	ekstrak 12,5%	1,00000 [±]	,14019	,000	,4533	1,5467
	fraksi n-heksana 25%	1,77667 [±]	,14019	,000	1,2300	2,3234
	fraksi n-heksana 12,5%	2,55000 [±]	,14019	,000	2,0033	3,0967
	fraksi etil asetat 50%	4,00000 [±]	,14019	,000	3,4533	4,5467
	fraksi etil asetat 25%	-6,33667 [±]	,14019	,000	-6,8834	-5,7900
fraksi n-heksana 50%	fraksi etil asetat 12,5%	-4,33667 [±]	,14019	,000	-4,8834	-3,7900
	fraksi air 50%	-3,22333 [±]	,14019	,000	-3,7700	-2,6766
	fraksi air 25%	-1,33667 [±]	,14019	,000	-1,8834	-,7900
	fraksi air 12,5%	2,11000 [±]	,14019	,000	1,5633	2,6567
	siprofloksasin	2,66333 [±]	,14019	,000	2,1166	3,2100
	DMSO 5%	-	,14019	,000	-17,5467	-16,4533
	ekstrak 50%	17,00000 [±]				
	ekstrak 25%	12,22000 [±]	,14019	,000	11,6733	12,7667
	ekstrak 12,5%	-4,66000 [±]	,14019	,000	-5,2067	-4,1133
	fraksi n-heksana 50%	-1,55000 [±]	,14019	,000	-2,0967	-1,0033
	fraksi n-heksana 12,5%	-,77333 [±]	,14019	,001	-1,3200	-,2266
fraksi n-heksana 25%	fraksi etil asetat 50%	-2,55000 [±]	,14019	,000	-3,0967	-2,0033
	fraksi etil asetat 25%	1,45000 [±]	,14019	,000	,9033	1,9967
	fraksi etil asetat 12,5%	-8,88667 [±]	,14019	,000	-9,4334	-8,3400
	fraksi air 50%	-6,88667 [±]	,14019	,000	-7,4334	-6,3400
	fraksi air 25%	-5,77333 [±]	,14019	,000	-6,3200	-5,2266
		-3,88667 [±]	,14019	,000	-4,4334	-3,3400
		-,44000	,14019	,362	-,9867	,1067

	fraksi air 12,5%	,11333	,14019	1,000	-,4334	,6600
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-20,0967	-19,0033
	DMSO 5%	19,55000 ⁺				
	ekstrak 50%	9,67000 ⁺	,14019	,000	9,1233	10,2167
	ekstrak 25%	-6,11000 ⁺	,14019	,000	-6,6567	-5,5633
	ekstrak 12,5%	-3,00000 ⁺	,14019	,000	-3,5467	-2,4533
	fraksi n-heksana 50%	-2,22333 ⁺	,14019	,000	-2,7700	-1,6766
	fraksi n-heksana 25%	-4,00000 ⁺	,14019	,000	-4,5467	-3,4533
	fraksi n-heksana 12,5%	-1,45000 ⁺	,14019	,000	-1,9967	-,9033
	fraksi etil asetat 50%	-	,14019	,000	-10,8834	-9,7900
fraksi n-	fraksi etil asetat 25%	10,33667 ⁺				
heksana 12,5%	fraksi etil asetat 12,5%	-8,33667 ⁺	,14019	,000	-8,8834	-7,7900
	fraksi air 50%	-7,22333 ⁺	,14019	,000	-7,7700	-6,6766
	fraksi air 25%	-5,33667 ⁺	,14019	,000	-5,8834	-4,7900
	fraksi air 12,5%	-1,89000 ⁺	,14019	,000	-2,4367	-1,3433
	siprofloksasin	-1,33667 ⁺	,14019	,000	-1,8834	-,7900
	DMSO 5%	-	,14019	,000	-21,5467	-20,4533
	ekstrak 50%	21,00000 ⁺				
	ekstrak 25%	8,22000 ⁺	,14019	,000	7,6733	8,7667
	ekstrak 12,5%	4,22667 ⁺	,14019	,000	3,6800	4,7734
	fraksi n-heksana 50%	7,33667 ⁺	,14019	,000	6,7900	7,8834
	fraksi n-heksana 25%	8,11333 ⁺	,14019	,000	7,5666	8,6600
	fraksi n-heksana 12,5%	6,33667 ⁺	,14019	,000	5,7900	6,8834
	fraksi etil asetat 25%	8,88667 ⁺	,14019	,000	8,3400	9,4334
	fraksi etil asetat 12,5%	10,33667 ⁺	,14019	,000	9,7900	10,8834
fraksi etil asetat 50%	fraksi air 50%	2,00000 ⁺	,14019	,000	1,4533	2,5467
	fraksi air 25%	3,11333 ⁺	,14019	,000	2,5666	3,6600
	fraksi air 12,5%	5,00000 ⁺	,14019	,000	4,4533	5,5467
	siprofloksasin	8,44667 ⁺	,14019	,000	7,9000	8,9934
	DMSO 5%	9,00000 ⁺	,14019	,000	8,4533	9,5467
	ekstrak 50%	-	,14019	,000	-11,2100	-10,1166
	ekstrak 25%	10,66333 ⁺				
	ekstrak 12,5%	18,55667 ⁺	,14019	,000	18,0100	19,1034
fraksi etil asetat 25%	fraksi etil asetat 25%	2,22667 ⁺	,14019	,000	1,6800	2,7734
	fraksi etil asetat 12,5%	5,33667 ⁺	,14019	,000	4,7900	5,8834
	fraksi etil asetat 50%	6,11333 ⁺	,14019	,000	5,5666	6,6600

	fraksi n-heksana 50%	4,33667 [±]	,14019	,000	3,7900	4,8834
	fraksi n-heksana 25%	6,88667 [±]	,14019	,000	6,3400	7,4334
	fraksi n-heksana 12,5%	8,33667 [±]	,14019	,000	7,7900	8,8834
	fraksi etil asetat 50%	-2,00000 [±]	,14019	,000	-2,5467	-1,4533
	fraksi etil asetat 12,5%	1,11333 [±]	,14019	,000	,5666	1,6600
	fraksi air 50%	3,00000 [±]	,14019	,000	2,4533	3,5467
	fraksi air 25%	6,44667 [±]	,14019	,000	5,9000	6,9934
	fraksi air 12,5%	7,00000 [±]	,14019	,000	6,4533	7,5467
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-13,2100	-12,1166
	DMSO 5%	12,66333 [±]				
	ekstrak 50%	16,55667 [±]	,14019	,000	16,0100	17,1034
	ekstrak 25%	1,11333 [±]	,14019	,000	,5666	1,6600
	ekstrak 12,5%	4,22333 [±]	,14019	,000	3,6766	4,7700
	fraksi n-heksana 50%	5,00000 [±]	,14019	,000	4,4533	5,5467
	fraksi n-heksana 25%	3,22333 [±]	,14019	,000	2,6766	3,7700
	fraksi n-heksana 12,5%	5,77333 [±]	,14019	,000	5,2266	6,3200
	fraksi etil asetat 50%	7,22333 [±]	,14019	,000	6,6766	7,7700
fraksi etil asetat	fraksi etil asetat 50%	-3,11333 [±]	,14019	,000	-3,6600	-2,5666
12,5%	fraksi etil asetat 25%	-1,11333 [±]	,14019	,000	-1,6600	-,5666
	fraksi air 50%	1,88667 [±]	,14019	,000	1,3400	2,4334
	fraksi air 25%	5,33333 [±]	,14019	,000	4,7866	5,8800
	fraksi air 12,5%	5,88667 [±]	,14019	,000	5,3400	6,4334
	siprofloksasin	-	,14019	,000	-14,3234	-13,2300
	DMSO 5%	13,77667 [±]				
	ekstrak 50%	15,44333 [±]	,14019	,000	14,8966	15,9900
	ekstrak 25%	-,77333 [±]	,14019	,001	-1,3200	-,2266
	ekstrak 12,5%	2,33667 [±]	,14019	,000	1,7900	2,8834
	fraksi n-heksana 50%	3,11333 [±]	,14019	,000	2,5666	3,6600
	fraksi n-heksana 25%	1,33667 [±]	,14019	,000	,7900	1,8834
fraksi air 50%	fraksi n-heksana 25%	3,88667 [±]	,14019	,000	3,3400	4,4334
	fraksi n-heksana 12,5%	5,33667 [±]	,14019	,000	4,7900	5,8834
	fraksi etil asetat 50%	-5,00000 [±]	,14019	,000	-5,5467	-4,4533
	fraksi etil asetat 25%	-3,00000 [±]	,14019	,000	-3,5467	-2,4533
	fraksi etil asetat 12,5%	-1,88667 [±]	,14019	,000	-2,4334	-1,3400
	fraksi air 25%	3,44667 [±]	,14019	,000	2,9000	3,9934

	fraksi air 12,5%	4,00000 ⁺	,14019	,000	3,4533	4,5467
		-	,14019	,000	-16,2100	-15,1166
	siprofloksasin	15,66333 ⁺				
	DMSO 5%	13,55667 ⁺	,14019	,000	13,0100	14,1034
	ekstrak 50%	-4,22000 ⁺	,14019	,000	-4,7667	-3,6733
	ekstrak 25%	-1,11000 ⁺	,14019	,000	-1,6567	-,5633
	ekstrak 12,5%	-,33333	,14019	1,000	-,8800	,2134
	fraksi n-heksana 50%	-2,11000 ⁺	,14019	,000	-2,6567	-1,5633
	fraksi n-heksana 25%	,44000	,14019	,362	-,1067	,9867
	fraksi n-heksana 12,5%	1,89000 ⁺	,14019	,000	1,3433	2,4367
fraksi air 25%	fraksi etil asetat 50%	-8,44667 ⁺	,14019	,000	-8,9934	-7,9000
	fraksi etil asetat 25%	-6,44667 ⁺	,14019	,000	-6,9934	-5,9000
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,33333 ⁺	,14019	,000	-5,8800	-4,7866
	fraksi air 50%	-3,44667 ⁺	,14019	,000	-3,9934	-2,9000
	fraksi air 12,5%	,55333 ⁺	,14019	,044	,0066	1,1000
		-	,14019	,000	-19,6567	-18,5633
	siprofloksasin	19,11000 ⁺				
	DMSO 5%	10,11000 ⁺	,14019	,000	9,5633	10,6567
	ekstrak 50%	-4,77333 ⁺	,14019	,000	-5,3200	-4,2266
	ekstrak 25%	-1,66333 ⁺	,14019	,000	-2,2100	-1,1166
	ekstrak 12,5%	-,88667 ⁺	,14019	,000	-1,4334	-,3400
	fraksi n-heksana 50%	-2,66333 ⁺	,14019	,000	-3,2100	-2,1166
	fraksi n-heksana 25%	-,11333	,14019	1,000	-,6600	,4334
	fraksi n-heksana 12,5%	1,33667 ⁺	,14019	,000	,7900	1,8834
fraksi air 12,5%	fraksi etil asetat 50%	-9,00000 ⁺	,14019	,000	-9,5467	-8,4533
	fraksi etil asetat 25%	-7,00000 ⁺	,14019	,000	-7,5467	-6,4533
	fraksi etil asetat 12,5%	-5,88667 ⁺	,14019	,000	-6,4334	-5,3400
	fraksi air 50%	-4,00000 ⁺	,14019	,000	-4,5467	-3,4533
	fraksi air 25%	-,55333 ⁺	,14019	,044	-1,1000	-,0066
		-	,14019	,000	-20,2100	-19,1166
	siprofloksasin	19,66333 ⁺				
	DMSO 5%	9,55667 ⁺	,14019	,000	9,0100	10,1034
	ekstrak 50%	14,89000 ⁺	,14019	,000	14,3433	15,4367
	ekstrak 25%	18,00000 ⁺	,14019	,000	17,4533	18,5467
siprofloksasin	ekstrak 12,5%	18,77667 ⁺	,14019	,000	18,2300	19,3234
	fraksi n-heksana 50%	17,00000 ⁺	,14019	,000	16,4533	17,5467

	fraksi n-heksana 25%	19,55000 [*]	,14019	,000	19,0033	20,0967
	fraksi n-heksana 12,5%	21,00000 [*]	,14019	,000	20,4533	21,5467
	fraksi etil asetat 50%	10,66333 [*]	,14019	,000	10,1166	11,2100
	fraksi etil asetat 25%	12,66333 [*]	,14019	,000	12,1166	13,2100
	fraksi etil asetat 12,5%	13,77667 [*]	,14019	,000	13,2300	14,3234
	fraksi air 50%	15,66333 [*]	,14019	,000	15,1166	16,2100
	fraksi air 25%	19,11000 [*]	,14019	,000	18,5633	19,6567
	fraksi air 12,5%	19,66333 [*]	,14019	,000	19,1166	20,2100
	DMSO 5%	29,22000 [*]	,14019	,000	28,6733	29,7667
	ekstrak 50%	-	,14019	,000	-14,8767	-13,7833
		14,33000 [*]				
	ekstrak 25%	-	,14019	,000	-11,7667	-10,6733
		11,22000 [*]				
	ekstrak 12,5%	-	,14019	,000	-10,9900	-9,8966
		10,44333 [*]				
	fraksi n-heksana 50%	-	,14019	,000	-12,7667	-11,6733
		12,22000 [*]				
	fraksi n-heksana 25%	-9,67000 [*]	,14019	,000	-10,2167	-9,1233
	fraksi n-heksana 12,5%	-8,22000 [*]	,14019	,000	-8,7667	-7,6733
		-	,14019	,000	-19,1034	-18,0100
DMSO 5%	fraksi etil asetat 50%	18,55667 [*]				
	fraksi etil asetat 25%	-	,14019	,000	-17,1034	-16,0100
		16,55667 [*]				
	fraksi etil asetat 12,5%	-	,14019	,000	-15,9900	-14,8966
		15,44333 [*]				
	fraksi air 50%	-	,14019	,000	-14,1034	-13,0100
		13,55667 [*]				
	fraksi air 25%	-	,14019	,000	-10,6567	-9,5633
		10,11000 [*]				
	fraksi air 12,5%	-9,55667 [*]	,14019	,000	-10,1034	-9,0100
		-	,14019	,000	-29,7667	-28,6733
	siprofloksasin	29,22000 [*]				

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

Homogeneous Subsets

dayabambat

	perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
	DMSO 5%	3	,0000														
	fraksi n-heksana 12,5%	3		8,2200													
	fraksi air 12,5%	3			9,5567												
	fraksi n-heksana 25%	3			9,6700	9,6700											
	fraksi air 25%	3				10,1100	10,1100										
	ekstrak 12,5%	3					10,4433										
	ekstrak 25%	3						11,2200									
Tukey	fraksi n-heksana 50%	3							12,2200								
HSD ^a	fraksi air 50%	3								13,5567							
	ekstrak 50%	3									14,3300						
	fraksi etil asetat 12,5%	3										15,4433					
	fraksi etil asetat 25%	3											16,5567				
	fraksi etil asetat 50%	3												18,5567			
	siprofloksasin	3															29,2200
	Sig.		1,000	1,000	1,000	,151	,518	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 22. Formulasi dan pembuatan media

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

Brain infusion	12,5 g
Heart infusion	5,0 g
Proteose peptone	10,0 g
Glucose	2,0 g
Sodium chloride	5,0 g
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 g

Reagen-reagen tersebut dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dilarutkan, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung reaksi.

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

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

Reagen-reagen tersebut 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.

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

Meat infusion	2,0 g
Bacto asam kasamino	17,5 g
Kanji	1,5 g
Agar	17,0 g

Reagen-reagen tersebut dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.