

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT
TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat Sarjana S-1



Diajukan oleh:

**Ria Eka Sari
21154425A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT
TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

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

Oleh:

**Ria Eka Sari
21154425A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul :

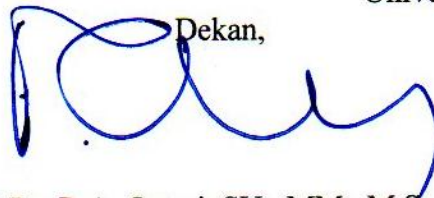
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT
TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Oleh :

**Ria Eka Sari
21154425A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal 22 Desember 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi


Dekan,

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

Pembimbing Utama




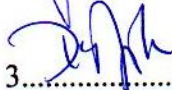


Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping



Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Ttitik Sunarni, M.Si., Apt  1.....
2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt  2.....
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si  3.....
4. Ana Indrayati, M.Si., Dr.  4.....

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim.....

Alhamdulillah ku panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kesempatan untuk menyelesaikan tugas akhir dengan segala kekuranganku. Segala syukur ku ucapkan kepadaMu karena telah menghadirkan mereka yang selalu memberi semangat dan doa disaat ku tertatih. KarenaMu lah mereka ada, dan karenaMu lah tugas akhir ini terselesaikan.

Hanya padaMu tempat ku mengadu dan mengucapkan syukur. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rasullah Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasihi dan kusayangi :

♥ *Bapak dan Mamak Tercinta dan Tersayang*

Apa yang ananda peroleh hari ini belum mampu membayar setetes keringat dan air mata Bapak dan Mamak yang selalu mejadi pelita dan semangat dalam hidup ananda. Terima kasih atas semua dukungan Bapak dan Mamak, baik moral maupun materal... tanpa kehadiran Bapak dan Mamak disamping ananda tak mungkin menjadi seperti sekarang. Karya ini ku persembahkan untuk Bapak dan Mamak tercinta. Ananda takkan pernah lupa semua pengerbonan dan jerih payah yang Bapak dan Mamak berikan untukku agar dapat menggapai cita-cita dan semangat serta do'a yang kau lantunkan untukku di setiap sujudmu sehingga ananda dapat meraih kesuksesan ini. Smoega cita-cita ananda kelak dapat membahagiakan Bapak dan Mamak... aamiin ya Allah ya Rabb

♥ *Keluarga Tercinta dan Tersayang*

Untuk adikku Dedi dan Rahman, tiada waktu yang paling berharga selain berkumpul dengan kalian, disaat berjauhan kita saling merindukan dan terkadang disaat bersama kita sering bertengkar, tak lupa juga untuk acil Neneng & om Haspandi sekeluarga terimakasih untuk semangat dan bantuan dari kalian semua, sehingga aku berada pada titik ini. Semoga ini menjadi awal dari kesuksesan ku yang akan membahagiakan dan membanggakan kalian semua kaluarga ku tersayang dan tercinta aku bahagia punya kalian.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”** adalah hasil pekerjaan dan tulisan 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 orang lain kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan telah disebutkan di dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 6 Januari 2019



Penulis

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirrabbi'l'alamiin, segala puji syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penelitian skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dai banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Ana Indrayati, M.Si., Dr. selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
5. Selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan kritik untuk perbaikan skripsi ini.
6. Dosen dan karyawan serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis.
7. Bapak/Ibu di perpustakaan dan Bapak/Ibu di Laboratorium Fitokimia, Mikrobiologi dan Teknologi Farmasi yang telah banyak memberi bimbingan dan membantu selama penelitian.

8. Bapak dan Mamak yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, dan doa yang tiada henti serta dukungan baik moral maupun material. Kasih sayang yang kalian berikan sungguh tak ternilai.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu tersusunnya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak keterbatasan dan kekurangan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberi sumbangan pengetahuan khususnya di Program Studi Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta dan pembaca pada umumnya.

Surakarta, 6 Januari 2019



Penulis

INTISARI

SARI, R, E., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan tumbuhan gulma serbaguna, yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk mendapatkan diameter zona hambat dari ekstrak dan fraksi. Diameter zona hambat dilakukan analisis data menggunakan ANOVA. Metode dilusi dilakukan seri pengenceran fraksi teraktif dan ekstrak etanol pada tabung reaksi untuk mendapatkan nilai KHM, setelah itu dilakukan inokulasi untuk mendapatkan nilai KBM.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air memiliki aktivitas antibakteri. Konsentrasi 10% dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air memberikan aktivitas daya hambat masing-masing sebesar 17 mm, 18,5 mm, 17,76 mm, 16,26 mm. Fraksi *n*-heksana 10% merupakan fraksi teraktif. Nilai KBM dari fraksi ekstrak etanol dan *n*-heksana sebesar 10%.

Kata kunci : rumput teki, *Pseudomonas aeruginosa*, difusi, dilusi

ABSTRACT

SARI, R, E., 2018, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT, *n*-HEXANEE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTION OF TEKI GRASS (*Cyperus rotundus* L.) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The teki grass (*Cyperus rotundus* L.) is a versatile weed plant, which is widely used in traditional medicine. Puzzles (*Cyperus rotundus* L.) contain flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins which have antibacterial activity. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate, and water fraction of puzzles on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol, then fractionated using n-hexane, ethyl acetate and water solvents. Antibacterial activity testing uses diffusion and dilution methods. Diffusion method to obtain the inhibition zone diameter from extracts and fractions. The diameter of the inhibition zone was analyzed using ANOVA data. The dilution method was carried out in the series of the most active fraction dilution and ethanol extract in the test tube to obtain the MIC value, after which inoculation was carried out to obtain the KBM value.

The results showed that ethanol extract, n-hexane, ethyl acetate, and water fractions had antibacterial activity. The 10% concentration of ethanol extract, n-hexane, ethyl acetate, and water fractions gave inhibitory activity of 17 mm, 18.5 mm, 17.76 mm, 16.26 mm respectively. The 10% n-hexane fraction is the most active fraction. The KBM value of the ethanol and n-hexane extraction fraction is 10%.

Keywords: Teki grass, *Pseudomonas aeruginosa*, diffusion, dilution

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang	1
B. Rumusan masalah.....	3
C. Tujuan masalah.....	4
D. Manfaat penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Rumput Teki	5
1. Klasifikasi.....	5
2. Morfologi tanaman	6
3. Khasiat tanaman	6
4. Kandungan tanaman	7
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia.....	9
2. Tahap pembuatan simplisia	10
C. Metode Penyarian	11
1. Maserasi.....	11
2. Perkolasi	12

3.	Soxhlet.....	12
4.	Refluks.....	12
5.	Digesti.....	12
6.	Infusa	13
7.	Dekok	13
D.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
1.	Sistematika <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.	Morfologi.....	13
3.	Identifikasi.....	13
4.	Toksin	14
5.	Patogenesis	14
E.	Antibakteri	15
1.	Mekanisme kerja antibakteri	15
F.	Uji aktivitas antibakteri	16
1.	Metode difusi.....	16
2.	Metode dilusi	17
G.	Siprofloksasin	17
H.	Media	18
1.	Pengertian media	18
2.	Macam-macam bentuk media.....	18
3.	Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri	18
I.	Sterilisasi	20
J.	Landasan Teori	20
K.	Hipotesis	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		23
A.	Populasi dan Sampel.....	23
B.	Variabel Penelitian	23
1.	Identifikasi variabel utama	23
2.	Klasifikasi variabel utama	23
3.	Definisi operasional variabel utama	24
C.	Alat dan Bahan	25

1. Alat	25
2. Bahan	25
D. Jalannya Penelitian	26
1. Determinasi tanaman	26
2. Penyiapan serbuk rumput teki	26
3. Penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki	26
4. Penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki	26
5. Penetapan kadar air serbuk rumput teki	26
6. Pembuatan ekstrak rumput teki	27
7. Uji bebas etanol	27
8. Fraksinasi dari ekstrak rumput teki	27
9. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi rumput teki.....	28
10. Sterilisasi	29
11. Pembuatan suspensi bakteri uji	29
12. Identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853...	29
13. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode difusi dan dilusi	30
E. Analisis data	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
1. Determinasi tanaman rumput teki	37
2. Pembuatan serbuk rumput teki	37
3. Penetapan susut pengeringan dan kadar air serbuk dan ekstrak rumput teki.....	37
4. Penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki	39
5. Pembuatan ekstrak etanol rumput teki	39
6. Uji bebas etanol ekstrak rumput teki	40
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rumput teki	40
8. Fraksinasi.....	41
9. Identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853...	42

10. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode difusi dan dilusi	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumput teki (<i>Cyperus rotundus</i>).....	5
Gambar 2. Bagan kerja pembuatan ekstrak dan fraksi rumput teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.).....	33
Gambar 3. Pembuatan suspensi antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	34
Gambar 4. Skema uji antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara difusi.....	35
Gambar 5. Skema uji antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara dilusi.....	36
Gambar 6. Struktur dinding sel <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (Jawetz <i>et al.</i> dalam Bonang 1982).	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Uji biokimia identifikasi SIM, KIA LIA, dan Citrat	30
Tabel 2. Presentase bobot kering terhadap bobot basah rumput teki.....	37
Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki.....	38
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak rumput teki.....	38
Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk rumput teki.....	38
Tabel 6. Hasil penetapan kadar air ekstrak rumput teki.....	39
Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki	39
Tabel 8. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% rumput teki	39
Tabel 9. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% rumput teki	40
Tabel 10. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan.....	40
Tabel 11. Hasil fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air rumput teki	41
Tabel 12. Identifikasi uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	43
Tabel 13. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 metode difusi	45
Tabel 14. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 metode dilusi pada KBM.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman rumput teki	58
Lampiran 2. Bahan penelitian	59
Lampiran 3. Alat penelitian.....	60
Lampiran 4. Hasil ekstrak dan fraksi	62
Lampiran 5. Hasil penetapan susut pengeringan dan kadar air serbuk dan ekstrak rumput teki	63
Lampiran 6. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki.....	64
Lampiran 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rumput teki.....	65
Lampiran 8. Hasil pembuatan suspensi bakteri.....	66
Lampiran 9. Hasil identifikasi bakteri dengan cawan gores	66
Lampiran 10. Hasil identifikasi pewarnaan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	67
Lampiran 11. Hasil identifikasi uji biokimia	67
Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rumput teki terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 dengan metode difusi.....	69
Lampiran 13. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 rumput teki dengan metode dilusi.....	70
Lampiran 14. Hasil perhitungan bobot basah dan bobot kering rumput teki.....	72
Lampiran 15. Hasil perhitungan randemen ekstrak etanol.....	72
Lampiran 16. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak	72
Lampiran 17. Hasil perhitungan penetapan kadar air	72
Lampiran 18. Hasil perhitungan penetapan bobot jenis ekstrak	73
Lampiran 19. Hasil perhitungan randemen fraksi.....	73
Lampiran 20. Perhitungan dosis antibiotik siprofloksasin.....	73
Lampiran 21. Pembuatan larutan stok difusi.....	74
Lampiran 22. Pembuatan larutan stok dilusi.....	74

Lampiran 23. Komposisi media	75
Lampiran 24. Hasil analisis data uji ANOVA antara ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, kontrol (+), dan kontrol (-).....	78

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*) terutama pada negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial (Vahdani *et al.* 2012). Angka insiden insiden infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* terjadi sekitar 10-15% di dunia dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien septikemia, sistik fibrosis, luka bakar, dan infeksi luka (Biswal *et al.* 2014).

Pseudomonas aeruginosa merupakan mikroorganisme yang paling sering menyebabkan infeksi primer pada kulit (Garrity *et al.* 2004). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis bakteri Gram negatif yang dapat tinggal pada tubuh manusia bersifat patogen yang bisa menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan tubuh dalam keadaan tidak normal misalnya saat membran mukosa dan kulit “robek” karena kerusakan jaringan langsung. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ini juga dapat menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar dengan nanah hijau kebiruan yang disebabkan pigmen piosianin, meningitis bila masuk lewat punksi lumbal (Mayasari 2006).

Antibiotik merupakan pilihan terbaik untuk menanggulangi suatu infeksi. Antibiotik merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme. Antibiotik yang awalnya sensitif terhadap mikroorganisme bisa menjadi tidak sensitif disebut dengan resistensi antibiotik, dimana resistensi antibiotik ini disebabkan oleh beberapa faktor, seperti intensitas paparan pada suatu wilayah serta penggunaan antibiotik yang tidak terkendali (Refdanita *et al.*

2004). Dengan adanya resistensi antibiotik maka kebutuhan untuk mencari alternatif

antibiotik lain meningkat, termasuk antibiotik yang berasal dari tumbuhan. Menurut Sulistiyaningsih (2010), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diketahui telah resisten terhadap beberapa antibiotik atau dikenal dengan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten. Oleh karena itu, diperlukan produk baru yang cukup aman dan memiliki potensi tinggi sebagai obat antibakteri.

Jenis tanaman tradisional yang bisa dikembangkan pemanfaatannya sebagai obat adalah rumput teki (*Cyperus rotundus* L.). Rumput teki merupakan tumbuhan serbaguna, banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di seluruh dunia untuk mengobati kejang perut, luka, bisul dan lecet. Sejumlah aktivitas farmakologi dan biologi termasuk anti-Candida, antiinflamasi, antidiabetes, antidiare, sitoprotektif, antimutagenik, antibakteri, antioksidan, sitotoksik dan apoptosis, aktivitas analgesik dan antipiretik telah dilaporkan untuk tumbuhan ini (Lawal dan Adebola 2009). Studi fitokimia sebelumnya, umbi rumput teki mengandung adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan minyak atsiri (Lawal dan Adebola 2009).

Hasil penelitian Ahmed *et. al* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) (*whole plants*) memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak etanol rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi dalam konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, dan 12,5 mg/ml dengan daya hambat 20 mm, 19 mm, 18 mm, dan 16 mm.

Penelitian lain membuktikan bahwa ekstrak metanol, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etil asetat akar rumput teki memiliki aktivitas antibakteri yang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan yang diulang sebanyak 6 kali sehingga diperoleh 24 satuan percobaan. Adapun 4 perlakuan yang digunakan P0 = kontrol (menggunakan penisilin), P1 = ekstrak metanol akar rumput teki 10%, P2 = ekstrak n-heksan akar rumput teki 10%, dan P3 = ekstrak etil asetat akar rumput teki 10%. Rata-rata diameter zona hambat pada kontrol (P0) = 25,67 mm (sangat kuat), ekstrak metanol (P1) = 36,67 mm (sangat kuat), ekstrak n-heksan (P2) = 34,33 mm (sangat kuat), dan ekstrak

etil asetat (P3) = 10,83 mm (kuat). Dari penelitian tersebut, jenis pelarut dari ekstrak rumput teki yang memberikan aktivitas penghambatan paling baik terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu ekstrak metanol (pelarut polar) dan ekstrak n-heksana (pelarut non polar) (Rohimah 2016).

Metode uji antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa zona yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jatwetz dkk 2007). Metode dilusi dapat digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi 2008).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian, dimana peneliti ingin mengetahui aktivitas antibakteri dari rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) dengan fraksi n-heksan, etil asetat dan air. Sehingga dapat diketahui fraksi mana yang paling teraktif yang memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

B. Rumusan masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah pertama, apakah ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

Kedua, dari ketiga fraksi dari ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) tersebut, manakah yang teraktif dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

Ketiga, berapakah KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari fraksi yang paling teraktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

C. Tujuan masalah

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, untuk mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari fraksi yang paling teraktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan manfaat kepada seluruh masyarakat dalam pengobatan alternatif untuk mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini diharapkan dapat berguna bagi peneliti lain untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap rumput teki.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Rumput Teki

Tanaman rumput teki tumbuh di dataran rendah sampai dengan ketinggian 1000 m di atas permukaan laut, rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) banyak tumbuh liar di Afrika Selatan, Korea, Jepang, Taiwan, Malaysia, Indonesia dan kawasan Asia Tenggara (Sudarsono dkk 1996). Umumnya rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) banyak terdapat ditempat terbuka seperti tanah lapang, kebun, atau pematang sawah (Hall *et al* 2012).

1. Klasifikasi



Gambar 1. Rumput teki (*Cyperus rotundus*)

Klasifikasi rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) menurut Steenis (1997) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledoneae
Ordo : Cyperales
Family : Cyperaceae
Genus : *Cyperus*

Spesies : *Cyperus rotundus* L.

2. Morfologi tanaman

Umbi rumput teki (keluarga Cyperaceae) dikenal sebagai *purple nutsdge* atau *nutgrass* yang merupakan gulma tahunan yang ramping, bersisik merayap, bulat di dasar dan timbul tunggal dari umbi-umbian yang sekitar 1-3 cm. Umbi berwarna kehitaman dan di dalamnya berwarna putih kemerahan dengan bau yang khas. Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan tanaman asli India, namun sekarang banyak ditemukan di daerah tropis, subtropis, dan sedang (Lawal and Adebola 2009).

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan rumput semu menahun tapi bukan termasuk keluarga rumput-rumputan. Batang rumputnya berbentuk segitiga (*tringularis*) dan dengan ketinggian 10-75 cm. Arah tumbuh batangnya tegak lurus. Daunnya berbentuk pita, berwarna mengkilat dan berjumlah 4-10 yang berkumpul pada pangkal batang membentuk roset akar dengan pelepah daun yang tertutup di bawah tanah. Ujung daun meruncing, lebar helaian daun 2-6 cm (Wijayakusuma 2000).

Bunga rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) berwarna hijau kecoklatan, yang terletak pada ujung tangkai dengan tiga tunas kepala benang sari berwarna kuning jernih, membentuk bunga-bunga berbulir mengelompok menjadi satu berupa payung. Tangkai putik bercabang tiga. Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki buah berbentuk kerucut besar pada pangkalnya, kadang-kadang melekok berwarna coklat, dengan panjang 1,5-4,5 cm dengan diameter 5-10 mm. Pada rimpangnya yang sudah tua terdapat banyak tunas yang menjadi umbi dengan warna coklat dan hitam, rasanya sepat kepahit – pahitan dan baunya wangi (Asiamaya 2007).

3. Khasiat tanaman

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan tanaman herbal menahun yang tumbuh liar, bagian tanamannya terutama umbinya dapat digunakan sebagai analgetik (Sudarsono dkk 1996). Rumput teki merupakan tumbuhan serbaguna, banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di seluruh dunia untuk mengobati kejang perut, luka, bisul dan lecet. Sejumlah aktivitas farmakologi dan biologi

termasuk anti-Candida, antiinflamasi, antidiabetes, sitoprotektif, antimutagenik, antibakteri, antioksidan, sitotoksik dan apoptosis, aktivitas analgesik dan antipiretik telah dilaporkan untuk tumbuhan ini (Lawal dan Adebola 2009). Manfaat rumput teki yang lain yaitu obat untuk mempercepat pematangan bisul, obat cacing, pelembut kulit, peluruh dahak, peluruh haid. Rimpang rumput teki telah banyak dimanfaatkan masyarakat yang ada di berbagai daerah secara tradisional yang digunakan sebagai obat, bentuk rebusan digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit mulut dengan cara dijadikan obat kumur, panas, disentri, obat cacingan. Selain itu, rumput teki dapat digunakan sebagai air pencuci anti keringat, serta akar yang sudah menjadi bubuk dapat digunakan untuk mengobati sakit gigi dan obat borok, dan juga dapat digunakan untuk menghilangkan rasa sakit (analgesik), abortus (keguguran) (Wijayakusuma 2000).

Masyarakat Indian menggunakan umbi segar sebagai perangsang ASI, sementara di Vietnam dipakai untuk menghentikan perdarahan rahim. Umbi yang diramu bersama daun *Centella asiatica* (pegagan) dan umbi *Imperata cylindrica* (alang-alang) digunakan sebagai *diuretikum* (untuk melancarkan buang air kecil). Tepung umbi sering digunakan oleh masyarakat Tripoli sebagai bedak dingin dengan aroma yang khas menyegarkan (sedikit berbau mentol dan karena baunya yang khas, juga sering digunakan sebagai pencuci mulut), ternyata bau tersebut juga berefek sebagai pengusir serangga dan nyamuk, hingga sering dipakai sebagai bedak anti nyamuk. Umbi yang telah direbus mempunyai rasa manis, sering dipipihkan untuk dibuat emping (Sudarsono dkk 1996).

4. Kandungan tanaman

Studi fitokimia sebelumnya pada umbi rumput teki mengandung adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan minyak atsiri (Lawal an Adebola 2009).

4.1. Flavonoid. Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Lenny 2006).

Flavonoid bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan. Beberapa flavonoid menghambat fosfodiesterase, flavonoid lain menghambat aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, balik transkriptase, DNA polimerase dan lipooksigenase. Penghambatan lipooksigenase dapat menimbulkan pengaruh yang lebih luas karena merupakan langkah pertama pada jalur yang menuju hormon eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida. Flavonoid tertentu dalam makanan dapat menurunkan agregasi platelet dan sehingga mengurangi pembekuan darah, tetapi jika dipakai pada kulit, flavonoid lain menghambat perdarahan (Robinson 1995).

Flavonoid berfungsi sebagai antiradang dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang berfungsi pada pengobatan gejala peradangan dan alergi. Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya radang dapat melalui dua cara yaitu, menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel endothelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses radang. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dari sel inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur sikloogsigenase dan jalur lipooksigenase, asam hidroksieikosatetraionoat, juga leukotrien disisi lain (Robinson 1995).

4.2. Alkaloid. Senyawa alkaloid mengandung nitrogen dan merupakan turunan dari isoprenoid. Anggota terpenting dalam golongan ini adalah alkaloid nakonitum dan alkaloid steroid. Beberapa alkaloid diterpenoid kompleks yang strukturnya serupa dengan akonitina dan veatkina terdapat dalam berbagai spesies *Acontium*, *Delphinium*, dan *Garrya*. Steroid dan alkaloid steroid yang dimodifikasi biasanya terdapat sebagai Glikosida C-3 atau ester. Struktur seperti ini jelas sangat menyerupai struktur saponin. Seperti senyawa isoprenoid yang tidak mengandung nitrogen, di antara alkaloid ini ada senyawa penolak serangga dan senyawa antifungus (Robinson 1995).

4.3. Seskuiterpen. Seskuiterpenoid merupakan senyawa terpenoid yang dihasilkan oleh tiga unit isopren yang terdiri dari kerangka asiklik dan bisiklik dengan kerangka dasar naftalen. Anggota seskuiterpenoid yang penting adalah

farnesol, alkohol yang tersebar luas. Senyawa ini mempunyai bioaktivitas yang cukup besar diantaranya adalah sebagai antifeedant, antimikroba, antibiotik, toksin, serta regulator pertumbuhan tanaman dan pemanis (Robinson 1995).

4.4. Tanin. Senyawa tanin bersifat fenol dan mempunyai rasa sepat. Beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, menghambat enzim seperti “reverse” transkriptase dan DNA topoisomerase. Tanin yang lainnya dapat meracuni hati (Robinson 1995).

4.5. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air serta pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Banyak efek yang dilaporkan, yang ditunjang dengan bukti berupa penghambatan jalur ke steroid adrenal, tetapi senyawa ini juga menghambat dehidrogenase pada jalur prostaglandin (Robinson 1995).

4.6. Minyak atsiri. Minyak atsiri mengandung sitral dan eugenol yang berfungsi sebagai anestetik dan antiseptik (Dalimartha, 2009). Antiseptik adalah obat yang meniadakan atau mencegah keadaan sepsis, zat ini dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Ganiswara 1995).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan suatu bahan alamiah yang digunakan sebagai bahan pembuatan obat, yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 golongan yaitu, simplisia nabati yang merupakan simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani merupakan simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berkhasiat yang dihasilkan dari suatu hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau

mineral yang belum mengalami pengolahan atau telah diolah dengan cara yang sederhana dan berupa zat kimia murni (Depkes 1985)

2. Tahap pembuatan simplisia

Secara umum pembuatan simplisia melalui beberapa tahapan yaitu, pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, serta pengepakan dan penyimpanan.

2.1. Pengumpulan bahan baku. Simplisia memiliki kadar senyawa aktif berbeda-beda yang tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman saat dipanen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

2.2. Sortasi basah. Sortasi basah dilakukan untuk menghilangkan kotoran atau bahan asing lainnya yang terdapat pada bahan simplisia. Misalnya simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan asingnya berupa tanah, serta pengotor lainnya yang harus dibuang. Tanah mengandung berbagai macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut pada saat pengumpulan bahan baku dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

2.3. Pencucian. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah yang menempel pada simplisia. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih dengan air mengalir. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air yang mengalir, agar pencucian dilakukan dalam waktu yang singkat. Cara sortasi dan pencucian dilakukan untuk mengurangi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

2.4. Perajangan. Perajangan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil, jangan langsung dirajang, tetapi dijemur terlebih dahulu dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, alat mesin khusus perajangan, sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan simplisia, maka semakin cepat terjadinya penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Irisan yang terlalu tipis dapat menyebabkan berkurang atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan.

2.5. Pengerinan. Pengerinan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pengerinan simplisia juga dilakukan bisa menggunakan alat pengerinan atau dengan matahari langsung. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengerinan yaitu suhu pengerinan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengerinan, dan luas permukaan suatu bahan.

2.6. Sortasi kering. Tujuan dilakukannya sortasi kering adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lainnya, yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus dan kemudian disimpan.

2.7. Pengepakan dan penyimpanan. Simplisia dapat rusak atau berubah mutunya yang disebabkan dari faktor luar dan dalam, yang berupa cahaya, oksigen, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Kerusakan yang disebabkan oleh faktor tersebut dapat mempengaruhi mutu simplisia, sehingga suatu simplisia tidak dapat memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Perlu diperhatikan beberapa hal yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada simplisia, yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab utama kerusakan pada simplisia adalah air dan kelembaban.

C. Metode Penyarian

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang dilakukan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Kelemahan maserasi yaitu prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi menghilangkan suatu metabolit. Beberapa senyawa ada yang tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C),

sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Depkes RI 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup sesuai dilakukan, baik untuk dilakukan proses ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Depkes RI 2006).

3. Soxhlet

Metode ekstraksi soxhlet menggunakan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel karena perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan tersebut menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Apabila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang akan menghasilkan ekstrak yang baik (Depkes RI 2006).

4. Refluks

Ekstraksi refluks dengan cara ini pada dasarnya adalah berkesinambungan. Bahan yang diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Lalu cairan penyari akan menguap dan uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak serta akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi dengan cara refluks ini dilakukan sebanyak 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Depkes RI 2006).

5. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yang secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Depkes RI 2006).

6. Infusa

Infusa merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut air yang dilakukan pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu yang terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI 2006).

7. Dekok

Dekok adalah cara maserasi dengan infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C dilakukan selama 30 menit (Depkes RI 2006).

D. *Pseudomonas aeruginosa*

1. Sistematika *Pseudomonas aeruginosa*

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gamma Proteobacteria
 Ordo : Pseudomonadales
 Family : Pseudomonadaceae
 Genus : Pseudomonas
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Brook *et al.* 2001).

2. Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif yang memiliki bentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang membentuk rantai pendek, tidak memiliki spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari 2006).

3. Identifikasi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur, kadang-kadang menghasilkan aroma yang manis atau berbau, seperti anggur. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni yang bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Bakteri ini sering menghasilkan pigmen kebiruan tak berfluoresensi, piosianin yang berdifusi

ke dalam agar. Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan pigmen berfluoresensi, pioverdin yang memberikan warna kehijauan pada agar. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap, piorubin, atau pigmen hitam, piomelanin.

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C, bersifat oksidase-positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat, tetapi banyak galur yang mengoksidasi glukosa. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya didasarkan pada morfologi koloni, positif oksidase, adanya pigmen khas, dan pertumbuhan pada suhu 42°C (Jawetz *et al.* 2012).

4. Toksin

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi luka dan luka bakar membentuk nanah yang berwarna biru-hijau, radang selaput otak. Infeksi jaringan kornea dapat menyebabkan kebutaan. Infeksi lokal bakteri ini dapat menyebar melalui darah, sehingga dapat menyebabkan septisema dan lesi lokal pada jaringan lain. Pada septisema angka kematian dapat mencapai 80% (Jawetz *et al.* 2007).

Pseudomonas aeruginosa dapat mensintesis toksin dan enzim yang mematikan bagi manusia. Lipid A (eksotoksin) berada di dinding sel dari bakteri merupakan zat penyebab demam, vasodilatasi, inflamasi dan gejala lain. Eksotoksin A dan eksotoksin S dapat menghambat sintesis protein sel eukariotik yang menyebabkan kematian. *Pseudomonas aeruginosa* juga memiliki enzim elastase yang dapat mempunyai efek histotoksik dan mempermudah invasi organisme ke dalam pembuluh darah (Bauman 2007).

5. Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa memproduksi sitotoksin dan protease misalnya eksotoksin A dan S, hemolisin, dan elastase. Isolat dari pasien fibrosis kistik menghasilkan alginat polisakarida, memungkinkan terbentuknya mikrokoloni dimana organisme terlindungi dari opsonisasi, fagositosis, dan antibiotik. Alginat, pili, dan protein membran luar memperantai penempelan. Produksi alginat berhubungan dengan kerentanan yang berlebihan terhadap antibiotik, defisiensi,

LPS, non-motilitas, dan perubahan produksi eksotoksin (Bamford & Gillespie 2007).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah pembasmi mikroba atau bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif (daya kerjanya), ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Konsentrasi minimal yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setyabudy dan Gan, 1995).

1. Mekanisme kerja antibakteri

Menurut Pelczar dan Chan (1988) dan Tortora *et al.* (2001) mekanisme kerja antimikroba dapat dibedakan menjadi beberapa macam, yaitu :

1.1. Menghambat sintesis dinding sel. Antimikroba memiliki aktivitas dalam menghambat sintesis dinding sel, yang hanya aktif pada sel yang sedang aktif membelah. Mekanisme ini berdasarkan pada perbedaan struktur dinding sel prokariotik yang terdiri atas peptidoglikan yang hanya ditemukan pada dinding sel bakteri, sementara pada eukariotik tidak terdapat peptidoglikan seperti manusia, fungi dan sebagainya.

1.2. Merubah molekul protein dan asam nukleat. Mekanisme ini berdasarkan pada kondisi dimana suatu sel dapat hidup tergantung pada kondisi molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu terdenaturasikannya protein dan asam-asam nukleat yang dapat merusak sel hingga tidak dapat diperbaiki kembali. Suhu yang tinggi dan dengan konsentrasi pekat beberapa suatu zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi *irreversible* (tidak dapat kembali) komponen-komponen selular yang vital.

1.3. Merusak membran plasma. Mekanisme ini berdasarkan pada kemampuan beberapa antibiotik yang berfungsi untuk merubah permeabilitas membran plasma. Perubahan ini yang akan mengakibatkan hilangnya metabolit penting dari dalam sel mikroba.

1.4. Menghambat sintesis asam nukleat. Mekanisme ini berdasarkan pada penghambatan proses transkripsi dan replikasi DNA. Rusaknya asam nukleat (DNA atau RNA) disebabkan karna pemanasan, radiasi atau bahan kimia yang mengakibatkan kematian pada suatu sel, karena sel tidak mampu mengadakan replikasi maupun sintesis enzim. Bahan kimia yang dapat merusak DNA seperti radiasi ultraviolet, radiasi pengion, *alkylating agent* (gugus alkil dari bahan kimia yang bereaksi secara kovalen dengan basa purin dan atau pirimidin). Radiasi ultraviolet akan menyebabkan *cross linking* diantara pirimidin dalam satu atau dua rantai polinukleotida, dan juga membentuk *pyrimidine dimmers*; sedangkan sinar pengion akan mengakibatkan pecahnya rantai nukleotida.

1.5. Menghambat sintesis metabolit esensial. Mekanisme ini didasarkan karena adanya penghambatan secara kompetitif dari aktivitas enzimatis, dari mikroorganisme oleh suatu senyawa yang memiliki struktur yang mirip substrat untuk suatu enzim.

F. Uji aktivitas antibakteri

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

1. Metode difusi

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

2. Metode dilusi

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

G. Siprofloksasin

Siprofloksasin merupakan salah satu antibiotik golongan kuinolon. Antibiotik golongan kuinolon memiliki target utama pada bakteri Gram negatif yaitu DNA girase. Kedua rantai DNA heliks harus dipisahkan agar dapat terjadi replikasi atau transkripsi DNA. Pemisahan kedua untai tersebut akan menyebabkan terjadinya *supercoiling* (pembentukan gulungan DNA) positif yang berlebihan pada DNA tersebut (Goodman dan Gilman 2007). Siprofloksasin mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat terhadap *E. Coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *H. Influenza*, *Providencia*, *Serratia*, *Salmonella*, *N. Pseudomonas*, *N. Gonorrhoeae*, *B. catarrhalis* dan *Yersinia enterocolitica* yang merupakan bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram positif, aktivitas daya antibakterinya kurang baik (Syarif, Amir dkk. 2007). Purba (2013) melaporkan bahwa siprofloksasin memiliki aktivitas yang paling optimal terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan Rukmono (2013) melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* masih sensitif terhadap siprofloksasin dengan nilai sensitifitasnya sebesar 71%.

H. Media

1. Pengertian media

Media merupakan suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan tumbuh di dalam atau di atas suatu media. Media yang digunakan harus steril dan pH harus sesuai dengan kebutuhan mikroba untuk tumbuh pada suatu media. Steril artinya sebelum mikroba akan ditanami atau ditumbuhkan dalam media tersebut, tidak mengandung mikroba lain yang tidak diharapkan. Media terdiri atas beberapa macam menurut bentuk, sifat, dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun dari media itu sendiri, prosentase campuran, dan tujuan penggunaan. Media dapat juga digunakan untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005).

2. Macam-macam bentuk media

Media memiliki tiga bentuk yaitu media padat, cair, dan semi padat. Media padat jika dalam suatu media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar per 1000 ml media. Tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan ke dalam media tersebut. Media padat umumnya digunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan mikroalga. Media cair (*liquid media*) digunakan sebagai pembiakan organisme dalam jumlah yang besar, fermentasi dan berbagai uji. Media ini tidak dapat ditambahkan zat pematat, media cair digunakan untuk perbaikan pada mikroalga terutama bakteri dan ragi. Media semi cair atau semi padat digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Media ini juga digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup secara aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1985).

3. Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri

3.1. Media sintetik. Media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri yang bersifat kemoheterotrof. Secara mikrobiologis pengujian pada kadar vitamin, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh suatu bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri, yang akan sebanding dengan

jumlah vitamin dalam bahan uji. Organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan disebut *fastidious*, misalnya *Lactobacillus* (Radji 2011).

3.2. Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi yang tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri seperti vitamin, mineral, dan bahan organik. *Nutrient broth* adalah media kompleks yang berbentuk cairan, sedangkan *nutrient agar* adalah media kompleks yang ditambahkan media agar (Radji 2011).

3.3. Media selektif dan diferensial. Media ini digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diharapkan, seperti *Bismuth Sulfite Agar* yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella typhi* pada tinja, media *Salmonella Shigella Agar* untuk mengisolasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Media diferensiasi digunakan untuk memudahkan membedakan koloni bakteri yang diharapkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama (Radji 2011).

3.4. Media pengayaan. Media ini dalam bentuk media cair yang digunakan untuk pengayaan biakan dan media yang hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diharapkan. Tahap pengayaan merupakan suatu upaya yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol untuk bertahan menumbuhkan bakteri (Radji 2011).

3.5. Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya dalam mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan O_2 dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dibandingkan konsentrasi CO_2 di udara (Radji 2011).

3.6. Media anaerob. Media ini digunakan untuk bakteri anaerob yang ditanam pada media spesial yang disebut dengan reducing media yang menggunakan natrium tioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan

terlebih dahulu secara perlahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap didalam media. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasi dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2011).

I. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu usaha untuk membebaskan alat atau bahan yang akan digunakan dari segala bentuk kontaminasi mikroba. Proses sterilisasi alat dan medium pada saat akan praktikum atau penanganan sampel mikroba sangat dibutuhkan. Apabila proses sterilisasi tidak diterapkan maka hasil yang diperoleh tidak akan maksimal dan akan menimbulkan berbagai kontaminasi baik itu dari alat maupun media tumbuh mikroba (Dwidjoseputro 1994).

Cara sterilisasi umumnya dilakukan dengan cara fisik, kimia, dan mekanik. Cara fisik adalah sterilisasi dengan menggunakan pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Cara kimia adalah sterilisasi dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Cara mekanik adalah sterilisasi dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau bahan dengan tekanan tinggi (Darmandi 2008).

J. Landasan Teori

Pseudomonas aeruginosa menginfeksi darah, kulit, telinga, mata, dan saluran kemih, pada luka bakar akan menyerang darahnya dan akan menghasilkan nanah. Penyakit serius yang ditimbulkan dari bakteri ini adalah *cytic fibrosis* pada saluran pernafasan. *Pseudomonas aeruginosa* sering menginfeksi luka bakar yang serius pada pasien (Mudihardi *et al.* 2005). Pengobatan infeksi yang disebabkan karena suatu bakteri dapat menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik saat ini banyak menimbulkan masalah yaitu berupa resistensi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus* yang memiliki resistensi tertinggi terhadap ampisilin, amoksilin, penisilin, tertrasiklin dan kloramfenikol. Resistensi suatu antibiotik

mendorong untuk melakukan penemuan terhadap anti infeksi baru dengan menggunakan tanaman (Refdanita *et al.* 2004).

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan tanaman serbaguna, yang banyak digunakan dalam berbagai pengobatan tradisional di seluruh dunia seperti mengobati penyakit kejang perut, luka, bisul dan lecet. Sejumlah aktivitas farmakologi dan biologi termasuk anti-*Candida*, antiinflamasi, antidiabetes, antidiare, sitoprotektif, antimutagenik, antimikroba, antibakteri, antioksidan, sitotoksik dan apoptosis, analgetik, dan antipiretik (Lawal 2009) serta pengurang rasa nyeri pada mencit (Puspitasari 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Ahmed *et. al* (2015) ekstrak etanol rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) (whole plants) memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak etanol rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi dalam konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, dan 12,5 mg/ml dengan daya hambat 20 mm, 19 mm, 18 mm, dan 16 mm.

Penelitian lain membuktikan bahwa ekstrak metanol, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etil asetat akar rumput teki memiliki aktivitas antibakteri yang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan yang diulang sebanyak 6 kali sehingga diperoleh 24 satuan percobaan. Adapun 4 perlakuan yang digunakan P0 = kontrol (menggunakan penisilin), P1 = ekstrak metanol akar rumput teki 10%, P2 = ekstrak n-heksan akar rumput teki 10%, dan P3 = ekstrak etil asetat akar rumput teki 10%. Rata-rata diameter zona hambat pada kontrol (P0) = 25,67 mm (sangat kuat), ekstrak metanol (P1) = 36,67 mm (sangat kuat), ekstrak n-heksan (P2) = 34,33 mm (sangat kuat), dan ekstrak etil asetat (P3) = 10,83 mm (kuat). Dari penelitian tersebut, jenis pelarut dari ekstrak rumput teki yang memberikan aktivitas penghambatan paling baik terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu ekstrak metanol (pelarut polar) dan ekstrak n-heksan (pelarut non polar) (Rohimah 2016).

Pengambilan ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L) menggunakan metode maserasi yang merupakan penyarian cara sederhana dengan cara

merendam serbuk simplisia ke dalam cairan penyari. Metode maserasi merupakan metode yang murah dan mudah dilakukan. Etanol 96% digunakan sebagai cairan penyari. Etanol merupakan pelarut universal yang digunakan untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne 1987). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tannin, dan saponin hanya sedikit yang larut (Depkes 1986). Ekstrak etanol yang diperoleh, kemudian dilakukan fraksinasi.

Fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. Senyawa yang dapat larut oleh *n*-heksan adalah senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar seperti lemak, steroid, triterpenoid, sterol, alkaloid, dan fenil propanoid (Depkes 1987). Etil asetat dapat melarutkan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol (Harborne 1987). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah senyawa flavonoid, saponin, dan tanin (Depkes 1986).

K. Hipotesis

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

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, dari ketiga fraksi dari ekstrak rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) yang mempunyai aktivitas teraktif dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah fraksi *n*-heksana.

Ketiga, fraksi teraktif dapat diperoleh nilai konsentrasi KHM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dan (Konsentrasi Bunuh Minimum).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput teki yang diperoleh dari kabupaten Magetan, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput teki pada seluruh bagiannya yang meliputi rimpang, umbi, batang, dan daun. Diperoleh dari tanaman yang masih segar berwarna hijau dan tidak layu atau kering serta terbebas dari hama dan penyakit pada saat musim hujan dan tidak terlalu panas. Pengambilan rumput teki dari kecamatan Sarangan kabupaten Magetan, Jawa Tengah pada Juli 2018.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari rumput teki.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol serta fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari rumput teki yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang bisa diubah-ubah untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel yang diteliti. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dengan berbagai variasi konsentrasi dari ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari rumput teki.

Variabel terkendali adalah variabel yang dapat mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya, hasil yang didapatkan tidak menyebar dan dapat dilakukan peneliti lain secara tepat. Variabel

tergantung dalam penelitian ini adalah variabel yang diukur untuk mengetahui besarnya efek atau pengaruh terhadap variabel lain.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, kondisi peneliti, pemilihan rumput, dan metode ekstraksi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari rumput teki.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rumput teki adalah rumput teki yang masih segar berwarna hijau dan tidak layu atau kering serta terbebas dari hama dan penyakit yang diambil dari lapangan hijau Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk rumput teki adalah diperoleh dari rumput teki yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir dimaksudkan agar kotoran yang menempel dapat hilang, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven suhu 50°C, selanjutnya dihaluskan dengan blender dan diayak dengan pengayak nomor 60.

Ketiga, ekstrak rumput teki adalah hasil ekstraksi serbuk rumput teki dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dipekatkan dengan evaporator.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah ekstrak rumput teki yang ditambah pelarut air kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah residu dari fraksi *n*-heksan rumput teki difraksinasi dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air dari rumput teki adalah residu dari hasil fraksinasi fraksi etil asetat.

Ketujuh, bakteri uji adalah bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Kedelapan, dalam penelitian ini metode difusi dan dilusi digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Metode difusi dilakukan dengan cara sumuran dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 5%, 2,5%, kontrol positif (+), dan kontrol negatif (-) kemudian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali

Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi steril dengan berbagai konsentrasi yaitu 100 mg/ml; 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 6,25 mg/ml; 3,125 mg/ml; 1,563 mg/ml; kontrol positif (+); kontrol negatif (-).

Kesembilan, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat menghambat bakteri melihat kekeruhan medium dalam tabung. Konsentrasi Bunuh Maksimum (KBM) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan melihat bakteri pada medium pada goresan dalam cawan petri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum ose steril, tabung reaksi steril, rak tabung reaksi, blender, oven, *moisture balance*, ayakan, piknomete, botol maserasi, cawan petri steril, autoklaf, timbangan analisa, inkas, kapas lidi steril, corong kaca, kertas saring, inkubator, *rotary evaporator*, *obyek glass*, *Boor Prof*, mikroskop, cawan porselin, *autovortex*, alat destilasi.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput teki, etanol 96%, NaCl Fisiologis, *n*-heksan, etil asetat, aquadestillata, Mc Farland 0,5, siprofloksasin, asam asetat, asam sulfat pekat, Mg, asam klorida, amil alkohol, larutan dragendrof, larutan mayer, FeCl₃, silika Gel GF₂₅₄, *n*-butanol, sitroborat, asam formiat, toluen, kloroform, metanol, anisaldehyd, larutan dapar fosfat, media (PSA, MHA, SIM, KIA, LIA, dan Citrat), tween 5%.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian ini adalah dengan melakukan identifikasi tanaman rumput teki bertujuan untuk memastikan ciri makroskopis dan mikroskopis sesuai dengan literatur. Identifikasi tanaman dilakukan dibagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Sebelas Maret.

2. Penyiapan serbuk rumput teki

Pembuatan serbuk rumput teki dilakukan dengan cara rumput teki dicuci bersih dengan air mengalir dimaksudkan agar kotoran yang menempel dapat hilang, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven suhu 50°C, selanjutnya dihaluskan dengan blender dan diayak dengan pengayak nomor 60.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki

Penetapan susut pengeringan dilakukan pada serbuk rumput teki dengan cara menimbang serbuk rumput teki sebanyak 2 gram, kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan alat *Moisture Balance* pada suhu 105°C sampai diperoleh bobot konstan. Kemudian hasil pengeringan serbuk dan ekstrak rumput teki ditimbang dan dihitung susut pengeringannya (Depkes 1995).

4. Penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki

Bobot jenis diukur menggunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air pada suhu 25°C. Bobot jenis ekstrak ditentukan terhadap hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25°C.

5. Penetapan kadar air serbuk rumput teki

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi toluena. Toluena yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, setelah itu dikocok dan didiamkan, kedua lapisan air dan toluena akan memisah kemudian air dibuang. Sebanyak 10 gram ekstrak ditimbang dengan seksama dimasukkan kedalam labu alas bulat dan ditambahkan toluena yang telah dijenuhkan dengan air. Labu dipanaskan dengan hati-hati, setelah toluena mulai mendidih, penyulingan diatur 2 tetes/detik, lalu 4 tetes/detik. Setelah semua toluena mendidih, dilanjutkan pemanasan selama 5 menit. Kemudian, dibiarkan hingga dingin sampai

temperatur kamar. Setelah lapisan air dan toluena memisah sempurna, volume air dibaca dan dihitung kadar air dalam persen terhadap berat ekstrak semula (Saifuddin, Rahayu, & Teruna 2011).

6. Pembuatan ekstrak rumput teki

Serbuk rumput teki dilakukan maserasi dengan perbandingan 1 bagian simplisia dimasukkan dalam 10 bagian cairan penyari (1:10). Serbuk rumput teki ditimbang sebanyak 500 gram ditambahkan etanol 96% sebanyak 5 liter. Kemudian maserasi dilakukan dengan cara didiamkan selama 5 hari sambil sesekali digojog dalam keadaan tertutup, dengan menggunakan wadah gelap dan terhindar dari cahaya. Hasil maserat kemudian dipekatkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 40°C, sampai didapatkan ekstrak yang pekat. Kemudian dilakukan penetapan persen randemen, diperoleh dengan cara menimbang hasil ekstrak pekat, kemudian hasil ekstrak dibagi dengan berat serbuk, kemudian dikalikan 100%.

7. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat dilakukan uji esterifikasi apakah sudah bebas etanol atau belum yaitu dengan cara ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak terbantu bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukan uji bebas etanol agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

8. Fraksinasi dari ekstrak rumput teki

Fraksinasi *n*-heksana, etil asetat dan air dilakukan pembuatan dengan cara diambil ekstrak yang sudah didapatkan dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana. Fraksinasi *n*-heksana ditambah pelarut air kemudian difraksinasi dengan 75 ml pelarut *n*-heksan dilakukan sebanyak tiga kali. Sari yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, hasil fraksinasi ini disebut fraksi *n*-heksana.

Residu fraksinasi *n*-heksana kemudian ditambah dengan 75 ml pelarut etil asetat. Fraksinasi etil asetat sebanyak tiga kali. Sari yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, hasil fraksinasi ini disebut fraksi etil asetat.

Residu hasil etil asetat kemudian dipekatkan dengan cara diuapkan di atas *water bath*, hasil fraksinasi ini disebut fraksi air.

9. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi rumput teki

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam rumput teki. Identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, tanin dan saponin dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1. Identifikasi flavonoid. Serbuk, ekstrak, dan fraksi dari rumput teki ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambah dengan serbuk Mg, 0,2 ml HCL pekat, dan beberapa tetes amil alkohol. Larutan dikocok dan dibiarkan memisah. Reaksi dikatakan positif jika dibandingkan dengan larutan standart yang jernih akan menunjukkan adanya warna merah/jingga/kuning pada amil alkohol (Yunita 2009).

7.2. Identifikasi alkaloid. Serbuk, ekstrak, dan fraksi dari rumput teki ditimbang sebanyak 2 gram kemudian ditambah dengan 5 ml larutan amoniak dan 5 ml kloroform, setelah itu dicampur dan dipanaskan, dikocok, dan disaring. Asam sulfat 2N ditambahkan pada filtrat kemudian dikocok. Kemudian bagian atas dari filtrat diuji dengan pereaksi reagent Mayer dan Dragendroff. Hasil positif ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan. Hasil positif ditandai dengan adanya keruhan atau endapan coklat (Yunita 2009).

7.3. Identifikasi tanin. Serbuk, ekstrak, dan fraksi dari rumput teki ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 10 ml air panas, kemudian disaring dan filtrat pada tabung reaksi ditambah besi (III) klorida 1%, reaksi positif jika menunjukkan dengan terbentuknya warna coklat dan biru kehitaman (Densita 2015).

7.4. Identifikasi saponin. Serbuk, ekstrak, dan fraksi dari rumput teki dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisikan aquadest 10 ml, kemudian dikocok dan ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N dan didiamkan. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik (Novitasari dan Putri 2016).

7.5. Identifikasi steroid/Triterpenoid. Serbuk, ekstrak, dan fraksi dari rumput teki sebanyak 5 mL filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Kemudian residu ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Buchardat yang berisi anhidrad asetat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil potisif menunjukkan steroid dengan terbentuknya warna biru sampai hijau. Terbentuk warna merah sampai ungu menunjukkan positif triterpenoid (Jones dan Kinghorn 2006; Evans 2009).

10. Sterilisasi

Seluruh alat yang digunakan pada penelitian dicuci bersih, kemudian disterilisasi di dalam *autoclave* selama 15 menit pada tekanan 121 °C dengan tekanan 1,5 atm. Pengujian sterilisasi ini bertujuan untuk menghindarkan alat-alat yang digunakan agar tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme lain yang tidak diinginkan.

11. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembiakan agar miring bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diambil sebanyak 1-2 Ose, kemudian diratakan pada media padat PSA secara zig-zag pada cawan petri besar dengan membentuk kuadran dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mendapatkan koloni tunggal. Setelah itu koloni tunggal diambil dan diratakan dengan membentuk baris-baris pada cawan petri kecil. Kemudian diambil satu baris bakteri menggunakan Ose lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan dapar fosfat dan dihomogenkan. Setelah itu dibandingkan kekeruhannya dengan MacFarland yang dianggap setara dengan $0,5 \times 10^8$ CFU/ml selanjutnya digunakan untuk identifikasi uji bakteri.

12. Identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

12.1. Identifikasi bakteri dengan cawan gores. Suspensi bakteri diinokulasi pada medium PSA (*Pseudomonas Selective Agar*), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan koloni berwarna hijau.

12.2. Identifikasi pewarnaan. Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Koloni bakteri diambil menggunakan Ose steril, digoreskan pada obyek glass setipis mungkin. Setelah itu obyek glass dipanaskan dengan nyala api spiritus (jarak \pm 20 cm) sampai preparat kering, yang berfungsi untuk mematikan

bakteri dan melekatkan sel bakteri pada obyek glass tanpa merusak struktur selnya. Preparat ditunggu selama 5 menit, kemudian dikeringkan, dan preparat siap untuk dicat. Preparat digenangi dengan cara Gram A selama 1-3 menit, cat dibuang tanpa dicuci dengan air. Setelah itu preparat digenangi menggunakan cat Gram B selama 0,5-1 menit, cat dibuang dan preparat dicuci dengan air, kemudian ditetesi menggunakan cat Gram C sampai warna cat luntur. Penggenangan lagi dilakukan menggunakan cat Gram D selama 1-2 menit, preparat dicuci, dan dikeringkan dalam udara kamar dengan posisi miring, kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran kuat ditambah dengan minyak imersi.

12.3. Uji biokimia. Identifikasi berdasarkan uji biokimia, medium yang digunakan yaitu SIM, KIA, LIA, dan Citrat. Media SIM (*Sulfida Indol Motility*) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol dan motilitas bakteri. Media KIA (*Kliger Iron Agar*) untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) dan sulfide. Media LIA (*Lysine Iron Agar*) untuk menguji diaminasi lisin dan media Citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Bakteri uji diinokulasi secara goresan dan tusukan pada media KIA dan LIA, goresan pada media citrat, tusukan pada media SIM, kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Tabel 1. Uji biokimia identifikasi SIM, KIA LIA, dan Citrat

Media	Bentuk	Keadaan	Warna	Cara inokulasi
SIM	Semi solid	Tegak	Kuning muda	Tusukan
KIA	Padat	Miring	Merah	Tusukan dan gores
LIA	Padat	Miring	Ungu	Tusukan dan gores
Citrat	Padat	Miring	Hijau	Goresan

13. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode difusi dan dilusi

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang sudah didapatkan diujikan secara mikrobiologis dengan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui pengukuran diameter daerah hambatan dari zat teraktif, sedangkan metode dilusi digunakan untuk penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal).

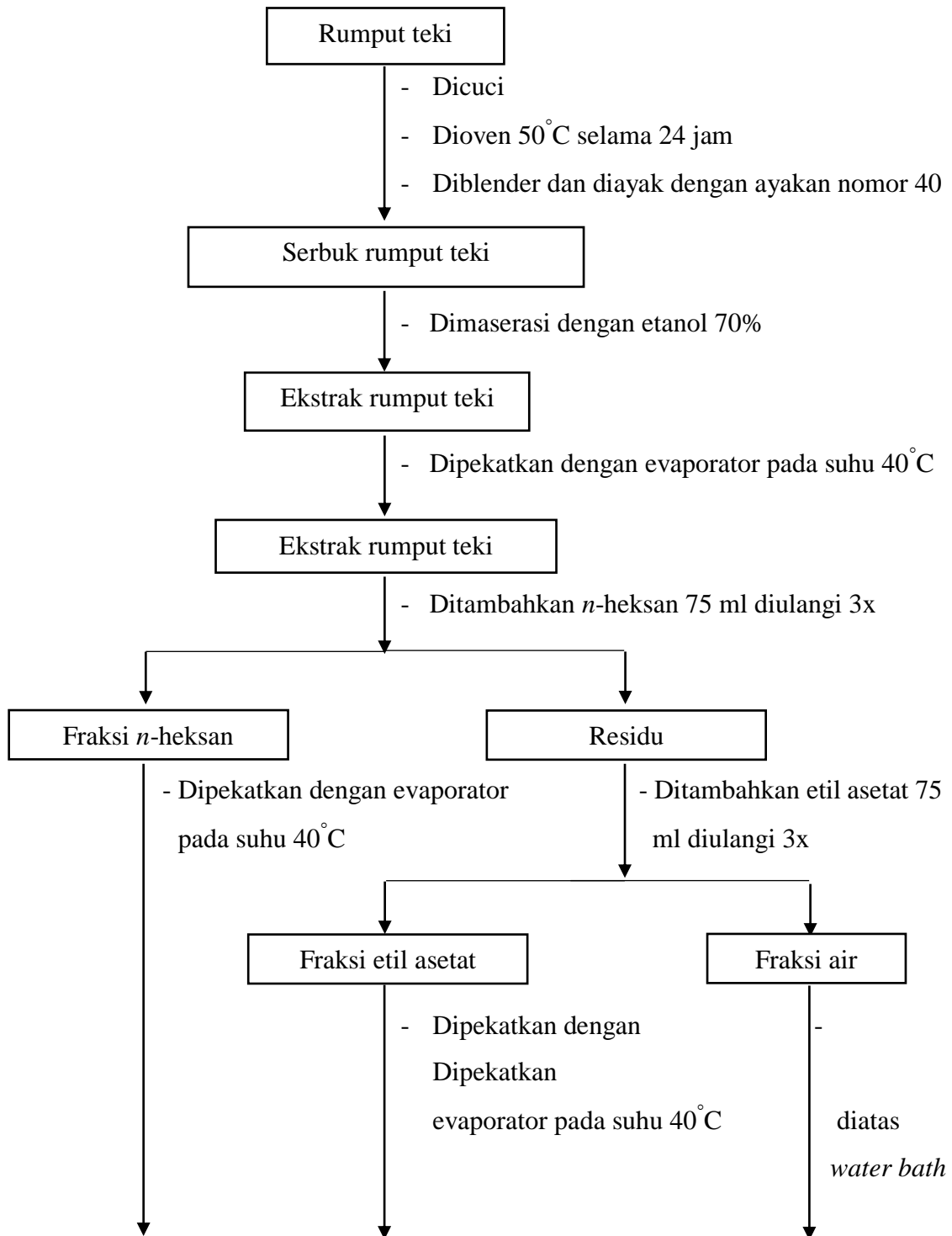
Metode difusi yaitu diambil suspensi bakteri dengan kapas lidi steril kemudian diratakan pada media MHA dan didiamkan selama 5 menit dalam keadaan steril. Kemudian dibuat lubang sumuran pada media MHA dengan *Boor Prof* dan dimasukkan hasil fraksinasi kedalam lubang sumuran sebanyak 50 μ l pada masing-masing konsentrasi yaitu 10%, 5%, 2,5%, kontrol positif (+) siprofloksasin, dan kontrol negatif (-) tween 5%, ekstrak dan fraksi teraktif serta diberi label pada masing-masing lubang. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Lalu cawan agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Lalu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri sebagai zona hambat.

Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi steril dengan berbagai konsentrasi larutan stok yaitu 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%, kontrol positif (+) suspensi bakteri; kontrol negatif (-) ekstrak etanol dan fraksi teraktif. Larutan 1 ml larutan NaCl Fisiologis pada tabung 2 sampai 5, secara aseptik ke dalam tabung 1 ditambahkan 2 ml larutan stok fraksi teraktif ke dalam tabung reaksi. Kemudian dari tabung 1 dipipet 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung kedua, dari tabung kedua diambil 1 ml dimasukkan kedalam tabung ketiga, dan begitu seterusnya sampai tabung kelima. Pada tabung kelima diambil 1 ml kemudian dibuang. Setelah itu dimasukkan suspensi bakteri dalam tabung pertama hingga tabung kelima. Dimasukkan kontrol negatif berisi 2 ml fraksi teraktif ke dalam tabung reaksi steril dan kontrol positif berisi 2 ml suspensi bakteri, lalu diamati kekeruhannya. Lakukan hal yang sama untuk ekstrak etanol. Kemudian ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan menggoreskan larutan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada media PSA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dari goresan bakteri yang sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

E. Analisis data

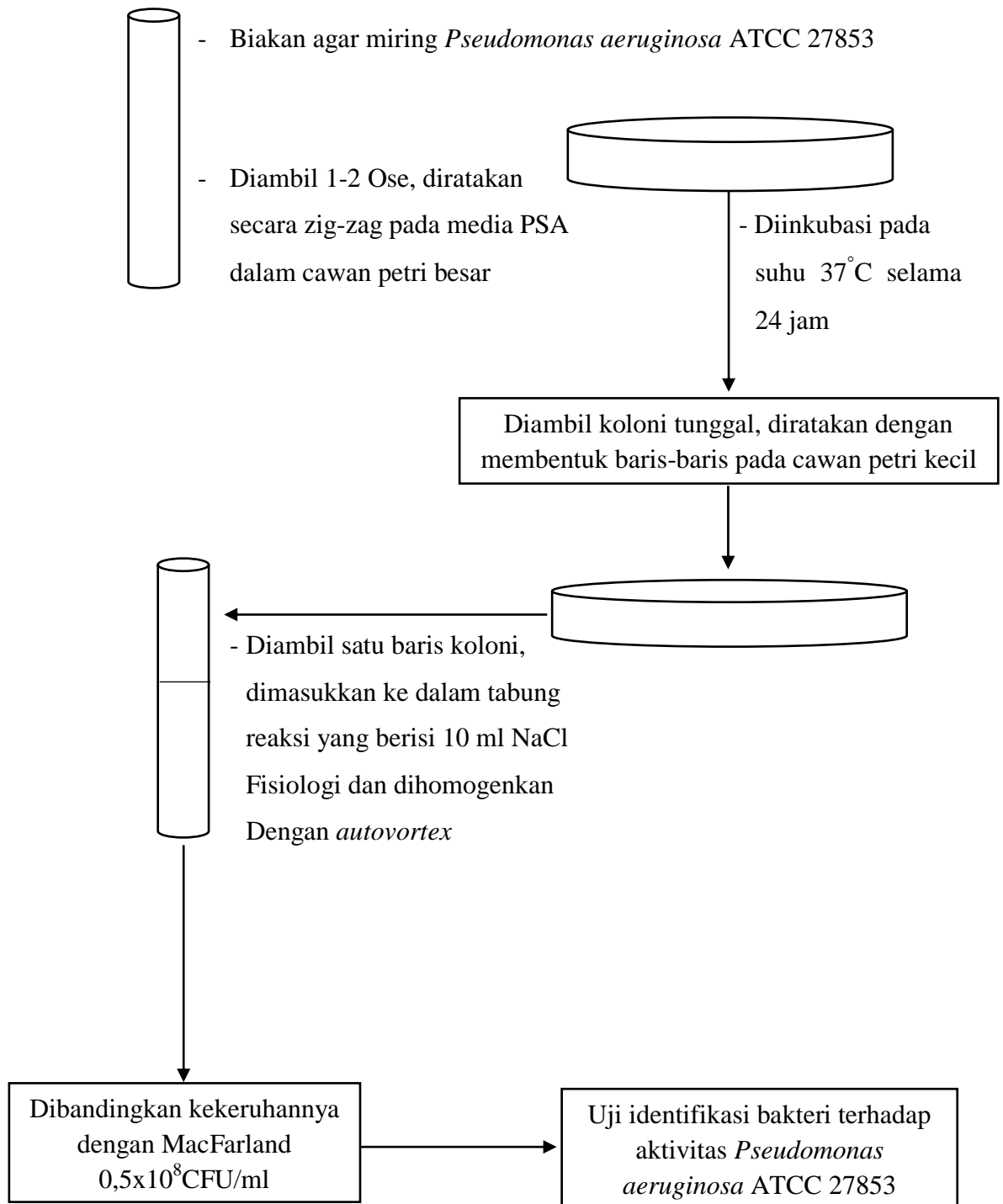
Data hasil penelitian efek ekstrak dan fraksi dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dianalisis dengan

menggunakan program SPSS 16.0, untuk melihat apakah ada perbedaan efektivitas bermakna dari masing-masing konsentrasi yang dianalisis secara statistik menggunakan metode Kolmogorov-Smirnov. Kemudian hasil yang diperoleh apabila terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan metode ANOVA dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Lanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Jika hasilnya tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilakukan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney jika H_0 ditolak atau ($p > 0,05$).

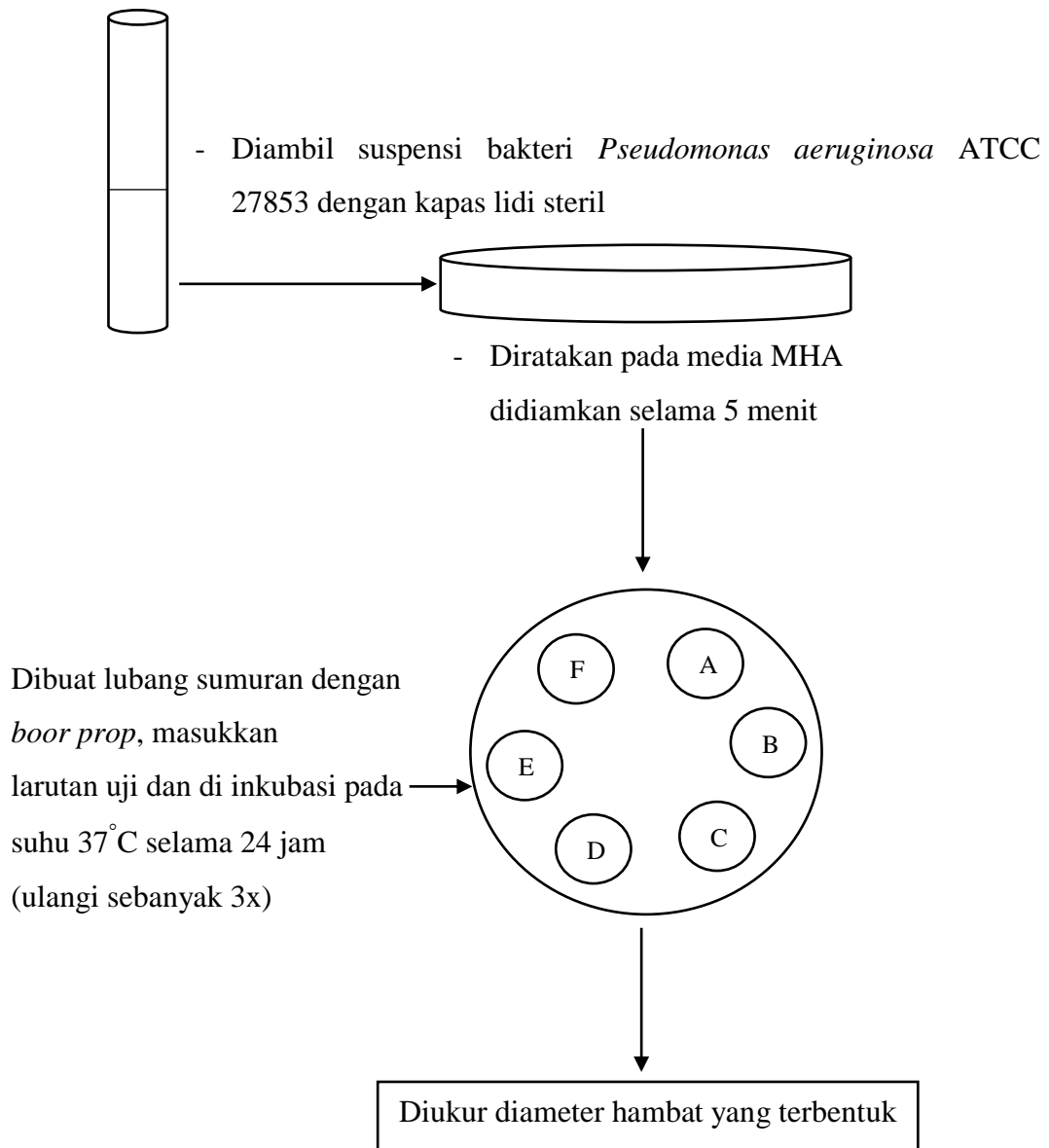


Uji aktivitas antibakteri terhadap aktivitas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Gambar 2. Bagan kerja pembuatan ekstrak dan fraksi rumput teki (*Cyperus rotundus* L.)



Gambar 3. Pembuatan suspensi antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Keterangan : - A = ekstrak (10%, 5%, 2,5%)

- B = fraksi *n*-heksana (10%, 5%, 2,5%)

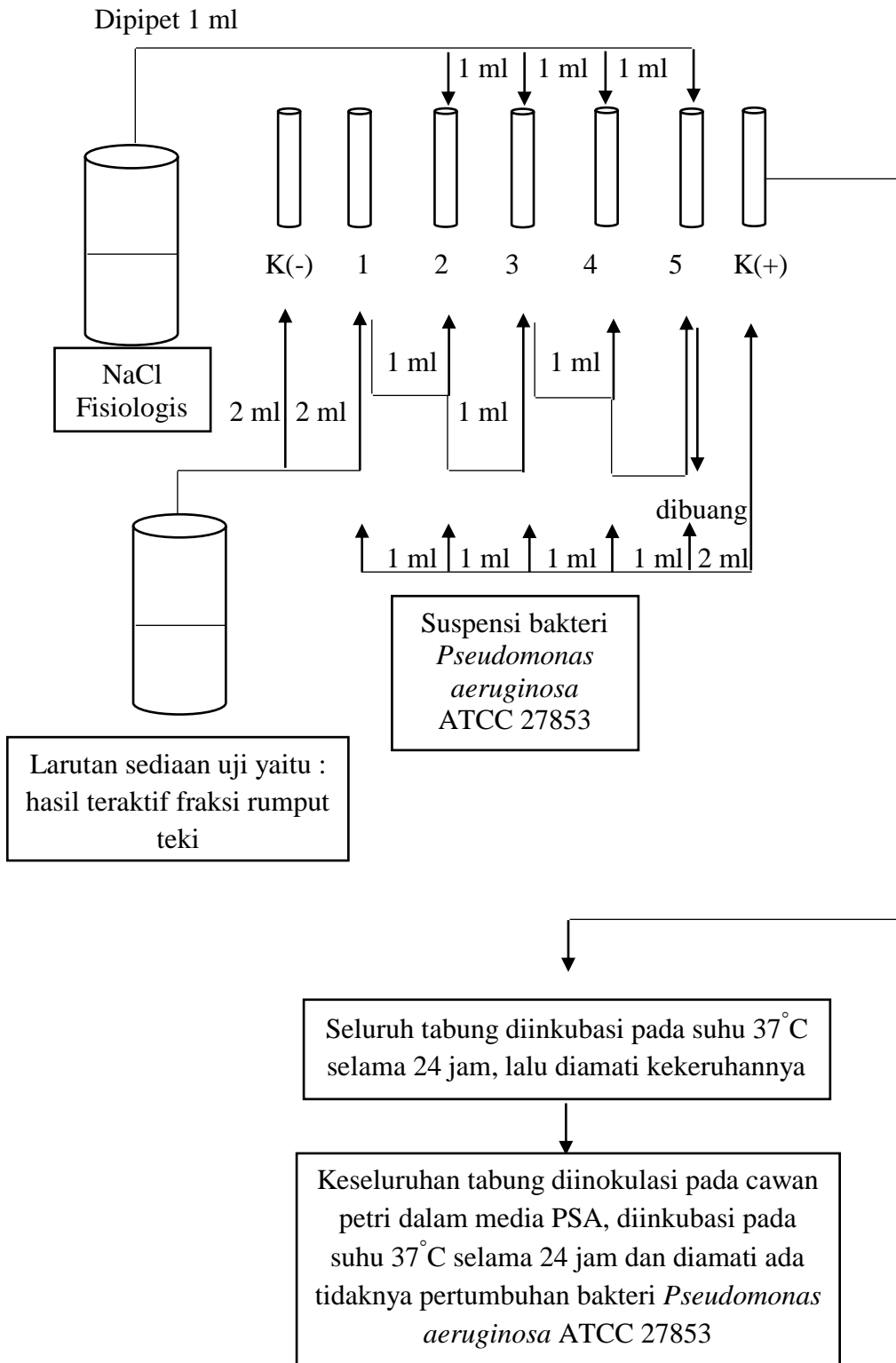
- C = fraksi etil asetat (10%, 5%, 2,5%)

- D = fraksi air (10%, 5%, 2,5%)

- E = kontrol negatif (tween 5%, *n*-heksana, etil asetat, air)

- F = kontrol positif (siprofloksasin)

Gambar 4. Skema uji antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi



Gambar 5. Skema uji antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman rumput teki

Tahapan pertama penelitian ini adalah dengan melakukan determinasi tanaman rumput teki yang bertujuan untuk mencocokkan morfologi rumput teki sesuai dengan literatur. Determinasi tanaman dilakukan dibagian Biologi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret.

Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar rumput teki (*Cyperus rotundus* L.). Hasil determinasi yang dilakukan dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk rumput teki

Rumput teki yang telah dikeringkan dengan oven, dihitung bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 2. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah rumput teki dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 2. Presentase bobot kering terhadap bobot basah rumput teki

Bobot basah	Bobot kering	Prosentase
6850 gram	1700 gram	24,82 %

Hasil dari bobot basah rumput teki 6850 gram, diperoleh bobot kering rumput teki 1700 gram dan diperoleh prosentase randemen 24,81 % b/b. Rumput teki segar dan kering dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Penetapan susut pengeringan dan kadar air serbuk dan ekstrak rumput teki

Hasil penetapan susut pengeringan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi menggunakan alat *Moisture Balance*. Penetapan susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan yang dinyatakan dalam nilai persen atau sampai berat konstan. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer atau lingkungan udara terbuka. Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling Bidwell*.

Tujuan dari penetapan kadar air adalah untuk mengetahui batasan maksimal tentang besarnya kandungan air didalam bahan, untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur, bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk dan ekstrak. Hasil penetapan susut pengeringan dan penetapan kadar air serbuk dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki

No	Bobot awal (g)	Susut pengeringan (%)
1	2	7,1
2	2	7,6
3	2	8,1
Rata-rata		7,6

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki adalah 7,6%. Nilai ini menyatakan jumlah maksimal senyawa yang mudah menguap atau hilang pada proses pengeringan. Nilai susut pengeringan pada hal ini khusus identik dengan kadar air dan sisa pelarut organik yang menguap. Artinya rumput teki sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10% untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh mikroorganisme dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak rumput teki

No	Bobot awal (g)	Susut pengeringan (%)
1	5	14,5

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki adalah 14,5%. Artinya rumput teki belum memenuhi syarat pengeringan simplisia karena lebih dari 10%. Sehingga dapat memungkinkan terjadinya pertumbuhan mikroorganisme dan perubahan kimiawi yang menurunkan mutu ekstrak.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air serbuk rumput teki

No	Bobot awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (% v/b)
1	20	1,6	8
2	20	1,1	5,5
3	20	1,5	7,5
Rata-rata			7

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki adalah 7%. Artinya rumput teki sudah memenuhi syarat pengeringan simplisia karena kurang dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan

mikroorganisme dalam ekstrak. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar air ekstrak rumput teki

No	Bobot awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (% v/b)
1	5	0,6	12

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk rumput teki adalah 12%. Artinya rumput teki sudah tidak memenuhi syarat pengeringan simplisia karena lebih dari 10%. Hal ini dikarenakan masih terdapat banyaknya pelarut pada ekstrak, sehingga dapat memungkinkan terjadinya pertumbuhan mikroorganisme dan perubahan kimiawi yang menurunkan mutu ekstrak. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 17.

4. Penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki

Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki

No	Bobot awal (g)	Bobot jenis (g/mL)
1	2,5	0,81
2	2,5	0,81
3	2,5	0,81
	Rata-rata	0,81

Hasil rata-rata penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki adalah 0,81 g/mL. Ini menggambarkan besarnya massa persatuan volume untuk memberikan batasan antara ekstrak cair dan ekstrak kental, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian dari ekstrak dan kontaminasi (Depkes RI, 2000). Bobot jenis dilakukan terhadap ekstrak yang diencerkan yaitu 5% dengan pelarut tertentu berupa etanol dengan piknometer. Hasil dan perhitungan penetapan bobot jenis dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 18.

5. Pembuatan ekstrak etanol rumput teki

Serbuk rumput teki diekstraksi dengan metode maserasi, kemudian ekstrak cair yang diperoleh dipisahkan dalam evaporator pada suhu 40°C. Hasil pembuatan ekstrak etanol rumput teki dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% rumput teki

Bobot serbuk	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak
500 gram	27 gram	5,4 %

Hasil tabel 8 ekstrak rumput teki diperoleh dari proses maserasi menggunakan etanol 96% memiliki rendemen 5,4% b/b, yang artinya hasil

randemen tersebut menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalam rumput teki. Organoleptis ekstrak berwarna hitam, konsistensi kental. Ekstrak dilakukan fraksinasi menggunakan tiga pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air untuk mendapatkan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 15.

6. Uji bebas etanol ekstrak rumput teki

Ekstrak rumput teki dilakukan uji bebas etanol. Uji bebas etanol bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% rumput teki

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H ₂ SO ₄ conc + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Depkes 1997)

Hasil uji bebas etanol pada tabel 9 menunjukkan bahwa ekstrak rumput teki sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rumput teki

Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi rumput teki dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam rumput teki. Identifikasi pada senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid.

Tabel 10. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi rumput teki

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil		
		Serbuk	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana
Flavonoid	Warna merah atau jingga/ kuning pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978).	Terbentuk warna kuning pada amil alkohol	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alcohol	Tidak terbentuk lapisan berwarna kuning
Alkaloid	Terbentuk keruhan /endapan coklat pada Dragendroff dan terbentuk endapan putih kekuningan pada Mayer (Depkes 1978).	Mayer terbentuk endapan putih kekuningan	Mayer terbentuk endapan putih kekuningan	Dreagendroff endapan coklat
Tanin	Reaksi + bila terbentuk warna coklat atau biru kehitaman (Robinson 1995).	Berwarna coklat	Berwarna coklat	Berwarna hitam

Saponin	Reaksi + bila busa masih terbentuk 1-10 cm setelah penambahan HCl 2N tidak hilang (Depkes 1978).	Terbentuk buih	Terbentuk buih	Tidak terbentuk buih
Steroid / Triterpenoid	Reaksi + bila terbentuk warna hijau sampai kebiruan pada steroid. Terbentuk warna merah sampai ungu adanya triterpenoid (Jones & Kingdom 2006; Evans 2009).	Terbentuk warna merah kecoklatan	Terbentuk warna merah kecoklatan	Terbentuk warna merah kecoklatan

Hasil tabel 10 menunjukkan identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak rumput teki dengan menggunakan tabung reaksi dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil penelitian mengenai kandungan kimia dalam serbuk, ekstrak, dan fraksi rumput teki telah sesuai dengan pustaka, sehingga dapat dikatakan bahwa serbuk dan ekstrak rumput teki mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid. Fraksi *n*-heksana terdapat kandungan senyawa alkaloid dan triterpenoid.

8. Fraksinasi

Ekstrak yang diperoleh dari metode maserasi kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan tiga pelarut berdasarkan polaritasnya yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan air. Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat dan senyawa polar akan terekstraksi dalam pelarut air. Bahan aktif yang sudah terekstraksi dalam pelarut masing-masing maka akan mudah memperkirakan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

Tabel 11. Hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air rumput teki

Fraksi	Bobot ekstrak	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	20 gram	5,32	26,62
Etil asetat		1,59	7,93
Air		9,80	49,00

8.1. Fraksi *n*-heksana. Organoleptis fraksi *n*-heksana berwarna hitam, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa presentase rendemen fraksinasi *n*-heksana yang diperoleh lebih besar dari fraksi etil asetat, hal ini disebabkan karena senyawa yang bersifat nonpolar pada

simplisia lebih banyak. Hasil fraksi *n*-heksana dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 4 dan lampiran 19.

8.2. Fraksi etil asetat. Organoleptis fraksi etil asetat berwarna hitam kehijauan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa presentase randemen fraksi etil asetat lebih kecil dari fraksi *n*-heksana dan fraksi air, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat semipolar pada simplisia lebih sedikit. Perhitungan persen randemen fraksi etil asetat kecil disebabkan karna ekstrak etanol rumput teki tidak terlarut dengan sempurna. Hasil fraksi *n*-heksana etil asetat dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 4 dan lampiran 19.

8.3. Fraksi air. Organoleptis fraksi etil asetat berwarna merah kecoklatan, konsistensi kental, dan tidak berbau. Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa presentase randemen fraksi air lebih besar dari fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat, hal ini dikarenakan senyawa yang bersifat polar pada simplisia lebih banyak, sehingga nilai berat fraksi air paling besar. Hasil fraksi *n*-heksana etil asetat dan perhitungan randemen dapat dilihat pada lampiran 4 dan lampiran 19.

9. Identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

9.1. Identifikasi bakteri dengan cawan gores. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diinokulasikan pada media PSA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan pengamatan, koloni yang dihasilkan berbentuk bulat, halus dan berwarna kehijauan. Hal ini karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menghasilkan pigmen pyocianin (Jawetz *et al* 2007). Hasil inokulasi dapat dilihat pada lampiran 9.

9.2. Identifikasi pewarnaan. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. Pewarnaan Gram dilakukan untuk meyakinkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram dilakukan dengan pemberian zat warna dasar, kristal violet (Gram A). Kemudian diberikan larutan iodin (Gram B) dan seluruh bakteri akan terwarnai menjadi biru dalam proses pewarnaan. Kemudian sel diberikan alkohol (Gram C). Sel Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks kristal violet-iodin sehingga tetap berwarna ungu,

sedangkan sel Gram negatif benar-benar hilang warnanya oleh alkohol, selanjutnya diberikan zat warna lawan berupa safranin (Gram D) sehingga *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 akan berwarna merah. Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipida yang tinggi dalam bentuk lipopolisakarida dan lipoprotein (Fardiaz 1992). Lipida pada dinding sel bakteri Gram negatif akan larut oleh alkohol sehingga pori-pori mengembang dan menyebabkan kompleks kristal violet dengan iodine keluar dari sel, akibatnya dinding sel bakteri menjadi tidak berwarna. Dinding sel bakteri yang tidak berwarna tersebut akan menyerap zat warna safranin sehingga sel bakteri akan tampak berwarna merah ketika dilihat dibawah mikroskop (Pelczar & Chan 2007). Hasil pewarnaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 10.

9.3. Identifikasi uji biokimia. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Identifikasi uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Media uji	Hasil	Pustaka (Bonang dan Koeswandoro 1982)
SIM	- - +	- - +
KIA	K/KS ⁻	K/KS ⁻
LIA	K/KS ⁻	K/KS ⁻
Citrat	+	+

Keterangan :

SIM	: Sulfida Indol Motility	A	: Acid (asam)
KIA	: Kligler Iron Agar	K	: Alkali (basa)
LIA	: Lysin Iron Agar	S	: Sulfida
+	: Reaksi positif	G	: Gas
-	: Reaksi negatif	N	: Netral

Hasil pengujian pada medium SIM untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Uji sulfida (-) karena tidak dapat mereduksi thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfat yang menyebabkan media tidak berwarna hitam. Uji indol (-) karena tidak terbentuk cincin merah pada media setelah ditambah reagen Erlich A dan B 3 tetes, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak membentuk cincin indol karena tidak terjadi pemecahan asam amino triptopan oleh enzim triptonase menjadi indol & asam piruvat sehingga menunjukkan bakteri tidak memakai triptopan sebagai salah satu sumber karbon sehingga tidak terjadi reaksi antara indol dan parametil amino bensaldehid yang

akan membentuk rosindol yang berwarna merah. Uji motilitas (+) karena terjadi pertumbuhan bakteri yang menyebar pada bekas tusukan, hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel.

Hasil uji pada medium KIA untuk mengetahui fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas dan pembentukan sulfida. Hasil yang diperoleh menunjukkan K/KS⁻, K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna merah, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat memfermentasi glukosa dan laktosa. S (-) artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media, karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam. Medium KIA mengandung laktosa dan glukosa dalam konsentrasi 1% laktosa, 0,1% glukosa dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Medium KIA juga mengandung sodium thiosulfate yaitu susunan untuk penghasil H₂S.

Medium LIA untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfide. Pengujian dengan medium LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil K/KS⁻, K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) diseluruh media karena warna pembenihan ini mengandung bromkresol ungu dari warna coklat menjadi warna ungu, S (-) artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam.

Hasil pengujian pada medium citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil menunjukkan positif ditandai dengan adanya warna biru pada media citrat. Hal ini dikarenakan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon yang menyebabkan suasana menjadi basa sehingga terjadi peningkatan pH

dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru karena pada medium citrat terdapat indikator BTB (*Bromo thymol blue*) yang merupakan indikator pH. Hasil uji identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 11.

10. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode difusi dan dilusi

10.1. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode difusi.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi. Metode difusi bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat di sekitar sumuran yang dinyatakan dalam mm, daerah yang jernih di sekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia rumput teki memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Sedangkan metode dilusi bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Tabel 13. Hasil uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 metode difusi

Konsentrasi	Sampel	Diameter Hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata (mm) ± SD
		1	2	3	
10%	<i>n</i> -heksana	18	18,5	19	18,5±0,50
	etil asetat	17,3	17,8	18,2	17,76±0,45
	air	16,5	16,1	16,2	16,26±0,20
	ekstrak	17	18	16	17±1
5%	<i>n</i> -heksana	18,5	17	18	17,83±0,76
	etil asetat	17	18	16	17±1
	air	14	15	16	15±1
	ekstrak	16	16,8	16,3	16,36±0,40
2,5%	<i>n</i> -heksana	17	16	18	17±0,68
	etil asetat	15,5	15	16	15,5±0,50
	air	14,5	13,5	15	14,33±0,76
	ekstrak	15,5	15,8	15	15,43±0,40
Kontrol (+)		21,6	25,33	22,33	23,08±1,97
Kontrol (-)		0	0	0	0

Hasil uji difusi menunjukkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 10% memiliki diameter daya hambat yang lebih besar dari konsentrasi 5% dan 2,5%. Berdasarkan tabel 13 hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana merupakan fraksi yang memiliki diameter daya hambat terbesar dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Hasil rata-rata diameter

daya hambat fraksi *n*-heksana dengan masing-masing konsentrasi yaitu 10%, 5%, 2,5% adalah 18,5 mm, 17,83 mm, dan 17 mm. Pengujian antibakteri dengan tingkatan konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi ekstrak dan fraksi pada bakteri yang diujikan.

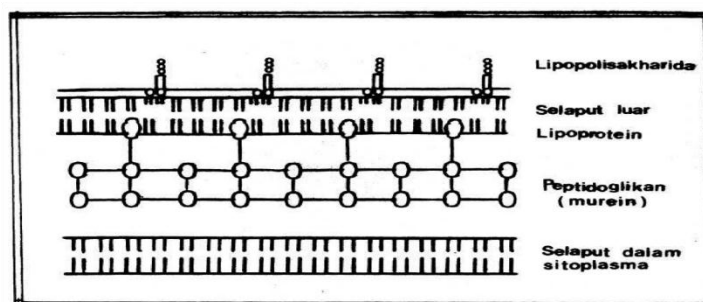
Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pelarut tween 80 5% tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri. Selain itu pelarut tersebut mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin, dimana kontrol positif ini sebagai pembanding terhadap aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi, karena antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang telah dibuat secara standar (Reapinam 2007). Siprofloksasin memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air pada konsentrasi 10%. Diameter zona hambat yang dihasilkan antibiotik siprofloksasin pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sebesar 23,08 mm.

Hasil dari uji difusi dari tabel diatas diuji kebenarannya dengan menggunakan uji SPSS *one way annova*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan *one way annova* adalah konsentrasi 10%, 5%, dan 2,5% dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dan antibiotik siprofloksasin. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, ekstrak etanol, kontrol positif dan kontrol negatif untuk mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One-Sampel Kolmogorov Smirnov* menunjukkan bahwa nilai signifikansinya sebesar $0,088 > 0,05$ maka H_0 diterima, artinya data yang diuji terdistribusi normal. Berdasarkan uji tersebut data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan *Analysis of Varians* (ANOVA). Hasil uji anova pada tabel 10 diameter hambat didapatkan hasil $F = 31,446$ dengan probabilitas $0,000 > 0,05$ yang artinya sediaan uji menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Berdasarkan tabel *tukey test* menunjukkan tanda (*) pada angka *mean difference*, artinya hasil diameter hambat fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dan ekstrak etanol menunjukkan adanya perbedaan signifikan. Analisis *homogeneous Subsets* ini untuk mencari grup/subset mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Tabel *Homogeneous* terbagi dalam 5 subset, disimpulkan bahwa sampel yang tergabung dalam satu grup maka tidak mempunyai perbedaan yang nyata. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 24.

Hasil uji statistik yang dilakukan dari penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki daya hambat antibakteri lebih optimal dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 jika dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat karena dalam fraksi *n*-heksana, zat yang tersari didalamnya yaitu alkaloid dan triterpenoid. Fraksi etil asetat memiliki daya hambat antibakteri lebih optimal daripada fraksi air dan ekstrak etanol dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 karena fraksi etil asetat mampu menarik senyawa flavonoid, namun belum bisa bekerja dengan baik dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak etanol memiliki daya hambat antibakteri lebih optimal dibandingkan fraksi air dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 karena ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam rumput teki, namun senyawa-senyawa tersebut tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil daripada zona hambat yang terbentuk oleh fraksi *n*-heksana.



Gambar 6. Struktur dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Jawetz *et al.* dalam Bonang 1982).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan terbentuknya zona bening yang merupakan bentuk penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 akibat adanya senyawa-senyawa antibakteri pada rumput teki. Hasil ini mendukung kemampuan ekstrak dan fraksi rumput teki yang mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Zona hambat paling baik terdapat pada *n*-heksana, karena mampu menarik senyawa alkaloid dan triterpenoid. Uji alkaloid menggunakan pereaksi Mayer menunjukkan hasil positif terbentuknya endapan putih kekuningan. Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid seringkali beracun dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 1996).

Mekanisme antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, 2005). Hal yang sama dikemukakan oleh Dianita (2011) bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dari bahan antimikroba alkaloid dan berberine bekerja dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA. Inhibisi replikasi DNA akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Sementara itu, alkaloid yang terdapat dalam ekstrak dapat mengganggu terbentuknya jembatan silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tertentu.

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Cowan 1999). Mekanisme yang diduga pada alkaloid adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa zona hambat yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Rohimah (2016) dengan aktivitas penghambatan paling baik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu metanol 36,67 mm (sangat kuat) dan ekstrak n-heksan (P2) = 34,33 mm (sangat kuat). Pada penelitian Ahmed et. al zona hambat yang dihasilkan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25mg/mL, dan 12,5 mg/mL adalah 20mm, 19mm,18mm, dan 16mm. Dalam penelitian ini, fraksi yang memiliki aktivitas paling optimal adalah fraksi n-heksana. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi dapat dilihat pada lampiran 12.

10.2. Uji aktivitas antibakteri rumput teki dengan metode dilusi.

Pengujian aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan dengan metode dilusi dari fraksi teraktif *n*-heksana dan ekstrak etanol rumput teki dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, kontrol positif (+) ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana dan kontrol negatif (-) siprofloksasin.

Pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) aktivitas antibakteri dapat diketahui dari larutan jernih pada tabung reaksi, yang menunjukkan bahwa larutan uji mampu menghambat pertumbuhan antibakteri. Namun pada pengujian yang dilakukan hasil menunjukkan bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) susah diamati karena ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana yang digunakan keruh, sehingga dilanjutkan dengan penggoresan pada media PSA yang bertujuan mengetahui nilai Konsentasi Bunuh Minimum (KBM) . Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat antibakterial. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan pada medium PSA dengan konsentrasi paling terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Tabel 14. Hasil uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 metode dilusi pada KBM

Konsentrasi	Ekstrak etanol	Konsentrasi	Fraksi <i>n</i> -heksana
Kontrol (-)	-	Kontrol (-)	-
10%	-	10%	-
5%	+	5%	+
2,5%	+	2,5%	+
1,25%	+	1,25%	+

0,625%	+	0,625%	+
Kontrol (+)	+	Kontrol (+)	+

Keterangan :

+ : ada pertumbuhan
 - : tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan tabel 14 terlihat bahwa ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sama, yaitu 10%. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa aktif pada ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana yang berbeda. Pada ekstrak etanol kandungan senyawa yang ada didalamnya lebih kompleks yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana senyawa aktif yang terkandung didalamnya yaitu alkaloid dan triterpenoid. Antara ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang sama yaitu 10%, namun terdapat perbedaan antara keduanya. Pada ekstrak etanol diperlukan 5 senyawa untuk membunuh bakteri, sedangkan fraksi *n*-heksana diperlukan 2 senyawa dalam membunuh bakteri dengan konsentrasi 10%. Pada pengujian dilusi digunakan pelarut NaCl untuk pengenceran seri konsentrasi yang memiliki sifat polar, sehingga menyebabkan suatu senyawa yang ada pada ekstrak etanol berdifusi dengan cepat dalam membunuh bakteri karena ekstrak etanol memiliki kelarutan yang sama dengan pelarut NaCl. Sedangkan pada fraksi *n*-heksana memiliki sifat kelarutan non polar, yang menyebabkan senyawa sedikit susah berdifusi dalam NaCl karena memiliki sifat kelarutan yang berbeda. Sehingga nilai Konsentrasi Bunuh Minimum pada fraksi *n*-heksana sama dengan ekstrak etanol.

Faktor lain juga disebabkan karena mekanisme zat terhadap bakteri target yang terjadi dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, merusak molekul protein, menghambat aktivitas enzim dan menghambat sintesa asam nukleat (Radji 2010). Hasil aktivitas antibakteri yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana mampu membunuh bakteri pada konsentrasi 10% dengan demikian ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana efektif digunakan digunakan pada masyarakat dalam pengobatan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi

rumpun teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi dapat dilihat pada lampiran 13.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan fraksi teraktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 10%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri (*Cyperus rotundus* L.) dengan metode penyarian dan pelarut yang lain untuk mengetahui metode yang lebih efektif.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut fraksi lain (*Cyperus rotundus* L.) terhadap mikroorganisme lain yang berbeda.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam pembuatan sediaan formulasi untuk ekstrak maupun fraksi (*Cyperus rotundus* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed et. al. 2015. *Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Ethanolic Extract of Cyperus rotundus L.* American Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol. 2, No. 1, June 2015, pp. 1 – 13.
- Ajizah, A., 2004. *Sensitivitas Salmonella Typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L.* Bioscientiae Vol.1 No.1. pp: 8-31
- Asiamaya. 2007. *Teki (Cyperus rotundus L).*
<http://www.asiamaya.com/jamu/isi/Teki> (Cyperus rotundus L). 17/03/2018. 10:45:20 AM.
- Bamford KB., Gillespie SH. 2007. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi.* Ed ke-3. Jakarta : Erlangga. Hlm 56-57.
- Bauman R. 2007. *Microbiology With Diseases by Taxonomy.* Ed ke-2. San Fransisco: Person Educating Inc.
- Biswal, I., Balvinder, S. A., Dimple, K., & Neetushree. 2014. *Incidence of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients and environment of teaching institution.* J. of Clinical and Diagnostic Research, 8, 5, 26-29
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., Jawetz, Melnick, and Adelberg's. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran.* Alih bahasa oleh Mudihardi E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono. S., dan Alimsardjono, L., Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Bonang, G., & E.S, Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi kedokteran untuk laboratorium dan klinik.* Gramedia. Jakarta 199 hal.
- Brooks GF, Butel Js, Morse SA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran.* Alih Bahasa: Mudihardi E. Kurniawan, et al. Jakarta: Salemba Medika.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan pengendaliannya.* Jakarta: Salemba Medika.
- Departemen Kesehatan RI. 1978. *Materia Medika Indonesia.* Jilid II (MMI-II). Penerbit Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta.
- Densita, T. 2015. *Penentuan jenis tanin secara ualitatif dan penetapan kadar tanin dari kulit buah rambutan (Nephelium lappaceum L.) secara permanganometri.* Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 4 (4). Surabaya.

- Ditjen POM. Depkes RI. 1985. *Cara pembuatan simplisia*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan galenik*. Depkes RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1987. *Analisis obat tradisional*. Edisi 1. Depkes RI. Jakarta
- Depkes RI.1995. *Materia medika indonesia*. Jilid VI. Cetakan Keenam. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 2006. *Monografi ekstrak tumbuhan obat indonesia*. Jakarta. Depkes RI.
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan terapi*. edisi IV. 271-288 dan 800-810. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes, bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd Edition. DOI:10.1007/bergeysoutline200405.New York: Springer.
- Goodman dan Gilman. 2007. *Dasar farmakologi terapi*. Edisi 10. Vol 2. 48: 1247-1253. Diterjemahkan oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Penerbit Buku Kedokteran.
- Hall D.W., V.V. Vandiver, J.A. Ferrell. 2012. Purple nutsedge, *Cyperus rotundus* L. University of Florida. Ifas extension. pp 1-3.
- Harborne J.B. 1987. *Metode fitokimia*. Edisi 2. ITB. Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A. 1986. *Mikrobiologi kedokteran*. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 205-209. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A. 2005. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi XXII. Diterjemahkan oleh Eddy Mudihardi *et al.*, 322-323. Jakarta. Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Bonang G, penerjemah: Jakarta: EGC. Terjemahan dari *Medical Microbiologi*. Hlm 58-63, 291-292, 303-306.
- Jawetz, E., Melnick., J.L., Adelberg, E.A., 2012, *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Boning G., Edisi XXV, EGC., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.

- Karou, D., Dicko, M. H., Simpo, J., & Traore, A. S., 2005, Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenol From Ethnomedicinal Plant of Burkina Faso, *African Journal of Biotechnology*, 4 (8), 823-828.
- Lawal, O.A., dan Adebola, O.O. 2009. *Chemical composition of the essential oils of Cyperus rotundus L. From South Africa. Journal Molecules*. Hlm. 2909-2917.
- Lenny S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida*. Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mayasari E. 2006. *Pseudomonas aeruginosa; karakteristik infeksi dan penanganan*. Sumatera Utara. USU Repository.
- Noor, M.S., Poeloengan, dkk. 2006. Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit batang bungur (*Lagerstremia speciosa* Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Universitas Pancasila Jakarta.
- Novitasari, A.E., dan Putri D.J. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*. 6 (12).
- Nurainy, F. Samsul, R & Yudiantoro. 2008. Pengaruh konsentrasi kitosan Terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (Sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13:117-125.
- Pelczar, M.J. Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pratiwi S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. 164. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Purba, Priska Noviana. 2013. *Uji Sensitivitas antibiotik siprofloksasin, amikasin, sefepim, dan piperasilin tazobaktam terhadap Pseudomonas sp. hasil isolasi dari urin pasien infeksi saluran kemih di RS PKU Muhammadiyah Sukarta Bulan Maret-April Tahun 2013*. Skripsi. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
- Puspitasari, H., Listyawati, S., dan T. Widiyani. (2003). Aktifitas Analgetik Ekstrak Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan. *Jurnal Biofarmasi* 1(2). 50-57. ISSN: 1693-2242.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Ravikumar, S. Syed, A. Ramu, A. Ferosekhan, M. 2011. Antibacterial Activity of Chosen Mangrove Plants Against Bacterial Specified Pathoge. *World Applied Sciences Journal* 14: 1198-1202.

- Reapinam, E., 2007. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocaria massoia*) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Refdanita, A. Maksum, A Nurgani, P Endang. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Jurnal Makara Kesehatan* 8 (2): 41-48.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.
- Rohimah. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Akar Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi Jambi. FKIP Universitas Jambi.
- R, Setyabudy dan Vincent H.S. Gan. 1995. *Antimikroba Dalam: Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Gaya Baru.
- Rukmono, Prambudi dan Reni Zuraida. 2013. *Uji Kepekaan Antibiotik terhadap Pseudomonas aeruginosa Penyebab Sepsis Neonatorum*. Bandar Lampung : Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- R. Setiabudy dan Vincent H.S. Gan. 1995. Antimikroba. Dalam: *Farmakologi Dan Terapi*, edisi 4. Jakarta: Gaya Baru. Halaman 571-3
- Saifuddin A., Rahayu V., Teruna HY. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Graham Ilmi. Yogyakarta.
- Steenis, C.G. G. J. 1997. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Penerjemah: Surjowinoto, M. Pradanya Paramita. Jakarta.
- Sudarsono, A. Pujiarinto, D. Gunawan, S. Wahyono, I.A. Donatus, M. Dradjad, S. Wibowo, dan Ngatidjan. 1996. *Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, Pusat Penelitian Obat Tradisional (PPOT) UGM*. Yogyakarta.
- Sulistyaningsih. 2010. Uji kepekaan beberapa sediaan antiseptik Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* resisten metisilin (MRSA). *Tesis*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Suriawira U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung.
- Suriawira U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinati, Jakarta.
- Syarif, Amir dkk. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Tortora, G.J. dkk. 2001. *Microbiology an Introduction Addison Wesley Longman Inc*. San Fransisco. USA.

- Vahdani M., Azimi, L., Asghari, B., Bazmi, F., & Rastegar, L. A. 2012. *Phenotypic screening of extended-spectrum β -lactamase and metallo- β -lactamase in multidrugresistant Pseudomonas aeruginosa from infected burns*. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 25, 2, 78-81.
- Wijayakusuma H. 2000. *Potensi Tumbuhan Obat Asli Indonesia Sebagai Produk Kesehatan*. Soul: Dongsin University
- Yunita, Irawan. A., dan Nurmasari, R., 2009. *Skrining Fitokimia Daun Tumbuhan Katimaha*. *Sains dan Terapan Kimia*. 3 (2): 112-123.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman rumput teki



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

Nomor : 168/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Ria Eka Sari
NIM : 21154425A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Cyperus rotundus* L.
Familia : Cyperaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr.(1963, 1968) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-
803b-804b-805c-806b-807a-808b _____ 237. Cyperaceae
1b-2a-3b-4b-6b-7b-9a _____ 11. Cyperus
1b-2b-15b-17b-19b-27b-37b-38b-39b-42b-43b-44a-45b-46a _____ *Cyperus rotundus* L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 0.1-0.75 m. Akar : serabut, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda, terdapat umbi. Batang : batang sejati ada di dalam tanah, bentuk bulat, beruas-ruas pendek, batang semu di atas tanah, bentuk segitiga, tidak bercabang, beruas-ruas panjang, tebal 1-2 mm, permukaan licin, berwarna hijau. Daun : tunggal, letak berseling, berjejal rapat dekat pangkal batang sejati, 4-10; helaian daun bentuk garis, panjang 10-60 cm, lebar 0.2-0.6 cm, pangkal membulat, tepi daun rata, ujung runcing, permukaan gundul dan mengkilat, tulang daun sejajar, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; pelepah daun pendek, melekat pada buku batang sejati, coklat kemerahan. Bunga : majemuk tipe bulir, anak bulir sebanyak 3-10 berkumpul menjadi bulir yang pendek dan secara keseluruhan berkumpul lagi menjadi bulir yang panjang dengan sekitar 10-40 kuntum bunga, panjang 1-3.5 cm, lebar 2 mm, terletak di ujung; daun pembalut (involukrum) berjumlah 3-4, panjang hingga mencapai 30 cm, tepi kasar; sekam berbentuk bulat telur, ujungnya hampir tumpul, berwarna kemerahan hingga coklat, panjang 3-3.5 mm; benang sari 3, kepala sari kuning cerah, panjang 1 mm; tangkai putik bercabang 3. Buah : segitiga, memanjang sampai bulat telur terbalik, panjang 1.5 mm, warna coklat hingga hitam. Biji : banyak, warna coklat hingga hitam.

Surakarta, 15 Agustus 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan




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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS






Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Bahan penelitian

	Rumput teki
	Rumput teki
	Serbuk rumput teki

Lampiran 3. Alat penelitian

	<p><i>Sterlig bidwell</i></p>
	<p>Neraca analitik</p>
	<p><i>Moisture balance</i></p>

	<p><i>evaporator</i></p>
	<p>Inkubator</p>
	<p>Corong pisah</p>

Lampiran 4. Hasil ekstrak dan fraksi

	Ekstrak etanol rumput teki
	Fraksi air
	Fraksi <i>n</i> -heksana
	Fraksi etil asetat

Lampiran 5. Hasil penetapan susut pengeringan dan kadar air serbuk dan ekstrak rumput teki

➤ **Penetapan susut pengeringan serbuk**



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

➤ **Penetapan susut pengeringan ekstrak**



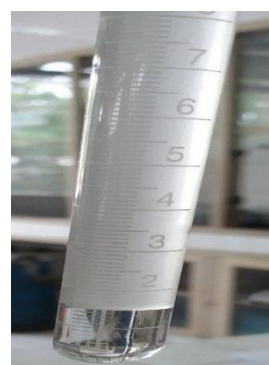
➤ **Penetapan kadar air serbuk**



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

➤ **Penetapan kadar air ekstrak**



Lampiran 6. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak rumput teki



Replikasi I





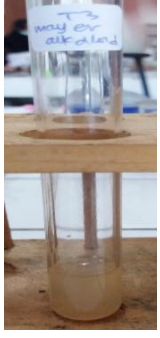

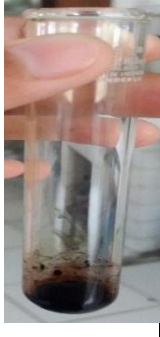




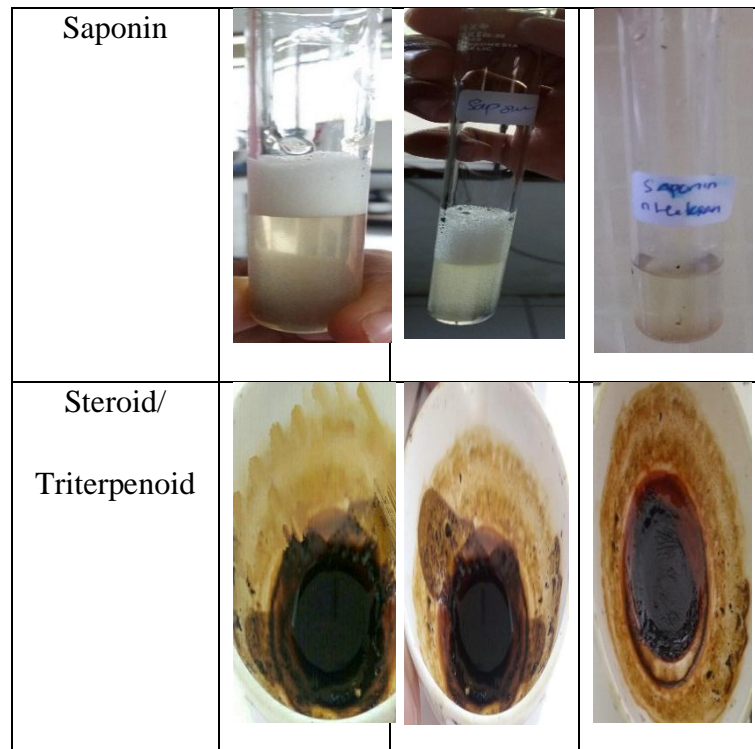
Replikasi II



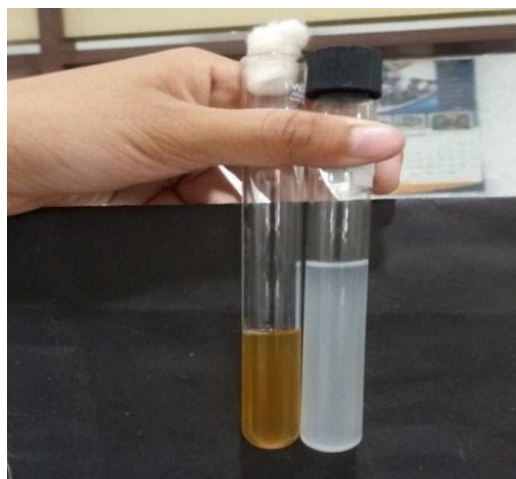
Replikasi III

Lampiran 7. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak rumput teki

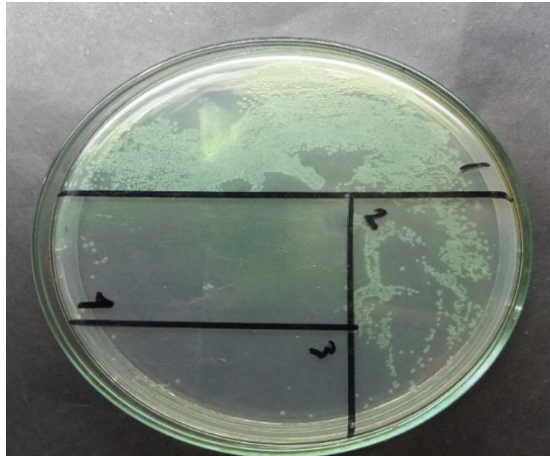
Kandungan senyawa	Hasil		
	Serbuk	Ekstrak	fraksi <i>n</i> -heksana
Flavonoid			
Alkaloid			
Tanin			



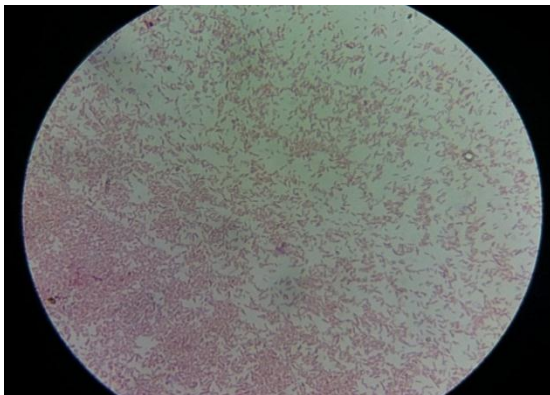
Lampiran 8. Hasil pembuatan suspensi bakteri



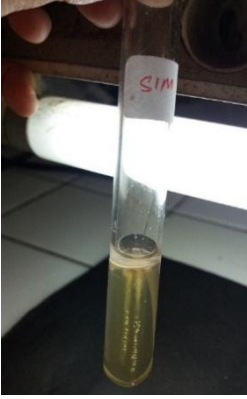



Lampiran 9. Hasil identifikasi bakteri dengan cawan gores



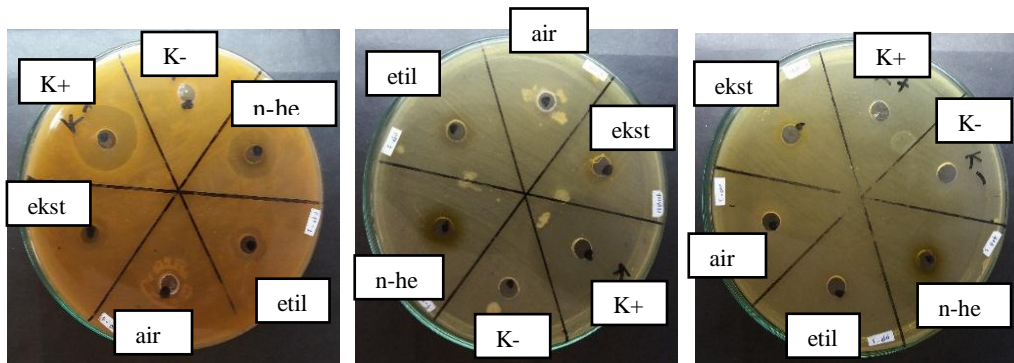
Lampiran 10. Hasil identifikasi pewarnaan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



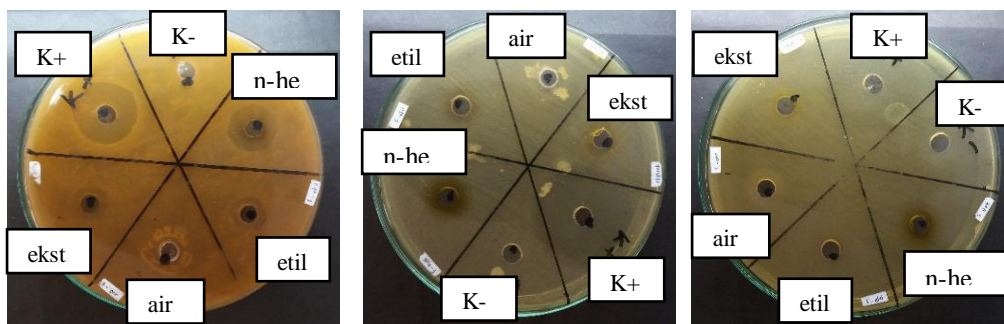
Lampiran 11. Hasil identifikasi uji biokimia

Media	Hasil	Interpretasi Hasil
SIM		- - +
KIA		K/KS ⁻
LIA		K/KS ⁻
Sitrat		+

Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi rumput teki terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi



➤ **Konsentrasi 10%**

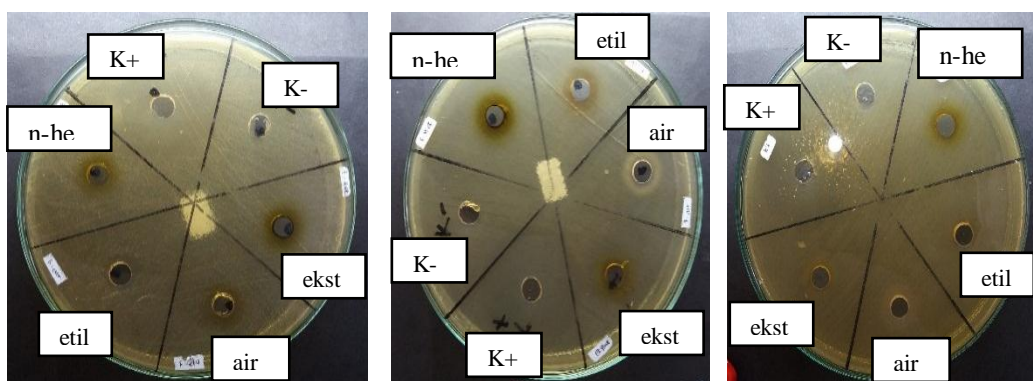


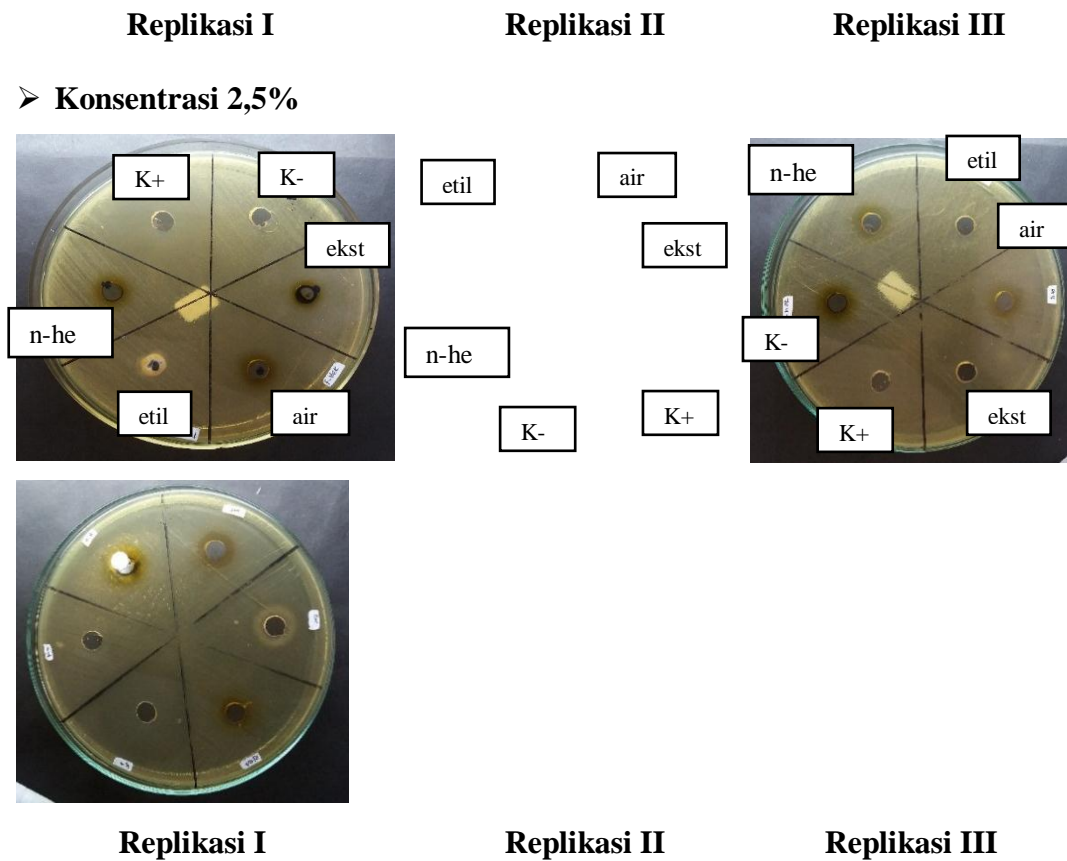
Replikasi I

Replikasi II

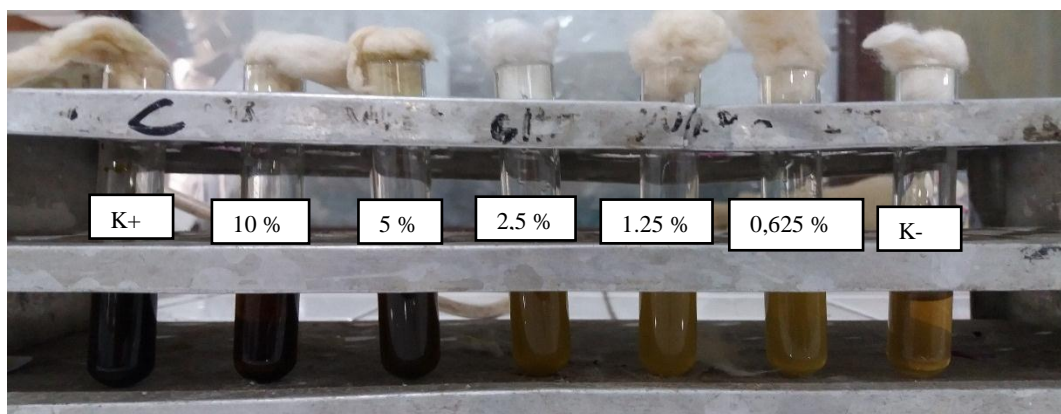
Replikasi III

➤ **Konsentrasi 5%**

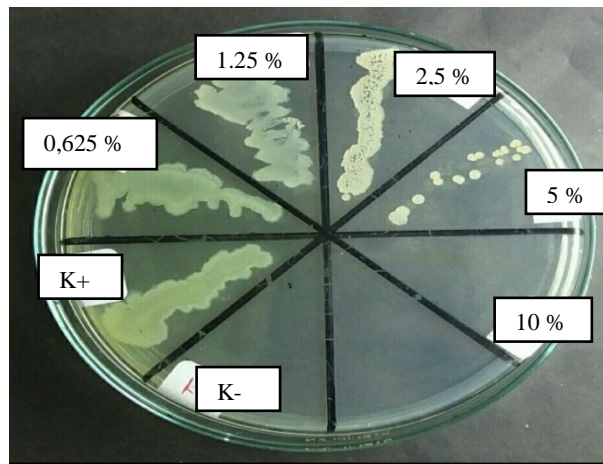




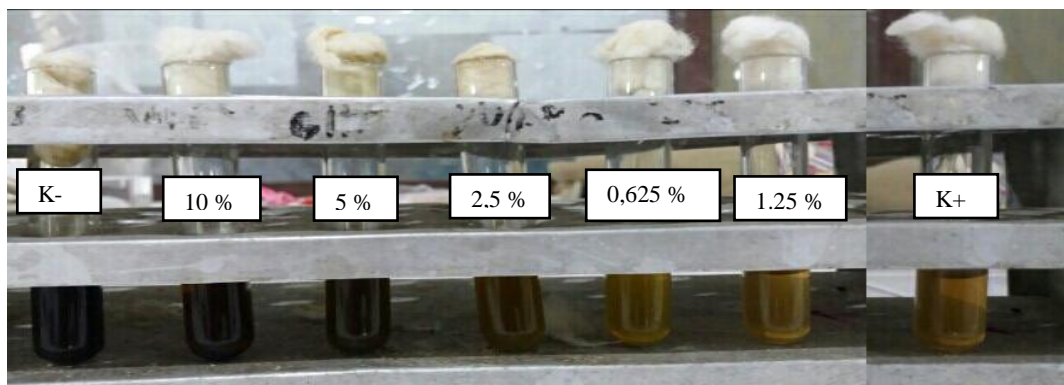
Lampiran 13. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 rumput teki dengan metode dilusi



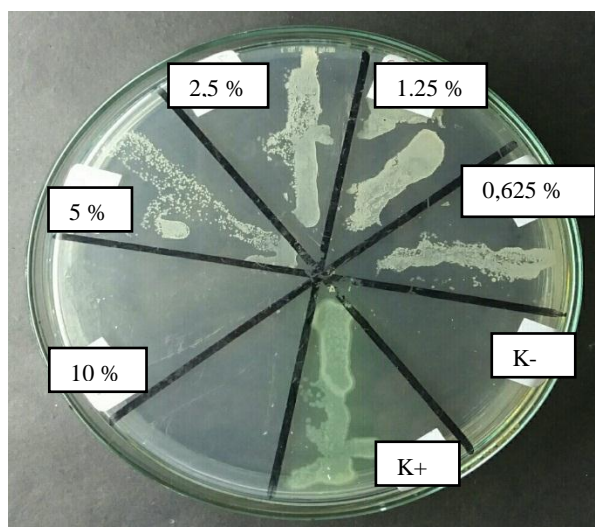
Fraksi *n*-heksana



Inokulasi fraksi *n*-heksana



Ekstrak etanol



Inokulasi ekstrak etanol

Lampiran 14. Hasil perhitungan bobot basah dan bobot kering rumput teki

$$\begin{aligned}\text{Prosentase bobot} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1700 \text{ (g)}}{6850 \text{ (g)}} \times 100\% = 24,81\%\end{aligned}$$

Lampiran 15. Hasil perhitungan randemen ekstrak etanol

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{27}{500} \times 100\% = 5,4\%\end{aligned}$$

Lampiran 16. Hasil perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak**➤ Serbuk**

$$\text{Susut pengeringan I} = 7,1\%$$

$$\text{Susut pengeringan II} = 7,6\%$$

$$\text{Susut pengeringan III} = 8,1\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata prosentase kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)}}{3} = \% \\ &= \frac{22,8}{3} = 7,6 \%\end{aligned}$$

Lampiran 17. Hasil perhitungan penetapan kadar air**➤ Serbuk**

$$\text{Prosentase penetapan kadar air} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot awal (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air I} = \frac{1,6}{20} \times 100\% = 8\%$$

$$\text{Kadar air II} = \frac{1,1}{20} \times 100\% = 5,5\%$$

$$\text{Kadar air III} = \frac{1,5}{20} \times 100\% = 7,5\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata prosentase kadar air} &= \frac{\text{volume air (ml)}}{3} = \% \\ &= \frac{21}{3} = 7\%\end{aligned}$$

➤ Ekstrak

$$\text{Prosentase kadar air} = \frac{0,6}{5} \times 100\% = 12\%$$

Lampiran 18. Hasil perhitungan penetapan bobot jenis ekstrak

1. Bobot pikno kosong = 27,0811 gram/mL
2. Bobot pikno air = 77,454 gram/mL
3. Bobot pikno sampel 1 = 68,007 g/mL
4. Bobot pikno sampel 2 = 68,014 g/mL
5. Bobot pikno sampel 3 = 68,034 g/mL

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\text{bobot pikno sampel (g)} - \text{bobot pikno kosong (g)}}{\text{bobot pikno air (g)} - \text{bobot pikno kosong (g)}}$$

$$\text{Bobot jenis sampel 1} = \frac{68,007 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}}{77,454 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}} = 0,812 \text{ g/mL}$$

$$\text{Bobot jenis sampel 1} = \frac{68,014 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}}{77,454 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}} = 0,8125 \text{ g/mL}$$

$$\text{Bobot jenis sampel 1} = \frac{68,034 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}}{77,454 \text{ (g)} - 27,0811 \text{ (g)}} = 0,8129 \text{ g/mL}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis} = \frac{0,812 + 0,812 + 0,812}{3} = 0,812$$

Lampiran 19. Hasil perhitungan randemen fraksi

$$\text{Prosentase rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

1. Fraksi *n*-heksana

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{5,323 \text{ (g)}}{20} \times 100\% = 26,615\%$$

2. Fraksi etil asetat

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{1,585 \text{ (g)}}{20} \times 100\% = 7,925\%$$

3. Fraksi air

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{9,8006 \text{ (g)}}{20} \times 100\% = 49,003\%$$

Lampiran 20. Perhitungan dosis antibiotik siprofloksasin

$$\text{Dosis} = 200 \text{ mg/100mL}$$

$$= 0,2 \text{ g/100mL}$$

$$= 0,2\%$$

Lampiran 21. Pembuatan larutan stok difusi

1. Konsentrasi 10%

Menimbang 1 gram ekstrak, fraksi dilarutkan dengan tween 5% sampai 10 mL

2. Konsentrasi 5%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 10\% = 1\text{mL} \cdot 5\%$$

$$V_1 \cdot 10\% = 5\%$$

$$V_1 = \frac{5\%}{10\%}$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (10%) kemudian ditambah tween 5% sampai 1 mL.

3. Konsentrasi 2,5%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 5\% = 1\text{mL} \cdot 2,5\%$$

$$V_1 \cdot 5\% = 2,5\%$$

$$V_1 = \frac{2,5\%}{5\%}$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (5%) kemudian ditambah tween 5% sampai 1 mL.

Lampiran 22. Pembuatan larutan stok dilusi

Larutan stok 10% = % $\frac{b}{v}$ = 10 gram/100 mL

Konsentrasi 10% = 0,5 gram/5mL

$$\text{Konsentrasi 5\%} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 10\% = 2\text{mL} \cdot 5\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2,5\%} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 5\% = 2\text{mL} \cdot 2,5\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi } 1,25\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 2,5\% = 2\text{mL} \cdot 1,25\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi } 0,625\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 1,25\% = 2\text{mL} \cdot 0,625\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Kontrol negatif (-) berisi 2 mL ekstrak/fraksi

Kontrol positif (+) berisi 2 mL suspensi bakteri

Lampiran 23. Komposisi media

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

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

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disetrilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri Ph 7,4 (Rhodehamel 1992).

b. Formulasi dan pembuatan *Manitol Agar (MHA)*

Infus sapi	300 gram
Pepton	17,5 gram
Tepung	1,5 gram
Agar	17,5 gram
Aquadest ad	1000 mL

Ph $7,3 \pm 0,1$

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aqudest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri.

c. Formulasi dan pembuatan *Pseudomonas Selectif Agar (PSA)*

Pepton from Casein	10,0 gram
Pepton from Meat	3,5 gram
Laktosa	10,0 gram
Sodium sulfit	2,5 gram
Fuchsin	0,4 gram
Agar-agar	12,5 gram

Ph 7,4

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aqudest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri.

d. Sulfida indol motility (SIM)

Pepton from casein	20 gram
Pepton from meat	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	0,2 gram
Aquadest ad	1000 mL

Ph 7,4

Bahan-bahan diatas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

e. Klinger Iron Agar (KIA)

Pepton from casein	15 gram
Pepton from meat	5 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Meat extract	3 gram

Yeast extract	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Laktosa	10 gram
Glukosa	1 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar-agar	12 gram
Aquadest ad	1000 mL
pH 7,4	

Bahan-bahan diatas dilarutkan kedalam aquadest 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

f. Lysine Iron Agar (LIA)

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

Bahan-bahan diatas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

g. Sitrat

Suspensi Standart Mc. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10⁸ CFU/mL.

Larutan asam sulfat

Larutan barium klorida

Dicampur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standart, berarti suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/mL (Bridson 1998).

Lampiran 24. Hasil analisis data uji ANOVA antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, kontrol (+), dan kontrol (-).

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Zona Hambat	45	17,7956	3,03988	13,50	27,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona Hambat
N		45
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17,7956
	Std. Deviation	3,03988
Most Extreme Differences	Absolute	,186
	Positive	,186
	Negative	-,112
Kolmogorov-Smirnov Z		1,249
Asymp. Sig. (2-tailed)		,088

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,045	14	30	,049

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	380,659	14	27,190	31,446	,000
Within Groups	25,940	30	,865		
Total	406,599	44			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

Tukey HSD

(I) Konsentrasi Bahan	(J) Konsentrasi Bahan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana 2,5%	etil 2,5%	,27667	,13818	,782	-,2325	,7859
	air 2,5%	,37667	,13818	,337	-,1325	,8859
	ekst 2,5%	,20000	,13818	,975	-,3092	,7092
	kontrol +	-,43000	,13818	,170	-,9392	,0792
	n-heksana 5%	-,03333	,13818	1,000	-,5425	,4759
	etil 5%	,09333	,13818	1,000	-,4159	,6025
	air 5%	,31000	,13818	,635	-,1992	,8192
	ekst 5%	,16667	,13818	,995	-,3425	,6759
	kontrol +	-,73000*	,13818	,001	-1,2392	-,2208
	n-heksana 10%	-,19000	,13818	,984	-,6992	,3192
	etil 10%	-,07667	,13818	1,000	-,5859	,4325
	air 10%	,25000	,13818	,876	-,2592	,7592
	ekst 10%	,14333	,13818	,999	-,3659	,6525
	kontrol +	-,32333	,13818	,572	-,8325	,1859
etil 2,5%	n-heksana 2,5%	-,27667	,13818	,782	-,7859	,2325
	air 2,5%	,10000	,13818	1,000	-,4092	,6092

	ekst 2,5%	-,07667	,13818	1,000	-,5859	,4325
	kontrol +	-,70667*	,13818	,001	-1,2159	-,1975
	n-heksana 5%	-,31000	,13818	,635	-,8192	,1992
	etil 5%	-,18333	,13818	,988	-,6925	,3259
	air 5%	,03333	,13818	1,000	-,4759	,5425
	ekst 5%	-,11000	,13818	1,000	-,6192	,3992
	kontrol +	-1,00667*	,13818	,000	-1,5159	-,4975
	n-heksana 10%	-,46667	,13818	,099	-,9759	,0425
	etil 10%	-,35333	,13818	,434	-,8625	,1559
	air 10%	-,02667	,13818	1,000	-,5359	,4825
	ekst 10%	-,13333	,13818	,999	-,6425	,3759
	kontrol +	-,60000*	,13818	,010	-1,1092	-,0908
	n-heksana 2,5%	-,37667	,13818	,337	-,8859	,1325
	etil 2,5%	-,10000	,13818	1,000	-,6092	,4092
	ekst 2,5%	-,17667	,13818	,991	-,6859	,3325
	kontrol +	-,80667*	,13818	,000	-1,3159	-,2975
	n-heksana 5%	-,41000	,13818	,223	-,9192	,0992
	etil 5%	-,28333	,13818	,754	-,7925	,2259
air 2,5%	air 5%	-,06667	,13818	1,000	-,5759	,4425
	ekst 5%	-,21000	,13818	,963	-,7192	,2992
	kontrol +	-1,10667*	,13818	,000	-1,6159	-,5975
	n-heksana 10%	-,56667*	,13818	,018	-1,0759	-,0575
	etil 10%	-,45333	,13818	,121	-,9625	,0559
	air 10%	-,12667	,13818	1,000	-,6359	,3825

	ekst 10%	-,23333	,13818	,921	-,7425	,2759
	kontrol +	-,70000*	,13818	,001	-1,2092	-,1908
	n-heksana 2,5%	-,20000	,13818	,975	-,7092	,3092
	etil 2,5%	,07667	,13818	1,000	-,4325	,5859
	air 2,5%	,17667	,13818	,991	-,3325	,6859
	kontrol +	-,63000*	,13818	,006	-1,1392	-,1208
	n-heksana 5%	-,23333	,13818	,921	-,7425	,2759
	etil 5%	-,10667	,13818	1,000	-,6159	,4025
	air 5%	,11000	,13818	1,000	-,3992	,6192
ekst 2,5%	ekst 5%	-,03333	,13818	1,000	-,5425	,4759
	kontrol +	-,93000*	,13818	,000	-1,4392	-,4208
	n-heksana 10%	-,39000	,13818	,288	-,8992	,1192
	etil 10%	-,27667	,13818	,782	-,7859	,2325
	air 10%	,05000	,13818	1,000	-,4592	,5592
	ekst 10%	-,05667	,13818	1,000	-,5659	,4525
	kontrol +	-,52333*	,13818	,039	-1,0325	-,0141
	n-heksana 2,5%	,43000	,13818	,170	-,0792	,9392
	etil 2,5%	,70667*	,13818	,001	,1975	1,2159
	air 2,5%	,80667*	,13818	,000	,2975	1,3159
	ekst 2,5%	,63000*	,13818	,006	,1208	1,1392
k+ 2,5%	n-heksana 5%	,39667	,13818	,265	-,1125	,9059
	etil 5%	,52333*	,13818	,039	,0141	1,0325
	air 5%	,74000*	,13818	,001	,2308	1,2492
	ekst 5%	,59667*	,13818	,011	,0875	1,1059

	kontrol +	-,30000	,13818	,681	-,8092	,2092
	n-heksana 10%	,24000	,13818	,904	-,2692	,7492
	etil 10%	,35333	,13818	,434	-,1559	,8625
	air 10%	,68000*	,13818	,002	,1708	1,1892
	ekst 10%	,57333*	,13818	,016	,0641	1,0825
	kontrol +	,10667	,13818	1,000	-,4025	,6159
	n-heksana 2,5%	,03333	,13818	1,000	-,4759	,5425
	etil 2,5%	,31000	,13818	,635	-,1992	,8192
	air 2,5%	,41000	,13818	,223	-,0992	,9192
	ekst 2,5%	,23333	,13818	,921	-,2759	,7425
	kontrol +	-,39667	,13818	,265	-,9059	,1125
	etil 5%	,12667	,13818	1,000	-,3825	,6359
n-heksana 5%	air 5%	,34333	,13818	,479	-,1659	,8525
	ekst 5%	,20000	,13818	,975	-,3092	,7092
	kontrol +	-,69667*	,13818	,002	-1,2059	-,1875
	n-heksana 10%	-,15667	,13818	,997	-,6659	,3525
	etil 10%	-,04333	,13818	1,000	-,5525	,4659
	air 10%	,28333	,13818	,754	-,2259	,7925
	ekst 10%	,17667	,13818	,991	-,3325	,6859
	kontrol +	-,29000	,13818	,726	-,7992	,2192
	n-heksana 2,5%	-,09333	,13818	1,000	-,6025	,4159
etil 5%	etil 2,5%	,18333	,13818	,988	-,3259	,6925
	air 2,5%	,28333	,13818	,754	-,2259	,7925
	ekst 2,5%	,10667	,13818	1,000	-,4025	,6159

	kontrol +	-,52333*	,13818	,039	-1,0325	-,0141
	n-heksana 5%	-,12667	,13818	1,000	-,6359	,3825
	air 5%	,21667	,13818	,953	-,2925	,7259
	ekst 5%	,07333	,13818	1,000	-,4359	,5825
	kontrol +	-,82333*	,13818	,000	-1,3325	-,3141
	n-heksana 10%	-,28333	,13818	,754	-,7925	,2259
	etil 10%	-,17000	,13818	,994	-,6792	,3392
	air 10%	,15667	,13818	,997	-,3525	,6659
	ekst 10%	,05000	,13818	1,000	-,4592	,5592
	kontrol +	-,41667	,13818	,204	-,9259	,0925
	n-heksana 2,5%	-,31000	,13818	,635	-,8192	,1992
	etil 2,5%	-,03333	,13818	1,000	-,5425	,4759
	air 2,5%	,06667	,13818	1,000	-,4425	,5759
	ekst 2,5%	-,11000	,13818	1,000	-,6192	,3992
	kontrol +	-,74000*	,13818	,001	-1,2492	-,2308
	n-heksana 5%	-,34333	,13818	,479	-,8525	,1659
	etil 5%	-,21667	,13818	,953	-,7259	,2925
air 5%	ekst 5%	-,14333	,13818	,999	-,6525	,3659
	kontrol +	-1,04000*	,13818	,000	-1,5492	-,5308
	n-heksana 10%	-,50000	,13818	,058	-1,0092	,0092
	etil 10%	-,38667	,13818	,300	-,8959	,1225
	air 10%	-,06000	,13818	1,000	-,5692	,4492
	ekst 10%	-,16667	,13818	,995	-,6759	,3425
	kontrol +	-,63333*	,13818	,005	-1,1425	-,1241

	n-heksana 2,5%	-,16667	,13818	,995	-,6759	,3425
	etil 2,5%	,11000	,13818	1,000	-,3992	,6192
	air 2,5%	,21000	,13818	,963	-,2992	,7192
	ekst 2,5%	,03333	,13818	1,000	-,4759	,5425
	kontrol +	-,59667*	,13818	,011	-1,1059	-,0875
	n-heksana 5%	-,20000	,13818	,975	-,7092	,3092
ekst 5%	etil 5%	-,07333	,13818	1,000	-,5825	,4359
	air 5%	,14333	,13818	,999	-,3659	,6525
	kontrol +	-,89667*	,13818	,000	-1,4059	-,3875
	n-heksana 10%	-,35667	,13818	,419	-,8659	,1525
	etil 10%	-,24333	,13818	,896	-,7525	,2659
	air 10%	,08333	,13818	1,000	-,4259	,5925
	ekst 10%	-,02333	,13818	1,000	-,5325	,4859
	kontrol +	-,49000	,13818	,069	-,9992	,0192
	n-heksana 2,5%	,73000*	,13818	,001	,2208	1,2392
	etil 2,5%	1,00667*	,13818	,000	,4975	1,5159
	air 2,5%	1,10667*	,13818	,000	,5975	1,6159
	ekst 2,5%	,93000*	,13818	,000	,4208	1,4392
	kontrol +	,30000	,13818	,681	-,2092	,8092
k+ 5%	n-heksana 5%	,69667*	,13818	,002	,1875	1,2059
	etil 5%	,82333*	,13818	,000	,3141	1,3325
	air 5%	1,04000*	,13818	,000	,5308	1,5492
	ekst 5%	,89667*	,13818	,000	,3875	1,4059
	n-heksana 10%	,54000*	,13818	,030	,0308	1,0492

	etil 10%	,65333*	,13818	,004	,1441	1,1625
	air 10%	,98000*	,13818	,000	,4708	1,4892
	ekst 10%	,87333*	,13818	,000	,3641	1,3825
	kontrol +	,40667	,13818	,233	-,1025	,9159
	n-heksana 2,5%	,19000	,13818	,984	-,3192	,6992
	etil 2,5%	,46667	,13818	,099	-,0425	,9759
	air 2,5%	,56667*	,13818	,018	,0575	1,0759
	ekst 2,5%	,39000	,13818	,288	-,1192	,8992
	kontrol +	-,24000	,13818	,904	-,7492	,2692
	n-heksana 5%	,15667	,13818	,997	-,3525	,6659
	etil 5%	,28333	,13818	,754	-,2259	,7925
n-heksana 10%	air 5%	,50000	,13818	,058	-,0092	1,0092
	ekst 5%	,35667	,13818	,419	-,1525	,8659
	kontrol +	-,54000*	,13818	,030	-1,0492	-,0308
	etil 10%	,11333	,13818	1,000	-,3959	,6225
	air 10%	,44000	,13818	,148	-,0692	,9492
	ekst 10%	,33333	,13818	,525	-,1759	,8425
	kontrol +	-,13333	,13818	,999	-,6425	,3759
	n-heksana 2,5%	,07667	,13818	1,000	-,4325	,5859
	etil 2,5%	,35333	,13818	,434	-,1559	,8625
	air 2,5%	,45333	,13818	,121	-,0559	,9625
etil 10%	ekst 2,5%	,27667	,13818	,782	-,2325	,7859
	kontrol +	-,35333	,13818	,434	-,8625	,1559
	n-heksana 5%	,04333	,13818	1,000	-,4659	,5525

	etil 5%	,17000	,13818	,994	-,3392	,6792
	air 5%	,38667	,13818	,300	-,1225	,8959
	ekst 5%	,24333	,13818	,896	-,2659	,7525
	kontrol +	-,65333*	,13818	,004	-1,1625	-,1441
	n-heksana 10%	-,11333	,13818	1,000	-,6225	,3959
	air 10%	,32667	,13818	,556	-,1825	,8359
	ekst 10%	,22000	,13818	,948	-,2892	,7292
	kontrol +	-,24667	,13818	,886	-,7559	,2625
	n-heksana 2,5%	-,25000	,13818	,876	-,7592	,2592
	etil 2,5%	,02667	,13818	1,000	-,4825	,5359
	air 2,5%	,12667	,13818	1,000	-,3825	,6359
	ekst 2,5%	-,05000	,13818	1,000	-,5592	,4592
	kontrol +	-,68000*	,13818	,002	-1,1892	-,1708
	n-heksana 5%	-,28333	,13818	,754	-,7925	,2259
air 10%	etil 5%	-,15667	,13818	,997	-,6659	,3525
	air 5%	,06000	,13818	1,000	-,4492	,5692
	ekst 5%	-,08333	,13818	1,000	-,5925	,4259
	kontrol +	-,98000*	,13818	,000	-1,4892	-,4708
	n-heksana 10%	-,44000	,13818	,148	-,9492	,0692
	etil 10%	-,32667	,13818	,556	-,8359	,1825
	ekst 10%	-,10667	,13818	1,000	-,6159	,4025
	kontrol +	-,57333*	,13818	,016	-1,0825	-,0641
ekst 10%	n-heksana 2,5%	-,14333	,13818	,999	-,6525	,3659
	etil 2,5%	,13333	,13818	,999	-,3759	,6425

	air 2,5%	,23333	,13818	,921	-,2759	,7425
	ekst 2,5%	,05667	,13818	1,000	-,4525	,5659
	kontrol +	-,57333*	,13818	,016	-1,0825	-,0641
	n-heksana 5%	-,17667	,13818	,991	-,6859	,3325
	etil 5%	-,05000	,13818	1,000	-,5592	,4592
	air 5%	,16667	,13818	,995	-,3425	,6759
	ekst 5%	,02333	,13818	1,000	-,4859	,5325
	kontrol +	-,87333*	,13818	,000	-1,3825	-,3641
	n-heksana 10%	-,33333	,13818	,525	-,8425	,1759
	etil 10%	-,22000	,13818	,948	-,7292	,2892
	air 10%	,10667	,13818	1,000	-,4025	,6159
	kontrol +	-,46667	,13818	,099	-,9759	,0425
	n-heksana 2,5%	,32333	,13818	,572	-,1859	,8325
	etil 2,5%	,60000*	,13818	,010	,0908	1,1092
	air 2,5%	,70000*	,13818	,001	,1908	1,2092
	ekst 2,5%	,52333*	,13818	,039	,0141	1,0325
	kontrol +	-,10667	,13818	1,000	-,6159	,4025
k+ 10%	n-heksana 5%	,29000	,13818	,726	-,2192	,7992
	etil 5%	,41667	,13818	,204	-,0925	,9259
	air 5%	,63333*	,13818	,005	,1241	1,1425
	ekst 5%	,49000	,13818	,069	-,0192	,9992
	kontrol +	-,40667	,13818	,233	-,9159	,1025
	n-heksana 10%	,13333	,13818	,999	-,3759	,6425

etil 10%	,24667	,13818	,886	-,2625	,7559
air 10%	,57333*	,13818	,016	,0641	1,0825
ekst 10%	,46667	,13818	,099	-,0425	,9759

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

Homogeneous Subsets

Zona Hambat

Tukey HSD^a

Konsentrasi Bahan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
air 2,5%	3	1,4267				
air 5%	3	1,4933	1,4933			
etil 2,5%	3	1,5267	1,5267			
air 10%	3	1,5533	1,5533			
ekst 2,5%	3	1,6033	1,6033			
ekst 5%	3	1,6367	1,6367	1,6367		
ekst 10%	3	1,6600	1,6600	1,6600		
etil 5%	3	1,7100	1,7100	1,7100		
n-heksana 2,5%	3	1,8033	1,8033	1,8033	1,8033	
n-heksana 5%	3	1,8367	1,8367	1,8367	1,8367	
etil 10%	3	1,8800	1,8800	1,8800	1,8800	
n-heksana 10%	3		1,9933	1,9933	1,9933	
kontrol +	3			2,1267	2,1267	2,1267

kontrol +	3				2,2333	2,2333
kontrol +	3					2,5333
Sig.		,121	,058	,069	,170	,233

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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