

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN
AIRDARI EKSTRAK METANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031**



Oleh:

**Tri Maryono
19133902 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK METANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.)
TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Tri Maryono
19133902 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP *Klebsiella Pneumoniae* ATTC 10031

Oleh :

**Tri Maryono
19133902 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 14 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Bekas,



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

Pembimbing Utama

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Penguji :

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si.
2. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt.
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

1.

3.

2.

4.

PERSEMBAHAN

Mencari ilmu itu adalah wajib bagi setiap muslim laki-laki maupun muslim perempuan (HR. Ibnu Abdil Barr)

Bukanlah suatu aib jika kamu gagal dalam suatu usaha, yang merupakan aib adalah jika kamu tidak bangkit dari kegagalan itu (Ali bin Abu Thalib)

Bersikaplah kukuh seperti batu karang yang tidak putus-putusnya dipukul ombak. Ia tidak saja tetap berdiri kukuh, bahkan ia menenteramkan amarah ombak dan gelombang itu (Marcus Aurelius)

Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua (Aristoteles)

Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat (QS : Al-Mujadilah 11)

*Kupersembahkan skripsi ini kepada :
Allah SWT
Keluargaku dan teman-temanku serta
Agama, almamater, bangsa dan negaraku tercita*

PERNYATAAN

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

Dan apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum

Surakarta, 06 Juni 2017



Tri Maryono

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 10031”** ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, 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.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya dan sabar untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Seluruh Staf Laboratorium 7, 8, 9 dan 13 Universitas Setia Budi yang telah memberikan petunjuk selama praktek untuk penelitian skripsi ini.
6. Kepala Perpustakaan beserta staf dan karyawan yang telah menyediakan buku literature yang membantu penelitian skripsi ini.
7. Keluargaku yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan do'a yang tiada akhir dan dukungan baik moril maupun materil selama ini.
8. Seluruh teman-temanku, terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 06 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.).....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama lain kenikir	5
3. Deskripsi tanaman	5
4. Kandungan kimia	6
4.1. Flavonoid.....	6
4.2. Saponin.....	6
4.3 Tanin atau Polifenol	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengeringan simplisia.....	7
3. Penyerbukan	8
C. Metode penyarian	8
1. Ekstraksi	8

2.	Metode ekstraksi.....	8
3.	Fraksinasi.....	9
4.	Pelarut.....	9
4.1	Metanol.....	9
4.2	<i>n</i> -heksana.....	10
4.3	Etil asetat.....	10
4.4	Air.....	10
D.	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	10
E.	Sterilisasi.....	11
F.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	12
1.	Sistematika bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	12
2.	Morfologi bakteri.....	12
G.	Aktivitas Antibakteri.....	13
1.	Antibakteri.....	13
2.	Metode pengujian aktivitas antibakteri.....	13
H.	Siprofloksasin.....	14
I.	Landasan Teori.....	14
J.	Hipotesis.....	16
 BAB III METODE PENELITIAN.....		18
A.	Populasi dan Sampel.....	18
1.	Populasi.....	18
2.	Sempel.....	18
B.	Variabel Penelitian.....	18
1.	Identifikasi variabel utama.....	18
2.	Klasifikasi variabel utama.....	18
3.	Definisi operasional variabel utama.....	19
C.	Bahan dan Alat.....	20
1.	Bahan.....	20
2.	Alat.....	20
D.	Jalannya Penelitian.....	20
1.	Identifikasi tanaman.....	20
2.	Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun kenikir.....	21
3.	Penetapan kadar air serbuk daun kenikir.....	21
4.	Pembuatan ekstrak metanol daun kenikir.....	21
5.	Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir.....	21
5.1.	Flavonoid.....	22
5.2.	Saponin.....	22
5.3.	Polifenol.....	22
6.	Fraksinasi dari ekstrak metanol daun kenikir.....	22
6.1.	Fraksinasi <i>n</i> -heksana daun kenikir.....	22
6.2.	Fraksinasi etil asetat daun kenikir.....	22
6.3.	Fraksinasi air daun kenikir.....	22
7.	Identifikasi makroskopis <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	22

8.	Identifikasi mikroskopis <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 dengan pewarnaan Gram	22
9.	Identifikasi <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 dengan uji biokimia.....	23
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	24
11.	Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir dengan metode difusi.....	25
12.	Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir dengan metode dilusi	25
13.	Identifikasi kandungan senyawa fraksi teraktif daun kenikir secara KLT	26
	13.1. Identifikasi flavonoid.	26
	13.2. Saponin.....	26
	13.3. Polifenol.	26
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		30
A.	Hasil Penelitian.....	30
1.	Determinasi daun kenikir	30
2.	Pengambilan bahan.....	30
3.	Pembuatan serbuk daun kenikir	30
4.	penetapan kadar air serbuk daun kenikir.....	31
5.	Pembuatan ekstrak maserasi daun kenikir.....	31
6.	Hasil uji bebas metanol ekstrak daun kenikir.....	32
7.	Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak daun kenikir	32
	7.1 Identifikasi flavonoid.	32
	7.2 Identifikasi Saponin.	32
	7.3 Identifikasi Polifenol.....	33
8.	Fraksinasi.....	33
9.	Identifikasi bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	34
	9.1 Metode goresan.	34
	9.2 Pewarnaan Gram negatif.....	35
10.	Identifikasi biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 ..	35
11.	Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara difusi	37
12.	pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara dilusi terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		41
A.	Kesimpulan.....	41
B.	Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA		42
LAMPIRAN.....		45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman daun kenikir	5
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak metanol daun kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.).....	27
Gambar 3. Skema kerja uji aktivitas daun ungu terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara difusi.	28
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth.) terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara dilusi	29

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kenikir.....	30
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kenikir.....	31
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun kenikir	31
Tabel 4. Hasil uji bebas metanol daun kenikir	32
Tabel 5. Hasil indentifikasi daun kenikir.....	32
Tabel 6. Rendemen fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air.....	34
Tabel 7. Hasil identifikasi biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	35
Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksinasi daun kenikir terhadap <i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 10031 secara difusi	37
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara dilusi terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara dilusi.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman kenikir	46
Lampiran 2. Gambar daun kenikir, kering dan serbuk	47
Lampiran 3. Gambar timbangan dan mesin penggiling simplisia	48
Lampiran 4. Gambar alat <i>Sterling-bidwell</i> dan botol maserasi.....	49
Lampiran 5. Gambar alat oven binder, <i>rotary evaporator</i> dan incubator, autoklaf	50
Lampiran 6. Gambar fraksi daun kenikir dan fraksinasi.....	51
Lampiran 7. Foto identifikasi kimia secara kualitatif dan uji bebas metanol	52
Lampiran 8. Gambar hasil identifikasi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i> ATTC 10031.	52
Lampiran 9. Foto hasil uji difusi ekstrak metanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air terhadap <i>Klebsiella pneumonia</i> ATTC 10031	54
Lampiran 10. Gambar uji dilusi antibakteri fraksi etil asetat daun kenikir terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 10031.....	57
Lampiran 11. Perhitungan rendemen simplisia daun kenikir	60
Lampiran 12. Perhitungan kadar air.....	60
Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi daun kenikir Rendemen ekstrak maserasi daun kenikir	61
Lampiran 14. Pembuatan seri konsentrasi larutan uji metode difusi Pembuatan seri konsentrasi ekstrak metanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air dari daun kenikir.....	63
Lampiran 15. Perhitungan konsentrasi fraksi etil asetat secara dilusi	65
Lampiran 16. Cara dan pembuatan media	68
Lampiran 17. Analisa data uji ANOVA antara ekstrak metanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% pada bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 10031	73

INTISARI

MARYONO, T., 2017, AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK METANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunt.) TERHADAP *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031.

Serbuk daun kenikir dimaserasi dengan metanol, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dan ekstrak diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5% dan Metode dilusi, dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,2%; 3,1%; 1,5%; 0,7%; 0,3%; 0,1%; 0,09% terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dan ekstrak daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia* metode difusi menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% fraksi dan ekstrak memberikan daya hambat yang paling besar daya hambat masing-masing fraksi *n*-heksana 8,5 mm, etil aetat 21,2 mm, air 16,3 mm dan ekstrak 15,8mm dan metode dilusi terhadap fraksi teraktif fraksi etil asetat nilai KBM 25 %, berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% merupakan fraksi teraktif.

Kata kunci: *Cosmos caudatus* Kunt., *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, antibakteri, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air.

ABSTRACT

MARYONO, T., 2017, AKTIBAKTERIAL ACTIVITY TEST OF FRACTION *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER OF METHANOL LEAF EXTRACT (*Cosmos caudatus* Kunth.) AGAINST BACTERIAL *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Cosmos leaves (*Cosmos caudatus* Kunth.) contain flavonoid, saponin, volatile oil and alkaloid. The purpose of this study was to determine the activity of *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, the fraction of water and ethanol extracts of leaves of Cosmos (*Cosmos caudatus* Kunth.) as an antibacterial against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Cosmos leaves powder macerated with methanol, and then fractionated using *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvents. Methanol extract, *n*-hexane, ethyl acetate, and water fractions were tested antibacterial activity using diffusion method with concentrations of 50%; 25%; 12,5 and dilution method with concentrations of 50.0%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.56%; 0.78%; 0.390%; 0.195% of the bacteria *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

The results showed that the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate, water, and *Cosmos* leaf extract has antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* the diffusion method shown that at a concentration of 50% the fraction and extract provide the inhibition that most large power resistor of each fraction *n*-hexane 18,5 mm, ethyl acetate 21,2 mm, water 16,3 mm and extract 15,8 mm and the method of dilution on the fraction of the most active ethyl acetate fraction of the value of KBM 25% based on the above results it can be concluded that the ethyl acetate fraction at a concentration of 50% is fraction of most active.

Keywords: *Cosmos caudatus* Kunth., *Klebsiella pneumoniae* 10031, antibacterial, the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, the fraction of water.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang berupa ratusan jenis tumbuhan obat. Tumbuhan obat ini telah dimanfaatkan dalam proses penyembuhan dan pencegahan penyakit. Peranan pengobatan tradisional perlu ditingkatkan dengan upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat atau keamanan suatu tanaman obat (Sudewo 2004).

Saat ini obat tradisional semakin populer dan lebih diminati oleh masyarakat Indonesia, dikarenakan obat tradisional selain harganya murah juga memiliki efek samping yang relatif ringan apabila dibandingkan dengan obat kimia sehingga hal ini diperkuat dengan ketersediaan sumber bahan obat alam yang banyak ditemukan di Indonesia, sehingga mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan secara optimal sehingga obat tradisional juga menjadi pilihan pengganti atau pengobatan alternatif untuk penyembuhan penyakit di dalam masyarakat Indonesia (Setiawan 2008).

Kenikir adalah tumbuhan tahunan yang berbatang pipa dengan garis-garis yang membujur. Tingginya dapat mencapai 1 m dan daunnya bertangkai panjang dan duduk daunnya berhadapan, sehingga terbagi menyirip menjadi 2-3 tangkai. Baunya seperti damar apabila diremas, bunganya tersusun pada bongkol yang banyak terdapat diujung batang dan pada ketiak daun-daun teratas, berwarna orange berbintik-bintik kuning ditengah-tengahnya, dan bijinya berbentuk paruh.

Tanaman yang berpotensi dikembangkan adalah kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.). Tanaman kenikir memiliki kandungan kimia pada bagian daun dan akar (Fuzzati *dkk* 1995). Bagian daun mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Bagian akar mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol. Tesfitokimia daun kenikir yang diekstrak menggunakan metanol dan pelarut lain menunjukkan adanya senyawa aktif flavonoid, saponin dan polifenol yang berpotensi sebagai antibakteri (Rasdi *dkk* 2010).

Bacteria *K. pneumonia* ATCC 10031 merupakan bakteri patogen, Gram negatif berbentuk batang (basil), non motil (tidak bergerak). *K. pneumonia* ATCC 10031 dapat menimbulkan penyakit pada saluran urin karena infeksi nosokomial, meningitis, dan pneumonia pada penderita diabetes mellitus dan pecandu alkohol. Gejala *pneumoniae* yang disebabkan oleh bakteri ini berupa gejala demam akut, malaise (lesu), dan batuk kering, kemudian batuknya menjadi produktif dan menghasilkan sputum berdarah dan *purulent* (nanah). Bila penyakitnya berlanjut, dapat terjadi abses, nekrosis jaringan paru, bronchiectasi dan fibrosis paru-paru. *K. pneumonia* dapat menyebabkan gangguan saluran pernafasan dan saluran pencernaan (Dorland 1996). *K. pneumoniae* adalah kuman Enterobacteriaceae yang dapat menimbulkan penyakit infeksi. bentuk klinis penyakit infeksi oleh *K. pneumoniae* ini adalah infeksi *nosokomial*, terutama pada penderita dengan Diabetes Melitus, Penyakit Paru Obstruktif Kronik, alkoholik (Jong 1995). Selain itu *K. pneumoniae* termasuk dalam tiga besar kuman gram negatif penyebab febrile neutropenia (Margono 2006).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani 2014).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam botol maserasi yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian dari metode maserasi ini adalah, pengerjaan lama dan penyarian kurang sempurna secara

teknologi ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan (Depkes RI 2000)

Metode fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan. Golongan senyawa dipisahkan ke dalam pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu nonpolar, semipolar dan polar. Pelarut *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar yang dapat melarutkan lemak dan asam lemak tinggi, steroid, terpenoid dan karotenoid. Kloroform merupakan senyawa semipolar, pelarut semipolar dapat melarutkan alkaloid basa, damar, minyak lemak dan minyak atsiri. Air merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, saponin dan gula (Depkes 2003).

Berdasarkan latar belakang diatas penulis ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kenikir terhadap bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031 dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat maupun daya bunuh terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak metanol fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 ?

Kedua, berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air ekstrak metanol daun kenikir sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031?

Ketiga, manakah dari ketiga fraksi yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Kedua, mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air ekstrak metanolkenikirterhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Ketiga, Mengetahui aktivitas tertinggi terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dari ketiga fraksi.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi, tentang aktivitas dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun kenikir sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 sehingga dapat digunakan untuk obat tradisional yang sangat efektif, mudah penggunaannya murah dan efek samping minimal atau kecil.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.)

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman kenikir adalah sebagai berikut :

Divisi	:Spermatophyta
Sub divisi	:Angiospermae
Kelas	:Dicotyledonae
Bangsa	:Asterales
Suku	:Asteraceae
Marga	:Cosmos
Jenis	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth.



Gambar 1. Tanaman kenikir

2. Nama lain kenikir

Masyarakat Indonesia umumnya mengenal tanaman ini dengan nama kenikir. Tapi masyarakat Sumatera menyebutnya dengan Ulam raja (Melayu).

3. Deskripsi tanaman

Perdu dengan tinggi 75-100 cm dan berbau khas. Batang tegak, segi empat, beralur membujur, bercabang banyak, beruas berwarna hijau keunguan. Daunnya majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25 cm, berwarna hijau. Bunga majemuk, bentuk bongkol, di ujung batang, tangkai panjang \pm 25 cm, mahkota terdiri dari 8 daun mahkota, panjang \pm

1 cm, merah, benang sari bentuk tabung, kepala sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, merah. Buahnya keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda berwarna hijau setelah tua coklat. Biji keras, kecil, bentuk jarum, panjang \pm 1 cm, berwarna hitam. Akar tunggang dan berwarna putih.

4. Kandungan kimia

Salah satu tumbuhan obat yang umum dijumpai sebagai tanaman liar ialah kenikir. Daun kenikir dapat dikonsumsi sebagai sayuran, untuk obat penambah nafsu makan, penguat tulang dan mengobati gastritis (Uyub *dkk* 2010). Tanaman yang berpotensi dikembangkan adalah kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) tanaman kenikir memiliki kandungan kimia pada bagian daun dan akar (Fuzzati *dkk* 1995). Pada bagian daun flavonoid, saponin, dan polifenol. Akarnya mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol. Tes fitokimia melalui creening juga menyebutkan bahwa pada daun kenikir mengandung terpenoid, alkaloid, dan saponin (Liliwirianis 2011).

4.1. Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida, larut dalam air. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan (Harborne 2006). Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenol, diduga mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Suatu substansi yang dapat mendenaturasikan protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi *irreversible* sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan & Mulyani 2004).

4.2. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Terdapat dua jenis saponin yaitu triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping. Saponin bersifat spermisida, antibakteri, antiperadangan dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay & Rahardja 2002).

4.3 Polifenol. Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya (Waghorn *dkk* 2003). Tanin atau polifenol dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme rumen dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Dalimartha 2005). Mekanisme kerja antibakteri tannin/polifenol juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri dapat mati (Sari *dkk* 2011)

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu.

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa tanaman pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dan untuk menjamin keawetan dan mencegah timbulnya bakteri serta jamur. Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung. Cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, biji dan simplisia dengan kandungan senyawa aktif yang relatif stabil apabila terkena panas.

Pengeringan alamiah lainnya adalah dengan cara diangin-anginkan dan tidak dipanaskan di bawah sinar matahari langsung. Cara ini terutama untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga dan daun. Pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan alat pengering yang harus diperhatikan adalah jenis bahan, suhu pengeringan, dan waktu pengeringan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Penyerbukan

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu (Depkes RI 2000). Selanjutnya ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks, infus, digesti, dekok dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Syamsuni 2006).

C. Metode penyarian

Penyarian kandungan kimia yang sangat kompleks dengan tanaman obat umumnya diperlukan beberapa tahap proses pemisahan. Metode yang lazim digunakan sebagai berikut :

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes 2000) Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes 1979).

2. Metode ekstraksi

Metode maserasi (*macerace* : mangairi, melunakkan) merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari dapat menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif dapat larut akan adanya perbedaan konsentrasi. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, air-etanol atau pelarut lain.

Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana. Simplisia ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyari. Maserasi dilakukan selama 5 hari, terlindung dari cahaya dan sesekali dikocok. Setelah 5 hari disaring, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian (Agoes 2007).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu golongan utama yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut secara selektif dapat memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian disari pelarut kurang polar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harbone 2006).

4. Pelarut

Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, beraksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari atau pelarut ada tiga macam yaitu pelarut polar, semi polar dan nonpolar, contoh cairan penyari adalah air, *n*-heksana, etil asetat (List 2000).

4.1 Metanol. Metanol juga dikenal sebagai metal alcohol, wood alcohol atau spiritus adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dari pada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan additive bagi etanol industri. Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anerobik oleh bakteri. Hasil proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol tersebut dapat

teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbon dioksida dan air (Hikmah & Zuliyana 2010).

4.2 *n*-heksana. *n*-heksana merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih; terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatil, mudah terbakar, dan bau karakteristik. *n*-heksana tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, eter. Uapnya mudah meledak bila berkaitan dengan udara, maka sebaiknya disimpan pada tempat yang dingin. Pelarut ini adalah nonpolar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, tritepenoid, serta karetenoid (Kristijono 2008).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah. Etil asetat larut dalam 15 bagian air, dapat tercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Etil asetat ialah pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah yang tertutup rapat serta terhindar dari panas. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antraknon dan xanton (Harborne 2006).

4.4 Air. Air dimanfaatkan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap dan terbakar, tidak beracun serta alamiah. Air dapat melarutkan gula, gom, pati, protein, enzim, lender, lilin, lemak peptida, minyak menguap, garam alkaloid, zat warna, dan asam organik (List 2000). Pemilihan pelarut air pada penelitian ini karena pelarut air memiliki nilai tetapan dielektrik yang lebih besar dibandingkan pelarut polar lainnya seperti metanol dan etanol yaitu sebesar 78,5. Semakin besar nilai tetapan dielektrik dari pelarut tersebut semakin bersifat polar (Khopkar 2003).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan dan alat uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, maupun dari tanaman dan mikroorganisme.

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode yang mudah penggunaannya, murah, dan selektif, walaupun sekarang telah dikembangkan (Sumarno 2000). Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorbs dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorban) dan fase gerak (eluen), komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan.

Fase diam dalam KLT adalah suatu bahan yang dibuat dari bahan berbutir-butir yang ditempatkan pada lempengan. Sifat-sifat umum dari penyerap untuk KLT adalah ukuran partikel dengan homogenitasnya. Ukuran partikel yang biasa digunakan adalah 1–25 mikron, partikel yang ukurannya sangat kasar tidak dapat memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk meningkatkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus (Sastrohamidjoyo 1991).

Fase gerak merupakan medium yang terdiri dari satu atau lebih pelarut. Fase gerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori karena adanya gaya kapiler tersebut menyebabkan pelarut merambat naik keatas sehingga terjadi proses pemisahan campuran cuplikan (Stahl 1985).

E. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008). Bahan atau peralatan yang dipergunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan

mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 2005).

F. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae termasuk genus *Klebsiella* dalam family Enterobacteriaceae yang merupakan penghuni normal *traktus digestivus*. Kuman ini dapat diisolasi dari tinja manusia atau hewan. Pada manusia, genus *Klebsiella* dapat merupakan kuman penyebab *pneumoniae*, disamping infeksi lain diluar sistim pernapasan misalnya : infeksi saluran kemih, infeksi *nosokomial* atau infeksi yang diperoleh dari RS (Joko Susilo *dkk* 2004)

Bacteria *K. pneumoniae* dianggap sebagai spesies patogen dan menjadi penyebab utama *pneumoniae*. Bacteria *K.pneumoniae* merupakan bakteri patogen, gram negatife yang berbentuk batang (basil), oportunistik, bakteri yang non motil (tidak bergerak), *K. pneumoniae* dapat memfermentasikan laktosa. Pada test dengan indol, *K. pneumoniae* dapat menunjukkan hasil negatif. *K. pneumoniae* dapat mereduksi nitrat. *K. pneumoniae* pertama kali ditemukan oleh *Carl Friedlander*. *Carl Friedlander* adalah patologis dan mikrobiologis dari Jerman yang membantu penemuan bakteri penyebab *pneumoniae* pada tahun 1882. *Carl Friedlander* adalah orang yang pertama kali mengidentifikasi bakteri *K. pneumonia* dari paru-paru orang yang meninggal karena *pneumoniae*.

1. Sistematika bakteri *klebsiella pneumonia ATCC 10031*

Sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
 Clas : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales
 Family : Eubacteriaceae
 Genus : Klebsiella (Dwijoseputro 1984).

2. Morfologi bakteri

K. pneumoniae adalah kuman berbentuk batang pendek Gram-negatif yang dapat membentuk rantai.pembiakan yang tidak cocok (misalnya terkena penisilin) dapat terjadi filament yang panjang. Koloni *K. pneumoniae* besar, sangat mukoid

dan cenderung bersatu pada pengeramnya yang lama. *K. pneumoniae* meragikan juga banyak karbohidrat, tetapi variasi antara strain-strainnya sangat besar.

G. Aktivitas Antibakteri

1. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis ke dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein sel, dan menghambat sintesis/merusak asam nukleat sel mikroba. Uji potensi antibakteri mempunyai tujuan mengukur aktivitas antibakteri dari suatu senyawa kimia terhadap bakteri. Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan, jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *dkk* 2012).

2. Metode pengujian aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.

Metode difusi dilakukan dengan menggunakan cakram (disk) kertas saring, sumuran atau silinder. Metode kertas cakram saring berisi sejumlah obat ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelumnya digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *dkk* 2011).

Metode dilusi ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat dan mematikan (Jawetz *dkk* 2012).

H. Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar dan spectrum yang lebih luas dibanding asam tersebut.

Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (ADN) bakteri dengan memblokir sub unit A enzim ADN-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa ADN bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *P. Mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp*. Dosis oral untuk infeksi saluran seni dan saluran napas : 250-500 mg 2 dd, selama 7 hari. Untuk infeksi saluran cerna : 500 mg 1 dd, selama 7 hari (Siswandono & Soekardjo 2008). Penggunaan antibiotik Siprofloksasin sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri (Meinisasti dkk 2015).

I. Landasan Teori

Kenikir adalah tumbuhan tahunan yang berbatang pipa dengan garis-garis yang membujur. Tingginya dapat mencapai 1 m dan daunnya bertangkai panjang dan duduk daunnya berhadapan, sehingga terbagi menyirip menjadi 2-3 tangkai. Baunya seperti damar apabila diremas. Bunganya tersusun pada bongkol yang banyak terdapat diujung batang dan pada ketiak daun-daun teratas, berwarna oranye berbintik-bintik kuning ditengah-tengahnya, dan bijinya berbentuk paruh.

Tanaman kenikir memiliki kandungan kimia pada bagian daun dan akar (Fuzzati dkk 1995). Pada bagian daun saponin, flavonoid dan polifenol. akarnya mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol. Tes fitokimia melalui crening juga menyebutkan bahwa pada daun kenikir mengandung terpenoid, alkaloid, dan saponin (Liliwirianis 2011).

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki akitivitas sebagai antijamur, antibakteri dan antivirus (Robinson 1995). Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida, larut dalam air. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan mendenaturasi protein (Harborne 2006).

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Terdapat dua jenis saponin yaitu triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Saponin bersifat spermisida, antibakteri, antiperadangan dan memiliki aktivitas sitotoksik (Tjay & Rahardja 2002).

Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya (Waghorn *dkk* 2003). Tanin atau polifenol dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme rumen dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Dalimartha 2005). Mekanisme kerja antibakteri tanin atau polifenol juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri dapat mati (Sari *dkk* 2011)

Fraaksinasi dilakukan untuk pemisahan komponen senyawa berdasarkan kepolaran pelarut. Jumlah dan jenis senyawa yang setelah dipisahkan dapat terjadi fraksi yang berbeda. *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar yang melarutkan senyawa nonpolar. Senyawa nonpolar yang dapat larut dalam *n*-heksana seperti sterol, fenil propanoid, alkaloid, dan triterpenoid (Robinson 1995). Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang melarutkan senyawa semi polar. Senyawa yang dapat larut dalam etil asetat seperti flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakinon dan xanton (Harbone 2006). Air merupakan pelarut polar yang melarutkan senyawa polar seperti garam alkaloid, tanin dan gula, lilin, zat warna, dan asam organik (Depkes 1986).

Penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi terhadap bakteri 2 Gram positif *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan Bakteri gram negatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan 1 jamur: *Candida albicans* oleh dengan menggunakan metode difusi disk.

K. pneumoniae ATCC 10031 adalah kuman berbentuk batang pendek Gram-negatif yang dapat membentuk rantai, pembiakan yang tidak cocok (misalnya terkena penisilin) dapat terjadi filamen yang panjang. Koloni *klebsiella* besar, sangat mukoid dan cenderung bersatu pada pengeramnya yang lama. *K. pneumoniae* meragikan juga banyak karbohidrat, tetapi variasi antara strain-strainnya sangat besar.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi berdasarkan pengamatan (konsentrasi hambat minimum). Metode difusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cakram yang berliang renik atau silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan yang telah ditanami dengan biakan bakteri. Luas daerah hambatan jernih obat dianggap sebagai ukuran keluasan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *dkk* 2011).

Metode dilusi ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diisolasi terhadap bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan (Jawetz *dkk* 2012).

J. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Kedua, Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol

daun kenikir dalam menghambat *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 dapat ditentukan dari hasil penelitian.

Ketiga, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenikir yang diambil dari Karanganyar, Jawa tengah.

2. Sempel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenikir. Daun yang digunakan daun yang berwarna hijau yang masih segar yang kemudian dikeringkan serta dibuat serbuk dan diambil dari Jaten, Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak metanol daun kenikir.

Variabel kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dari ekstrak metanol daun kenikir terhadap bakteri *K. pneumonia* ATCC 10031

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah berbagai konsentrasi fraksi yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap *K. pneumonia* ATCC 10031.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabeltergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara

tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bakteri uji *K. pneumonia* ATCC 10031, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkas, alat, serta bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, pemilihan daun, dan metode ekstraksi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *K. pneumonia* ATCC 10031 di media uji, yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak metanol daun kenikir

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, tanaman kenikir adalah tumbuhan tahunan yang berbatang pipa dengan garis-garis yang membujur. Tingginya dapat mencapai 1 m dan daunnya bertangkai panjang. Pengambilan sampel adalah daun yang utuh, berwarna hijau dan masih segar yang diambil secara acak dari daerah karanganyar.

Kedua, serbuk daun kenikir adalah daun kenikir yang dipetik kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, setelah itu dikeringkan dengan panas cahaya matahari, kemudian dihaluskan dan diayak.

Ketiga, ekstrak metanol daun kenikir adalah hasil ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10 yang direndam selama 5 hari dan sesekali digojog kemudian dipekatkan sampai bebas metanol.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah hasil fraksi dari ekstrak metanol daun kenikir yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar sehingga didapat fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah fraksi yang diperoleh dari residu etil asetat dari dengan menggunakan air sebagai pelarut polar sehingga didapat fraksi air.

Ketujuh, *K. pneumonia* ATCC 10031 adalah bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Delapan, uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur zona hambat pertumbuhan jamur yang terbentuk. Metode dilusi adalah metode yang digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dengan membuat berbagai seri konsentrasi dengan cara penapisan sampai konsentrasi akhir.

Kesembilan, Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh *K. pneumoniae* ATCC 10031 dengan cara melihat pertumbuhan *K. pneumoniae* ATCC 10031.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kenikir, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *Brain Heart Infusion* (BHI), *sulfur indol motility* (SIM), *Kliger's Iron Agar* (KIA), *Lysin Iron Agar* (LIA), Sitrate, *n*-heksana, etil asetat, air, aquadest steril, DMSO 5%, *Mc Farland* 0,5, HCl, CH₃OH,amil alkohol, pereaksi Meyer, *Muller Hinton Agar* (MHA), *Mac conkey* (MCA).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu erlenmeyer, pembakar spiritus, kasa, kaki tiga, selang, corong kaca, penangas air, timbang analitis, tabung reaksi, gelar ukur, pipet volum, labu takar, inkas, jarum-ose, pinset, rak tabung, ayakan no 40, oven, seperangkat alat vacum rotary evaporator, cawan petri, *Sterling bidwell*, plat KLT, sinar UV 254 dan 366 nm, autoklaf, inkubator, kotak septis, beaker glass, pipet ukur dan batang pengaduk.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dalam tahap penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun tanaman kenikir dengan acuan buku, serta dibuktikan di Laboratorium Biologi Farmasi.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun kenikir

Pembuatan serbuk daun kenikir dilakukan dengan cara daun kenikir dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun kenikir yang sudah bersih dipotong–potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven pada suhu 50⁰C selama 3 hari. Daun kenikir yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun kenikir yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sampai penyarian berlangsung seara efektif.

3. Penetapan kadar air serbuk daun kenikir

Penetapan kadar air serbuk daun kenikir dilakukan dengan menggunakan alat *sterling bidwell*. Caranya dengan ditimbang serbuk daun kenikir sebanyak 20 gram, dimasukan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut *xylene* sampai serbuk terendam, kemudian pasang alat *sterling bidwell*, lalu dipanaskan dengan api kecil setelah mendidih dihentikan bila tetesan sudah tidak ada air yang menetes, kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *sterling bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut.

4. Pembuatan ekstrak metanol daun kenikir

Pembuatan ekstrak maserasi daun kenikir : serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan pelarut metanol dengan perbandingan 1 : 10. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojojok, setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas dengan menggunakan corong *Buchner*. Filtrat dikumpulkan untuk dievaporasi menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* (RVE) untuk menghilangkan sisa pelarut.(Depkes 2008).

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kenikir

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk kenikir. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

5.1. Flavonoid. Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dilarutkan dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 g serbuk Mg, dan 5 tetes HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan warna jingga (Setyowati *et al* 2014).

5.2. Saponin. Identifikasi dilakukan dengan dimasukkan 0,5 g sampel dalam tabung reaksi, ditambah 10 ml air panas, kemudian didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Saponin positif terbentuk bila terbentuk buih setinggi 1-10 cm pada penambahan HCl buih tidak hilang (Setyowati *et al.* 2014).

5.3 Polifenol. Polifenol adalah sebanyak 0,5 gram sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml larutan FeCl₃ 10%, lalu dikocok kuat samapi homogen. Jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan, menunjukkan adanya senyawa polifenolat (Robinson 1995).

6. Fraksinasi dari ekstrak metanol daun kenikir

6.1. Fraksinasi *n*-heksana daun kenikir. Fraksi *n*-heksana daun kenikir dibuat dengan cara ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dilarutkan dengan air lalu difraksinasi dengan pelarut nonpolar *n*-heksana dalam corong pisah. Filtrat *n*-heksana dipisahkan dari filtrat yang bawah air, sehingga didapat fraksi *n*-heksana.

6.2. Fraksinasi etil asetat daun kenikir. Fraksi etil asetat daun kenikir dibuat dengan cara fraksinasi dari residu *n*-heksana difraksi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar dalam corong pisah. Fraksi yang diatas (fraksi etil asetat).

6.3. Fraksinasi air daun kenikir. Fraksi air daun kenikir dibuat dengan cara fraksinasi dari residu etil asetat, kemudian didapat fraksi air.

7. Identifikasi makroskopis *K. pneumonia* ATCC 10031

Suspensi bakteri uji *K. pneumoniae* diisolasi pada media diferensial *Mac konkay* (MCA) dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila koloni koloni kecil sampai besar, berwarna merah muda sampai merah tua, cembung dan mucoid.

8. Identifikasi mikroskopis *K. pneumonia* ATCC 10031 dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, karena merupakan tahapan penting dalam

langkah identifikasi. Pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau tipisnya lapisan peptidoglikan di dinding sel dan banyak sedikitnya lapisan lemak pada membran bakteri. Jenis bakteri berdasarkan pewarnaan gram dibagi menjadi dua yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel tebal, sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel tipis yang berada di antara dua lapisan membran sel. Prosedur pewarnaan Gram pertama buat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi kemudian tambahkan kristal violet sebagai pewarna utama diamkan sejenak sekitar 1 menit cuci dengan aquades mengalir teteskan mordan (lugol iodine) lalu diamkan sejenak sekitar 1 menit cuci dengan aquades mengalir beri larutan pemucat (etanol 96 % atau aseton) setetes demi tetes hingga etanol yang jatuh berwarna jernih. Jangan sampai terlalu banyak cuci dengan aquades mengalir kemudian tambahkan *Counterstain* (safranin) dan diamkan selama \pm 45 detik cuci dengan aquades mengalir keringkan preparat dengan tissue yang ditempelkan di sisi ulasan (jangan sampai merusak ulasan) lalu diamkan mengering. Jika dilihat bawah mikroskop, bakteri berbentuk batang basil dan dapat berwarna merah, karena kehilangan kompleks warna *karbol gentian violet iodium* dengan pembilasan alkohol.

9. Identifikasi *K. pneumonia* ATCC 10031 dengan uji biokimia

Pertama *sulfur indol motility* (SIM). Media SIM adalah perbenihan semi solid yang dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H₂S, indol dan motility dari bakteri. Hampir semua bakteri *Klebsiella* membentuk indol kecuali tipe pneumonia dan *ozaenae*. Motility negatif sesuai dengan morfologi klebsiella yang tidak memiliki flagella. Sedangkan pembentukan H₂S juga tak terlihat pada semua jenis *klebsiella*, hasil positif bila berbentuk warna merah setelah pertumbuhan reagen *Erlich*, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

Kedua uji *Kliger's Iron Agar* (KIA). Pengujian media KIA dilakukan dengan mengamati pada bagian lereng, dasar, ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam. Biakan bakteri diinokulasi secara tusuk gores kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Amati adanya warna kuning pada bagian lereng dan pada bagian dasar, perubahan adanya media yang pecah atau terangkat ke atas

menunjukkan adanya gas, warna media yang tidak berubah warna hitam menunjukkan uji sulfida negatif.

Ketiga uji *Lysin Iron Agar* (LIA). Pengujian media LIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar, dan adanya sulfida. Biakan bakteri ditanamkan pada bagian media LIA yang dapat diamati dengan cara isolasi tusuk dan gores, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati adanya perubahan warna merah coklat ungu, atau kuning pada bagian lereng dan dasar media LIA. Perubahan warna hitam pada media LIA menunjukkan uji sulfida positif.

Keempatsitrat. Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Uji sitrat menggunakan indikator *bromthymol blue*. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri dan terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang disebabkan oleh peningkatan pH medium di atas 7,6 karena adanya ammonia yang dihasilkan yang berasal dari *monoammonium phosphate* yang terdapat pada medium. Biakan diinokulasi pada media simmon sitrat agar dengan inokulum yang tipis kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Jika hasil positif terjadi perubahan warna indikator dari hijau menjadi biru yang bermakna pertumbuhan bakteri pada medium sitrat menghasilkan keadaan alkalis dan bakteri telah menggunakan sitrat. *K. pneumoniae*. Dapat memberikan reaksi positif terhadap penggunaan sitrat (Elmer 2006).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *K. pneumoniae* dalam biakan murni diambil 2 ose steril kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang sudah berisi 5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI). NaCl steril digunakan untuk mengencerkan suspensi bakteri sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar *Mc. Farland* 0,5 (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan *Mc. Farland* mempunyai populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dengan tujuan untuk mendapatkan bakteri yang lebih banyak, selanjutnya identifikasi bakteri.

11. Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir dengan metode difusi

Sediaan ekstrak metanolik dan ketiga sediaan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun kenikir diuji aktivitas antibakteri terhadap *K. pneumoniae* menggunakan metode difusi. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dibuat masing-masing tiga konsentrasi yaitu 50 %, 25%, dan 12,5% dan kontrol negatif menggunakan DMSO 5%. Bakteri uji diinokulasi pada media MHA yang berada dalam cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril yang telah dicelupkan dalam biakan bakteri. Kapas lidi diusapkan pada seluruh media hingga rata secara aseptis, kemudian diamkan 10 menit agar suspensi biakan terdifusi ke media. pipet larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air kemudian ditambahkan dalam kertas cakram yang telah disterilkan dan dipreinkubasi pada suhu kamar selama \pm 20 menit.

Kertas cakram dari semua konsentrasi kemudian diletakkan diatas media, sebagai kontrol positif diletakkan pula kertas cakram antibiotik siprofloksasin dan sebagai kontrol negatif diletakkan pula kertas cakram yang telah ditetesi dengan DMSO 5%. Replikasi dilakukan tiga kali. Masa inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk.

12. Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir dengan metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari sediaan yang dapat menghambat bakteri. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 11 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan bahan uji dimasukkan dalam masing-masing tabung reaksi kecuali kontrol positif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 50,%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,390%; 0,195%. Masing-masing tabung diisi 0,5 ml media BHI dari tabung 2 sampai 11, secara aseptik, ke dalam tabung 1 ditambahkan 1,0 ml larutan stock ekstrak yang akan diperiksa, kemudian tabung 2 dimasukkan ke dalam 0,5 ml larutan stock, kemudian dari tabung 2 dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 3 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian

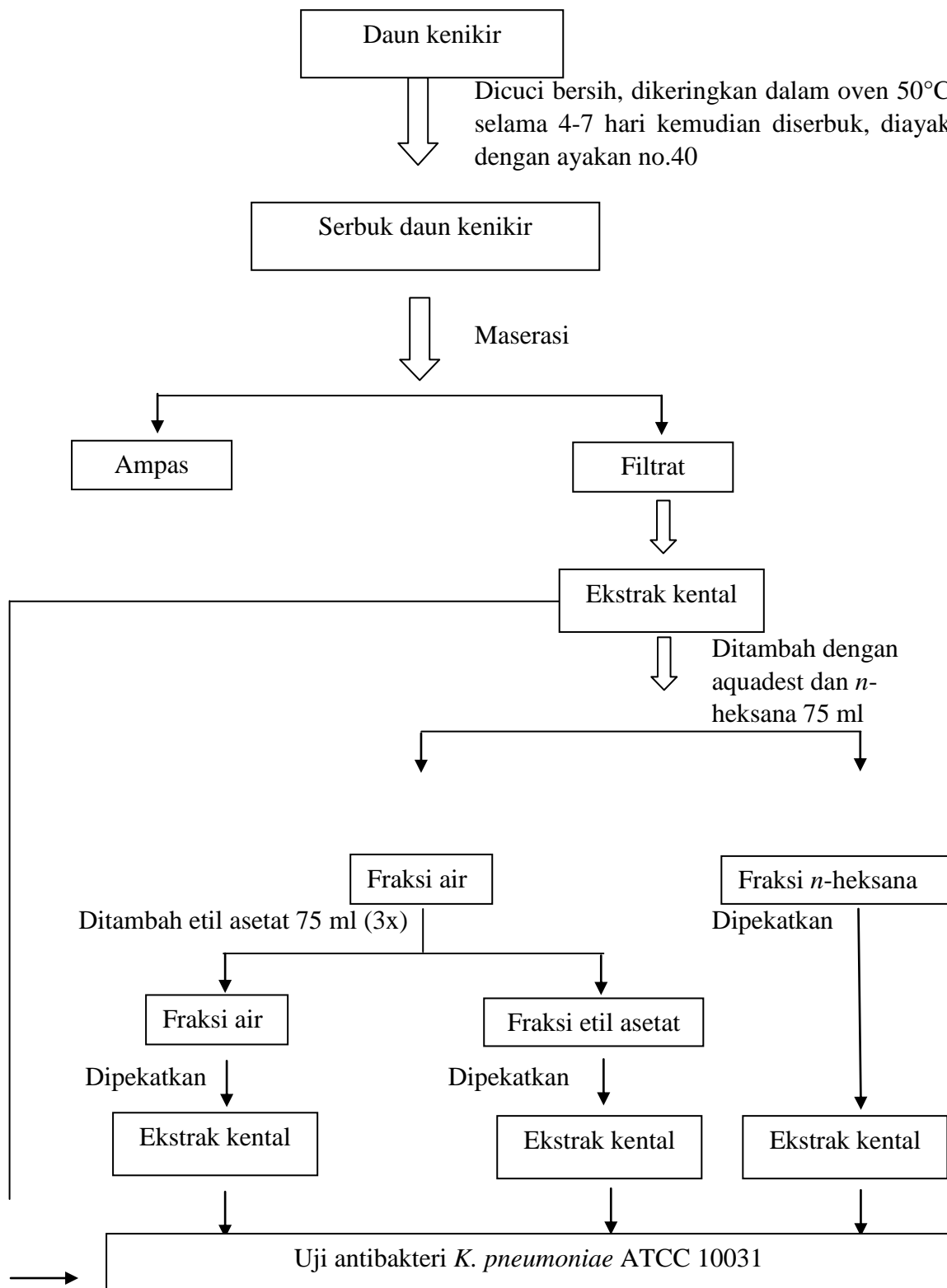
dibuang, tambahkan 0,5 ml biakan yang akan diperiksa yang telah diencerkan 1:1000 dari biakan yang telah dieramkan dari tabung 2 sampai tabung 11. Tabung 9 dimasukkan bakteri sebanyak 1 ml. Tabung terakhir berlaku sebagai kontrol positif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat batas terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif MCA diinkubasi pada suhu kamar 37⁰C selama 18-24 jam. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan dengan 3 kali replikasi.

13. Identifikasi kandungan senyawa fraksi teraktif daun kenikir secara KLT

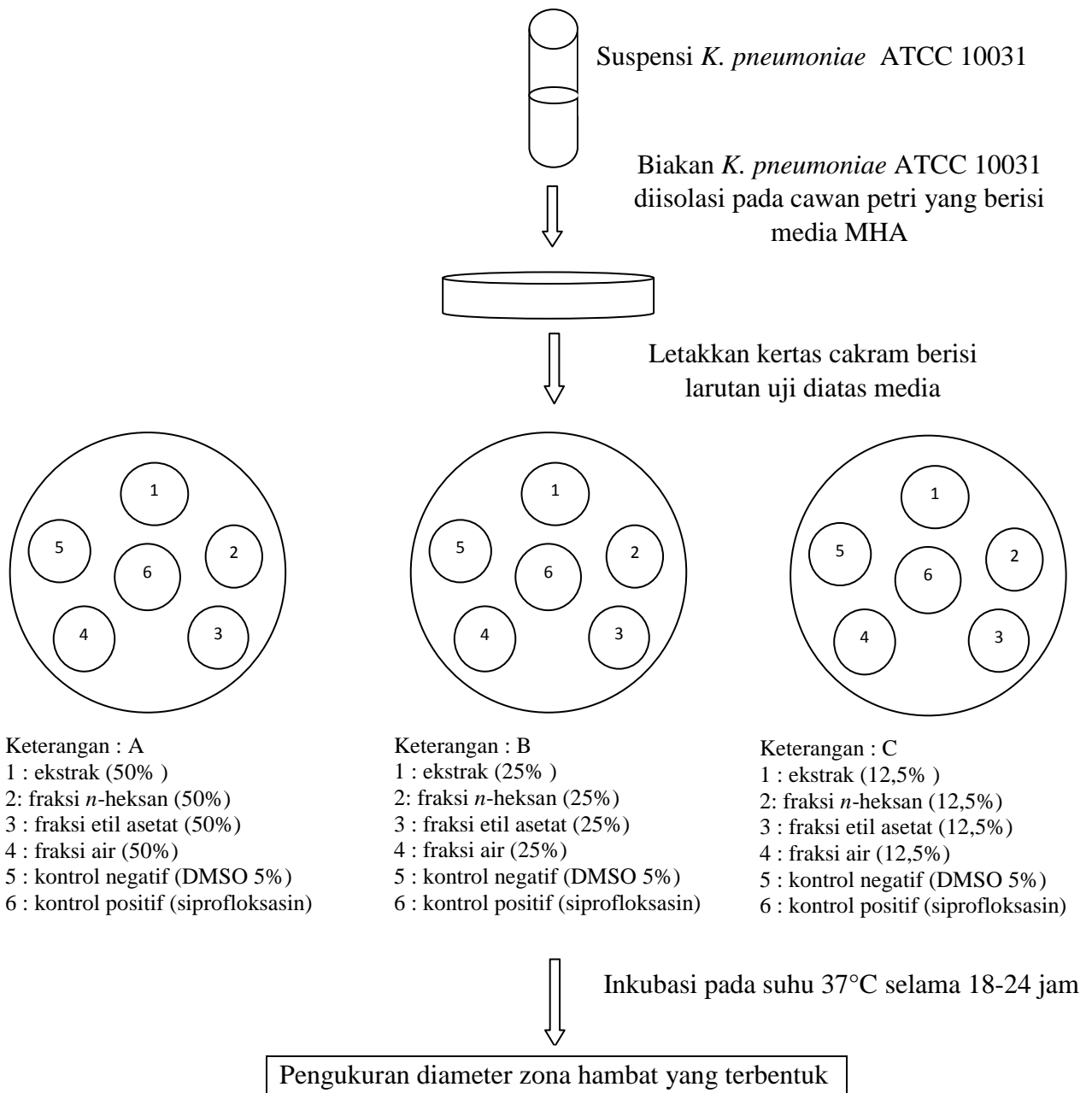
13.1. Flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan Fase diam : Silika gel GF 254, Fase gerak : heksan : etil asetat : asam formiat (6 : 4 : 0,2), pembanding : quersetin 10 mg / 1 ml etanol , deteksi : Sitroborat (Setyowati *dkk* 2014).

13.2. Saponin. Hasil identifikasi senyawa saponin menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) dengan pereaksi semprot Liberman Bourchardat (LB).

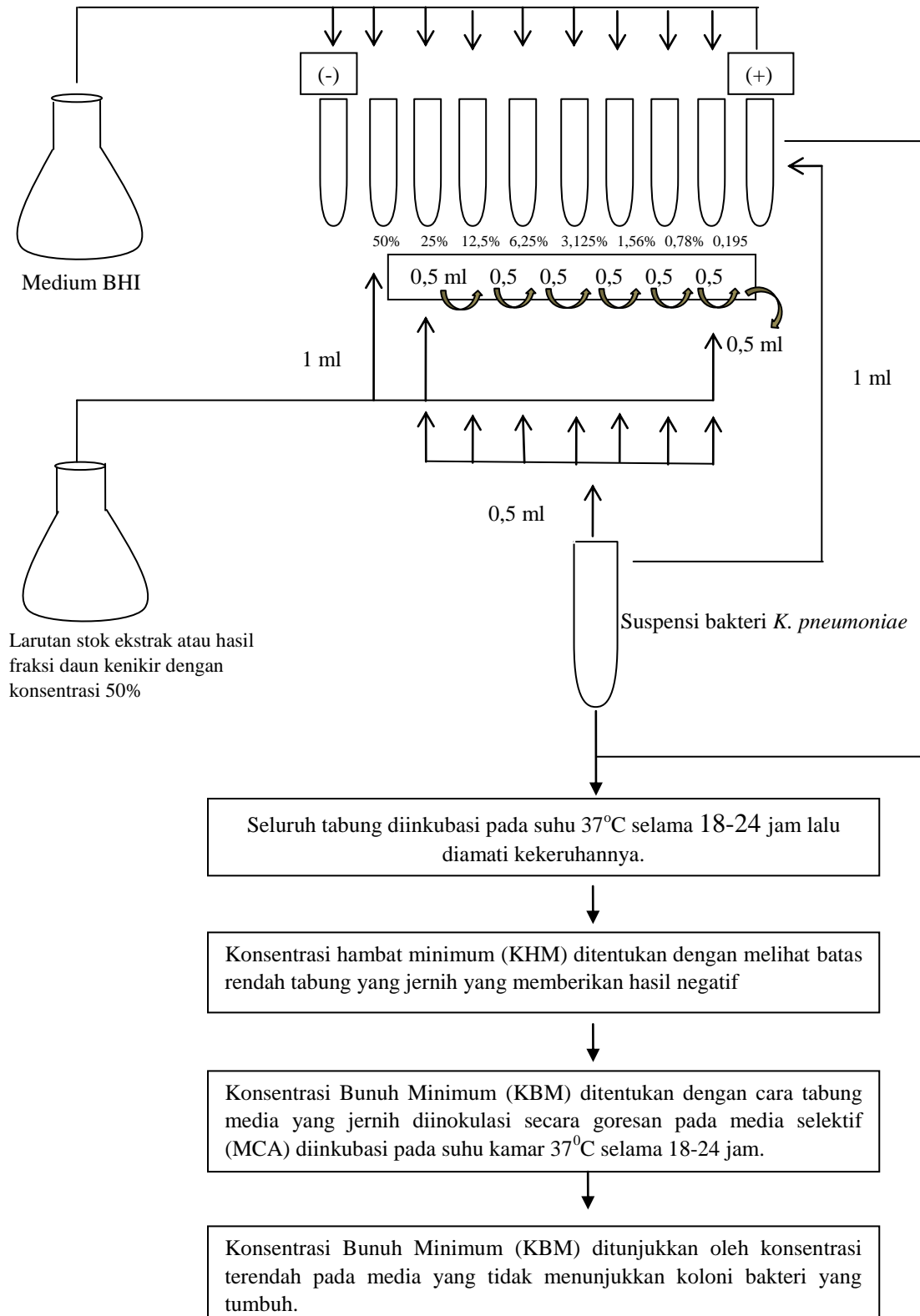
13.3. Polifenol. Fase diam : Silika gel GF 254, Fase gerak : Etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5), Pembanding : asam galat 10 mg / 1 ml etanol, Deteksi : FeCl₃



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunt.)



Gambar 3. Skema kerja uji aktivitas daun kenikir terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031 secara difusi.



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunt.) terhadap bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031 secara dilusi

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi daun kenikir

Determinasi tanaman dimaksudkan untuk mencocokkan kebenaran sampel daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang dapat digunakan dengan mencocokkan ciri morfologi tanaman yang dapat diteliti dengan determinasi supaya dapat menghindari kesalahan dari tanaman yang digunakan untuk penelitian. Determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Sebelas Maret, disimpulkan bahwa tanaman yang dapat digunakan adalah daun kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth.) Hasil identifikasi dapat di lihat di lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Sampel daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) yang diambil secara acak dengan memilih daun yang masih segar dan berwarna hijau diambil di daerah Jaten, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2017, daun kenikir diambil pada waktu sore hari dikarenakan daun kenikir pada saat sore hari kandungan senyawa daun kenikir terkumpul seperti flavonoid, saponin dan polifenol.

3. Pembuatan serbuk daun kenikir

Daun kenikir segar yang berbobot 8000 gram dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran, ditiriskan, dikeringkan, kemudian dioven pada suhu 50°C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar tidak mudah ditumbuhi oleh kapang atau bakteri (Gunawan & Mulyani 2004). Daun kenikir yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun kenikir yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. serbuk yang didapatkan yaitu 1200 gram.

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kenikir

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
8000	1200	15

4. Penetapan kadar air serbuk daun kenikir

Metode penetapan kadar air daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan menggunakan *Sterling-bidwell* setelah didestilasi dengan *xylene*. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kenikir dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun kenikir

No	Penimbangan	Volume pada skala (ml)	Kadar air %
1	20	1,70	8,5
2	20	1,60	8
3	20	1,60	8
Rata-rata			8,16

Berdasarkan tabel 2 hasil hitungan kadar air serbuk daun kenikir yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan prosentase kadar air 8,16%. Kadar air tidak boleh lebih dari 10%, kadar air yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Air merupakan media tumbuhnya mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Berdasarkan dari penetapan kadar air serbuk daun kenikir dapat disimpulkan bahwa serbuk daun kenikir ini memenuhi syarat karena prosentase kadar air serbuk daun kenikir kurang dari 10%. Perhitungan penetapan kadar air daun kenikir dapat dilihat pada lampiran 13.

5. Pembuatan ekstrak maserasi daun kenikir

Serbuk daun kenikir yang ditimbang sebanyak 900 gram dimasukkan dalam botol coklat yang berukuran 10.000 ml, ditambah metanol sebanyak 7500 ml lalu ditutup dan dikocok kemudian dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil dikocok kemudian hasil maserasi disaring dan diperas dengan kain flannel dan dipisahkan dengan metode *evaporator* dengan suhu tidak melebihi 60°C dan menghasilkan ekstrak pekat.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun kenikir

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (b/b%)
900	162,21	18,02

Prosentase rendemen ekstrak maserasi daun kenikir yang diperoleh sebanyak 18,02%. Organoleptis ekstrak warna hijau tua, bentuk kental. Ekstrak tersebut kemudian dilakukan fraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Hasil perhitungan ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada lampiran 17.

6. Hasil uji bebas metanol ekstrak daun kenikir

Ekstrak metanol daun kenikir diuji alkoholnya dengan melakukan uji esterifikasi alkohol.

Tabel 4. Hasil uji bebas metanol daun kenikir

Uji bebas methanol	Hasil pengamatan	Pustaka
Ekstrak daun kenikir + asam sulfat pekat + asam asetat, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas dari etil asetat (bebas metanol)	Tidak tercium bau ester yang khas dari etil asetat

Hasil uji bebas metanol menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir sudah bebas dari metanol, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etil asetat.

7. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak daun kenikir

Tabel 5. Hasil indentifikasi daun kenikir

Senyawa	Hasil percobaan	Hasil pustaka	Keterangan
Flavanoid	Warna jingga	Terjadiwarna jingga (setyowati <i>et al</i> 2014).	Positif
Saponin	Terjadi buih setelah pengocokan	Buih mantap selama tidak kurang 10 menit (setyowati <i>et al</i> 2014).	Positif
Polifenol	Warna ungu	Terjadi warna hitam kehijauan (Robinson 1995).	Positif

Pada hasil uji tabung ekstrak daun kenikir positif mengandung flavonoid, saponin, dan polifenol. Selanjutnya dapat dipastikan kembali dengan uji identifikasi senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Identifikasi kandungan senyawa ekstrak metanol daun kenikir dilakukan secara analisis kualitatif dengan metode (KLT).

7.1 Identifikasi flavonoid. Dengan menggunakan flavonoid fase diam Silila gel GF 254, fase gerak *n*-heksana : etil asetat : asam formiat (6 : 4 : 0,2), Pembanding : quersetin 10 mg / 1 ml etanol , deteksi : Sitroborat

7.2 Identifikasi saponin. Identifikasi adanya senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya fase gerak kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) dengan pereaksi *semprot Liberman Bourchardat* (LB) Senyawa saponin akan terlihat ungu atau noda gelap pada sinar

UV 254 nm dan UV 366 nm. Pada sinar tampak bercak berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau atau kuning coklat

7.3 Identifikasi Polifenol. Fase diam : silica Gel GF 254, fase gerak : etil asetat : asam formiat : toluen : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5), pembanding : asam galat 10 mg / 1 ml etanol, deteksi : FeCl_3 .

8. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu golongan utama, pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran (Harborne 2006).

Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat kepolarannya, hukum “*like dissolve like*” menyatakan bahwa senyawa kimia tertentu hanya larut pada pelarut yang mampu melarutkan senyawa tersebut. Fraksinasi dilakukan dengan ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Fraksi *n*-heksana, hasil sediaan ekstrak maserasi yang telah dipekatkan ditimbang 10 gram kemudian diemulsikan dengan air sebanyak 75 ml diambil bagian yang larut air dan dipisahkan di corong pisah. Residu yang didapatkan dilakukan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Residu dari fraksinasi *n*-heksana dipisahkan di corong pisah dengan menambahkan etil asetat 75 ml sehingga didapat fraksi etil asetat dan air lalu dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Pengulangan dimaksudkan untuk meningkatkan efisiensi dari proses penyarian senyawa. penyarian yang baik diperoleh apabila jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar 2003). Hasil rendemen fraksi dapat dilihat pada tabel 6 dan perhitungan pada lampiran 13.

Tabel 6. Rendemen fraksin-heksana, etil asetat dan air

Pelarut	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (%)	Rendemen %
<i>n</i> -heksana	10	1,49	14,9
	10	2,23	22,3
	10	2,22	22,2
	10	1,50	15,0
	10	1,61	16,0
	10	2,21	22,1
	Rata – rata	1,876	18,76
Etil asetat	10	1,21	12,1
	10	1,26	12,6
	10	1,12	11,2
	10	1,32	13,2
	10	1,11	11,1
	10	1,15	11,5
	Rata – rata	1,195	11,95
Air	10	1,84	18,4
	10	1,63	16,3
	10	1,93	19,3
	10	2,12	21,2
	10	1,77	17,7
	10	2,13	21,3
	Rata – rata	1,903	19,03

Berdasarkan hasil rendemen pada tabel 6, fraksinasi ekstrak metanol daun kenikir menunjukkan kandungan senyawa terlarut dalam fraksi polar lebih banyak dibanding senyawa semipolar dan nonpolar. Hasil rendemen yang berbeda dari tiap fraksi berkaitan dengan banyaknya senyawa yang terkandung didalam daun kenikir.

9. Identifikasi bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031

9.1 Metode goresan. Identifikasi *K. pneumoniae* ATCC 10031 yang diisolasi pada media *Mac conkey* (MCA) kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil ditunjukkan oleh koloni besar-besar, berwarna merah muda sampai merah tua, cembung dan mukoid. Pada media *Mac conkey* mengandung laktosa dan merah netral sebagai indikator, sehingga bakteri yang meragikan laktosa akan tumbuh sebagai koloni berwarna merah yang dapat membedakan dari bakteri yang tidak meragikan laktosa yang tumbuh sebagai bakteri yang tidak berwarna. *Klebsiella* tumbuh sebagai koloni yang berwarna merah muda namun tidak dapat meragikan laktosa secara sempurna. Gambar hasil identifikasi makroskopis *K. pneumoniae* dapat dilihat pada lampiran 7.

9.2 Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram menggunakan 4 jenis reagen, Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (Etanol: aseton =1 : 1), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan/ penutup). Bakteri Gram positif dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga ketika diamati dengan mikroskop akan menunjukkan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif tidak akan mempertahankan warna ungu kristal violet, tetapi zat safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan berwarna merah. Prinsip dari metode ini adalah didasarkan pada perbedaan struktur pada dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang sangat tebal, tersusun oleh sebagian besar peptidoglikan yang dapat mengikat warna dan tidak rusak setelah penambahan Gram C sehingga dapat mempertahankan warna kristal violet. Bakteri Gram negatif berwarna merah karena memiliki dinding sel yang relatif tipis, membran luar dilapisi oleh lipopolisakarida dan tidak dapat mempertahankan zat warna, sehingga pada saat penambahan Gram C warna dari kristal violet luntur dan sewaktu diberi pewarnaan Gram D maka bakteri akan tampak berwarna merah (Jawetz *et al.* 2008). Hasil identifikasi dengan pewarnaan gram dapat dilihat pada lampiran 6.

10. Identifikasi biokimia *K. pneumoniae* ATCC 10031

Hasil Uji biokimia pada *K. pneumoniae* ATCC 1003 dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar hasil identifikasi dapat dilihat dalam lampiran 8.

Tabel 7. Hasil identifikasi biokimia *K. pneumoniae* ATCC 10031

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

Pengujian pada medium *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dengan media Sulfida Indol Motilitas (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil negatif artinya pada uji sulfida *K. Pneumoniae* tidak terbentuk cincin merah

pada media setelah ditambahkan dengan Reagen *Erlich*, motilitas positif karena pertumbuhan bakteri (Hadi sutawijaya 2012).

Pengujian pada medium *Kliger's Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan medium KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil A/AGS (-), A/A artinya pada lereng dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa dan laktosa, karena bakteri tersebut mengubah indikator fenol merah menjadi kuning, G artinya terbentuk gas yang ditandai dengan terangkatnya media, S (-) artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media KIA.

Medium *Lysin Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan 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 mendeakarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media LIA dan tidak terbentuk warna hitam, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan hidrogen sulfida uji media LIA dipaksa untuk mengetahui terbentuknya *Lisin Dekarboksilasi* (LDC) dengan ditunjukkan warna ungu.

Pengujian pada medium sitrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan medium sitrat setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal, didalam media sitrat terdapat indikator *Bromo Thynol Blue* (BTB) yang merupakan indikator ph, jika mikroba mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari media biakan, sehingga menyebabkan peningkatan ph dan mengubah wana media dari hijau menjad biru. Uji positif ditunjukkan dengan adanya warna biru pada media. hasil uji biokimia *K. pneumoniae* dapat dilihat pada lampiran 8.

11. Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara difusi

Ekstrak metanol daun kenikir dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031. Pengujian ini dilakukan menggunakan sediaan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dengan pembanding kontrol positif Siprofloksasin dan kontrol negatif DMSO 5%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dengan waktu inkubasi 18-24 jam dengan suhu 37⁰C daerah jernih di antara cakram yang tidak ditumbuhi bakteri menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun kenikir memiliki daya hambat terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031. Hasil luas daerah hambat pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksinasi daun kenikir terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 secara difusi

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Fraksi <i>N</i> -heksana	50%	10	9	9,8	9,6 ± 0,707
Fraksi Etil asetat	50%	21	20	20,5	20,5 ± 0,707
Fraksi Air	50%	14,8	14	14	14,3 ± 0
Ekstrak	50%	15	15	14	14,7 ± 0,577
Fraksi <i>N</i> -heksana	25%	8	7	8	7,6 ± 0,577
Fraksi Etil asetat	25%	19,2	19	18	18,7 ± 0,707
Fraksi Air	25%	12	13,5	12	12,5 ± 0
Ekstrak	25%	12	13	12	12,3 ± 0,577
Fraksi <i>N</i> -heksana	12,5%	7,6	7	6	6,87 ± 0,707
Fraksi Etil asetat	12,5%	18	18	17,2	17,7 ± 0
Fraksi Air	12,5%	10,7	11,3	10,2	10,7 ± 0,778
Ekstrak	12,5%	9,5	9	10	9,5 ± 0,707
Kontrol (+)	5%	28	28	28	28 ± 0
Kontrol (-)	5%	0	0	0	0 ± 0

Keterangan :
 Kontrol (-) : DMSO 5%
 Kontrol (+) : siprofloksasin

Perhitungan *Kolmogorov- Smirnov test* diperoleh Signifikansi = 0,055 (H_0 diterima), disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan

ANOVA one way nilai probabilitas maka H_0 tidak diterima yang artinya keempat sampel memiliki Hasil tabel Homogenous Subsets menunjukkan keempat sampel terbagi 3 subset, hasil daya hambat ekstrak dan fraksi *n*-heksana tidak menunjukkan perbedaan yang nyata karena berada dalam satu subset. sedangkan fraksi air, fraksi etil asetat dan siprofloksasin tidak menunjukkan perbedaan yang nyata karena berada dalam satu subset dapat dilihat pada lampiran 17.

Dari uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan air memiliki aktivitas antibakteri lebih baik dibanding fraksi lainnya. Namun dilihat dari tabel pada uji difusi fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang paling efektif terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031 dibandingkan fraksi fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Daya hambat fraksi etil asetat yang terbesar pada konsentrasrsi 50% karena fraksi etil asetat dapat menarik senyawa yang terkandung dalam daun kenikir yaitu flavonoid dan polifenol diameter hambat paling efektif didapat pada konsentrasi yaitu 50%. Fraksi *n*-heksana dan fraksi air kurang optimal dalam menarik senyawa yang bersifat antibakteri pada daun kenikir sehingga didapatkan daya hambat yang lebih kecil dibanding fraksi etil asetat. Penggunaan antibiotik siprofloksasin lebih efektif digunakan dimasyarakat dibanding dengan hasil ekstrak maupun fraksi dari daun kenikir terhadap *K. pneumoniae* hasil difusi dapat dilihat pada lampiran 9.

12. Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara dilusi terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

Pengujian aktivitas antibakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Mainimum (KBM), dengankonsentrasi larutan masing-masing 50,%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,390%; 0,195%; kontrol (+) dan kontrol negatif (-).

Aktivitas antibakteri dapat diketahui dari kekeruhan pada tabung percobaan lalu kemudian di goreskan pada media agar. Hasil menunjukan

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit diamati karena warna sampel yang digunakan keruh, sehingga dilanjutkan dengan penggoresan pada media agar.

Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau seri pengenceran. Metode ini bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat fungistatik dan fungisid. Konsentrasi minimal fungistatik dapat diketahui dari tabung jernih pada konsentrasi pengenceran tinggi, jika digoreskan pada media (MCA) akan tumbuh koloni. *K. pneumoniae* ATCC 10031 dan dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Pengujian aktivitas antibakteri daun kenikir secara dilusi terhadap bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031 secara dilusi

Konsentrasi % Fraksi etil asetat	Replikasi		
	1	2	3
Kontrol (-) fraksi etil asetat	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,390%	+	+	+
0,195%	+	+	+
Kontrol (+) suspensi bakteri	+	+	+

Keterangan :

(+) : ada pertumbuhan koloni bakteri

(-) : tidak ada pertumbuhan koloni bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031 dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Konsentrasi bunuh minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan mengisolasi sediaan dari tabung uji pada medium *Mac conkey* (MCA) pada cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada medium *Mac conkey* (MCA) dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *K. pneumoniae* ATCC 10031.

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap *K. pneumoniae* ATCC 10031. secara dilusi dilakukan 2 kali replikasi. Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 50,%; 25%; 12,5%; 6,25%;

3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,390%; 0,195%; kontrol -, dan kontrol +. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil KHM daun kenikir tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dapat dilihat dari pengujian fraksi terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasikan pada media *Mac conkey* (MCA) dengan dilihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031. pada media MCA. Fraksi etil asetat konsentrasi hambat minimum 25 %.

Fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif. Hasil tersebut diduga disebabkan oleh adanya kandungan senyawa semipolar di fraksi etil asetat yang lebih optimum dibandingkan senyawa di dalam fraksi *n*-heksana dan fraksi air daun kenikir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* ATCC 10031, sehingga diduga aktivitas antibakteri yang efektif dari fraksi etil asetat daun kenikir adalah flavonoid dan polifenol.

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi protein (enzim) pada membran sel (Rinawati 2011). Selain itu, flavonoid juga mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013).

Polifenol memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga permeabilitas dinding sel bakteri dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim. (Ajizah dkk 2004)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031.

Kedua, konsentrasi Hambat Minimum metode (difusi) menunjukkan bahwa ekstrak metanol fraksi etil asetat memiliki aktifitas antibakteri paling aktif terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 dengan konsentrasi 50% dengan daya hambat yang dihasilkan 21 mm.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun kenikir mempunyai aktivitas antibakteri *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 terhadap dengan Konsentrasi Bunuh Minimum adalah 25%.

Keempat, fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mempunyai aktivitas antibakteri teraktif terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan bakteri lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan menggunakan pelarut dan metode yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G. 2007. Teknologi Bahan Alam, ITB Press Bandung. *Cytotoxicity of Selected Medicinal Plant Extracts from Penang Island Malaysia on* .
- Ajizah A. 2004. *sensivitas salmonella Typhimurim terhadap Ekstrak Daun psidium guajava L.Bioscientiae. 1(1)*
- [CCRC] Cancer chemoprevention research center, kenikir (*cosmos caudatus* Kunt), <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>, diakses (10 November 2016).
- Dalimarta S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta : Trubus agriwidya. hlm 170, 198, 214.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial*. Problematika dan Pengendaliannya. Jakarta : Salemba Medika.
- Denyer Stephen P, Norman A. Hodges, and Sean P Gorman. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. 7th. Victoria. Australia : Blackwell. Science. hlm. 346-363.
- Depkes RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen kesehatan RI. 2008. *Pengelolaan pasca panen tanaman obat*. Balai penelitian pengembangan Tanaman obat dan oba Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2003. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid VI. Jakarta : Depkes RI. hlm 76-77.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. Sediaan Galenik, Departemen Kesehatan
- Ditjen POM, Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Diakses (9 November 2016).
- Dorland. 1996. *Kamus kedokteran*. Edisi 26. Jakarta : EGC
- Elmer GW, Mc Farland LV. 2011. *Biotherapeutic Agents in the Treatment of Infectious Diarrhea*. Gastroenterology Clinics.
- Gunawan D. dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya. Hlm 1-7, 9- 13, 86-94, 104-122.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntunan dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Edisi III. Bandung : ITB.

- Ismarani. 2012. *potensi senyawa tanin dalam menunjang produksi ramah lingkungan*. Jurnal Agribisnis dan pengembangan wilayah. Vol 3 .Hal. 46
- Jawetz Melnick JL, and Adelberg E. editor 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. edisi bahasa Adisti adityaputri et al. Jakarta : EGC.
- Joko Susilog. 2007. *Kurikulum Tingkat Satuan Pendidikan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Jong GM, Hsive TR, Chen GR, Chang H, Chen C. 1995. *Rapidly Fatal Outcome of Bacteremic Klebsiella pneumoniae Pneumonia in Alcoholics*. Chest ; 107 : 214-7.
- Juliantina F, Dewa AC, Bunga N, Titis, Endrawati TB. 2008. *Manfaat Sirih Merah (piper crocatum) sebagai Agen anti Bakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif*. Jurnal kedokteran dan kesehatan Indonesia.
- Khopkar. SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Terjemahan A. Saptorahardjo, Edisi pertama, UI Press, Jakarta.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri : Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya.
- Liliwirianis N, Musa NLW, Zain WZWM, Kasim J & Karim SA. 2011. 'Preliminary studies of phytochemical screening of ulam and fruit from Malaysia', *E-Journal of Chemistry* 8(1): pp.285-288.
- List PH, Schmidt PC. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih bahasa David Ellaby. Florida : CRC Press. hlm. 67. 71. 73. 107-111
- Margono. 2006. *Pemilihan Antibiotika pada Febrile Netropenia*. Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan VIII ilmu Penyakit Paru. p.215. Metronidazole Resistant *Helicobacter pylori* and Some Pathogenic Bacteria. *Ethnobotany Research & Applications*. 8 : 95-106.
- Mukhriani. 2014. *ekstraksi pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif*. Jurnal kesehatan Volume VII No. 2. Makassar : Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin.
- Rasdi NHM. dkk. 2010 *antimicrobial studies of Cosmos caudatus Kunt. (compositae)*. Vol 4 (8) Republik Indonesia, Jakarta.
- Resva Meinisasti, Auzal Halim, & Erizal Zaini. 2015. *Karakterisasi Fisikokimia Sistem Biner Sipprofloksasin HCl – PEG 4000*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. Vol. 02 No. 01. Bengkulu : Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Sari, Yeni Dianita dkk. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak Annona Muricata*
- Sastrohamidjoyo H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Satrohamidjojo H. 2004. *Senyawa flavonoid*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. Hal : 13-14.
- Setiawan D. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Penerbit Dinamika Media. hlm 23-25.
- Setyowati WAE, Ashadi Ariani SRD, Mulyani B. Dan Rahmawati CP. 2014. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk. Prosiding Seminar Nasiona Kimia dan Pendidikan Kimia VI.*
- Siswandono dan Soekardjo B. 2008. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Hlm128.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung : ITB.
- Sumarno. 2000. *Kromatografi Teori Dasar*. Yogyakarta : bagian Kimia Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung : ITB.
- Sudewo. 2004. *Tanaman Obat populer*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta : Paps Sinar Sinanti.
- Syamsuni. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Halaman 133.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting*. Edisi Kelima. Jakarta : PT. Elex Media Komputindo.
- Uyub AM, Nwachukwu IN, Azlan AA & Fariza SS. 2010. *In-vitro Antibacterial Activity and*
- Volk dan Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid I. Jakarta : Erlangga.

\mathcal{L}
 \mathcal{A}
 \mathcal{M}
 \mathcal{P}
 \mathcal{I}
 \mathcal{R}
 \mathcal{A}
 \mathcal{N}

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman kenikir



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail: biologi@mpa.uns.ac.id

Nomor : 039/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Hanim Faudiyah
NIM : 19133921A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Cosmos caudatus* Kunth
Familia : Asteraceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a 166. Asteraceae
1b-3b-33b-41a-42a-43a-44b-45b-46b-47b-48b-49b-54b-55b-56b-57b-58b-59b 69. *Cosmos*
1b-2b-3a *Cosmos caudatus* Kunth

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, aromatis ketika diremas, tinggi 0.6-2.5 m. Akar : tunggang, bercabang, coklat kotor atau putih kotor atau putih kekuningan hingga putih susu. Batang : segiempat ketika muda dan bulat ketika dewasa, sedikit berkayu, sedikit bercabang, permukaan batang gundul hingga sedikit berambut dan beralur membujur, warna hijau. Daun : berhadapan, daun bagian bawah menyirip 3-4 atau berbagi menyirip 3-4 sedangkan daun bagian atas tidak terlalu berbagi, bertangkai panjang, helaian daun bentuk bulat telur memanjang, panjang 4-20 cm, lebar 3-15 cm, ujung runcing, tepi berbagi, pangkal runcing hingga tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun berwarna hijau tua, permukaan bawah daun berwarna hijau muda, gundul; anak daun berbentuk lanset hingga garis, lebar anak daun 2-8 mm, permukaan gundul; daun penumpu tidak ada. Bunga : majemuk bentuk bongkol (*capitulum*), terletak di ketiak daun atau ujung batang, dilindungi oleh daun pembalut (*involucrum*), daun pembalut (*involucrum*) bentuk lonceng, terdiri atas 8 helai, tersusun menyirip seperti genting, seringkali menghasilkan kelenjar dan lengket, warna hijau; dasar bunga (*receptaculum*) rata, dengan sisik-sisik seperti jerami; ibu tangkai bunga gundul hingga sedikit berambut, panjang 5-22 cm; bunga tepi 8, dalam satu lingkaran, berkelamin dua (banci), mahkota bunga berbentuk pita, memanjang hingga bulat telur terbalik dengan ujung bergigi 3, panjang 1-1.5 cm, lebar 0.5 cm, berwarna merah atau ungu; bunga tengah berjumlah banyak, berkelamin dua (banci), mahkota berbentuk tabung, tinggi 1 cm, bertaju 5, pucuk dengan ujung berwarna kuning, tabung kepala sari coklat kehitaman, tangkai putik bercabang 2, runcing, bagian luar berambut panjang. Buah : kering, keras, kotak silindris memanjang, panjang 1-3 cm, beralur dan berparuh 2-3, panjang paruh 1-1.5 mm, coklat kehitaman. Biji : kecil, pipih, warna hitam.

Surakarta, 1 Februari 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

Lampiran 2. Gambar daun kenikir, kering dan serbuk



Foto daun kenikir

Foto pengeringan daun kenikir



Foto serbuk daun kenikir

Lampiran 3. Gambar timbangan dan mesin penggiling simplisia



Timbangan



Penggiling simplisia

Lampiran 4. Gambar alat *Sterling-bidwell* dan botol maserasi



Foto *Sterling-bidwell*



Foto botol maserasi

Lampiran 5. Gambar alat oven binder, *rotary evaporator* dan inkubator, autoklaf



Foto oven binder



Alat *rotary evaporator*



Foto incubator



Foto Autoklaf

Lampiran 6. Gambar fraksi daun kenikir dan fraksinasi



fraksi *n*-heksana

fraksi Etil Asetat
















fraksi Air



Foto proses fraksinasi

Lampiran 7. Foto identifikasi kimia secara kualitatif dan uji bebas metanol

Serbuk, ekstrak fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun kenikir

Sampel	Serbuk	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi Air
Flavonoid					
Saponin					
Polifenol					

Uji bebas methanol



Lampiran 8. Hasil identifikasi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATTC 10031.

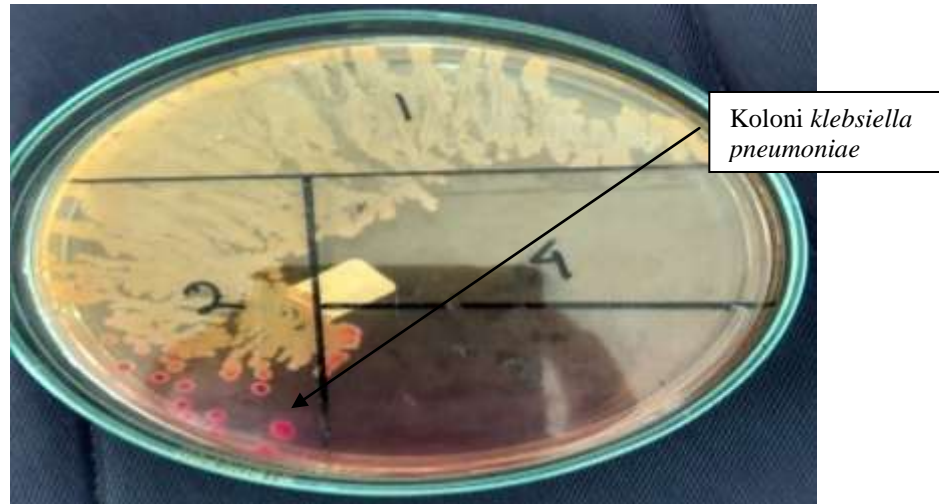


Foto identifikasi pada media MCA



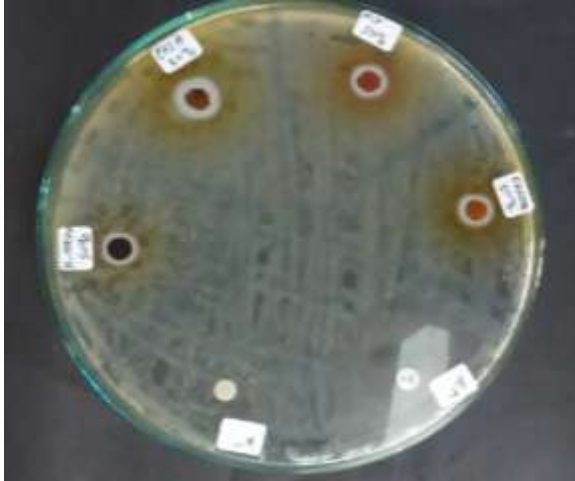
Foto identifikasi pewarnaan gram



Foto uji biokimia

Lampiran 9. Foto hasil uji difusi ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air terhadap *klebsiella pneumonia* ATTC 10031

Uji difusi dengan konsentrasi 50%

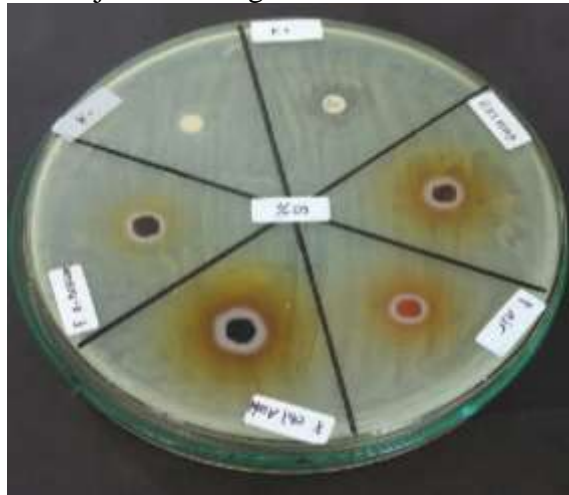


Replikasi 1



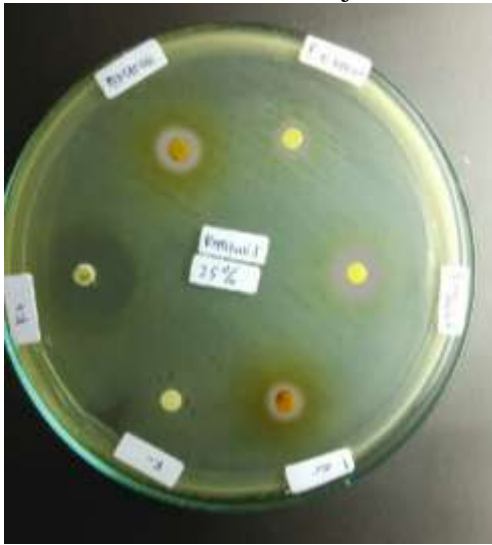
Replikasi 2

Uji difusi dengan konsentrasi 50%

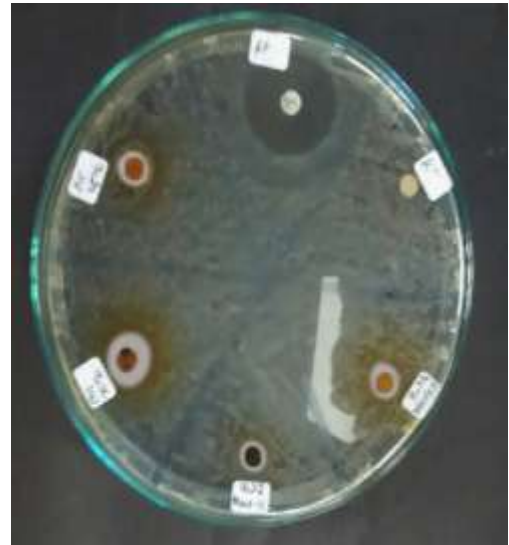


Replikasi 3

Uji difusi dengan konsentrasi 25%

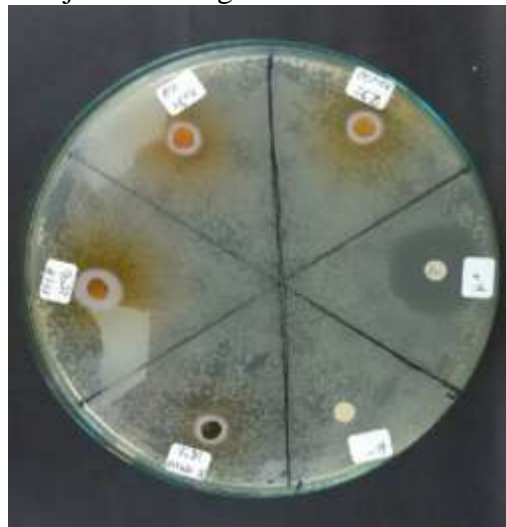


Replikasi 1



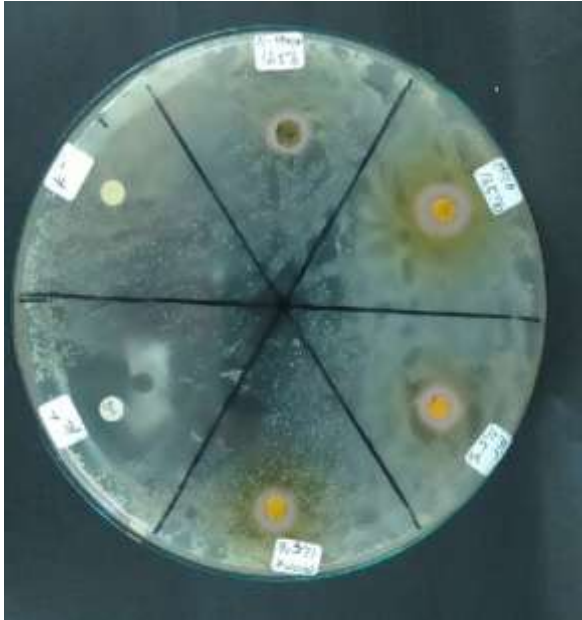
Replikasi 2

Uji difusi dengan konsentrasi 25%

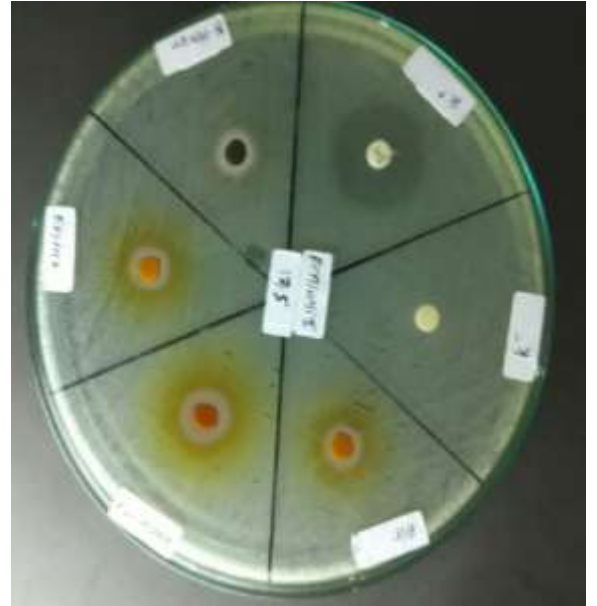


Replikasi 3

Uji difusi dengan konsentrasi 12,5 %

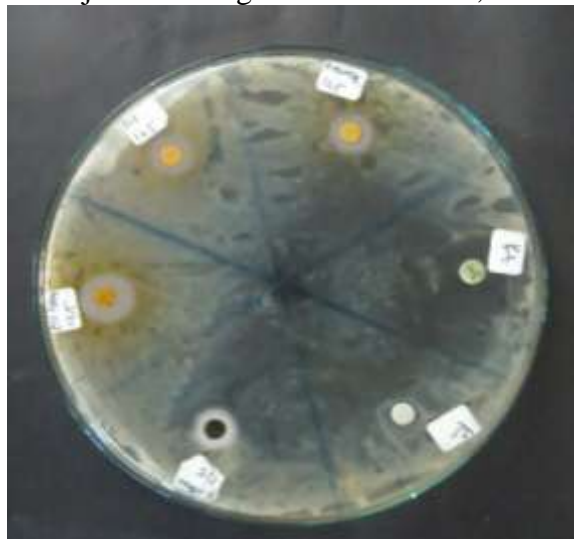


Replikasi 1



Replikasi 2

Uji difusi dengan konsentrasi 12,5%

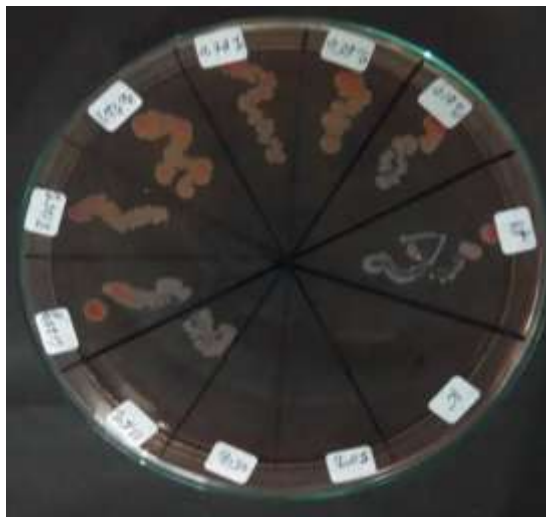


Replikasi 3

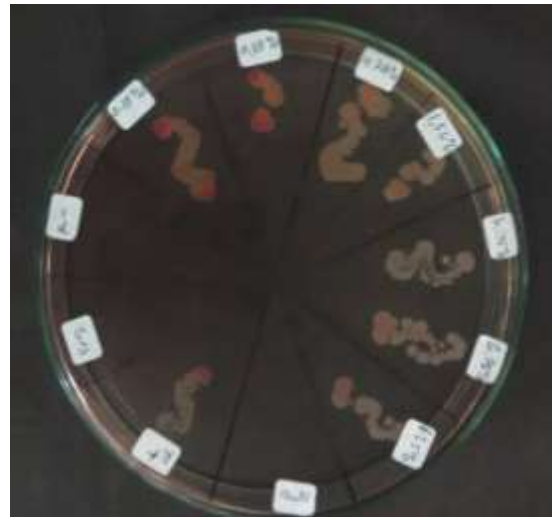
Lampiran 10. Gambar uji dilusi antibakteri fraksi etil asetat daun kenikir terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATTC 10031.



Foto uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun kenikir



Replikasi 1



Replikasi 2

Lampiran 11. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Sitroborat



UV 254



UV 366

KLT Flavonoid

Rf Flavonoid

$$Rf = \frac{4,6}{5,1} = 0,90$$

Rf Quersetin

$$Rf = \frac{4,6}{5,1} = 0,90$$



Liberman Bourchardat



UV 254



UV 366

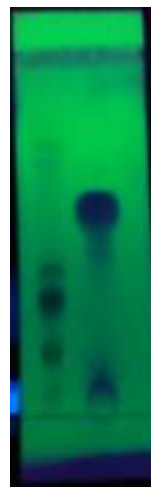
KLT Saponin

Rf saponin

$$Rf = \frac{3,8}{5,1} = 0,87$$

Rf saponin

$$Rf = \frac{4,0}{5,1} = 0,78$$

**FeCl****UV 254****UV 366****KLT polifenol**

Rf Polifenol

$$Rf = \frac{2,0}{5,1} = 0,39$$

$$Rf = \frac{1,8}{5,1} = 0,35$$

$$Rf = \frac{1,1}{5,1} = 0,21$$

Rf Asam galat

$$Rf = \frac{3,0}{5,1} = 0,58$$

Lampiran 11. Perhitungan rendemen simplisia daun kenikir

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
8000	1200	11,25

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1200}{8000} \times 100 \% = 15 \%$$

Lampiran 12. Perhitungan kadar air

No	Penimbangan	Volume pada skala (ml)	Kadar air %
1	20 gram	1,70 ml	8,5%
2	20 gram	1,60 ml	8 %
3	20 gram	1,60 ml	8%
Rata-rata			8,16 %

Perhitungan :

$$\text{Prosentase kadar air} = \frac{\text{volume terbaca}}{\text{berat bahan}} \times 100 \%$$

$$\text{Prosentase kadar air I} = \frac{1,7}{20} \times 100 \% = 8,5 \%$$

$$\text{Prosentase kadar air II} = \frac{1,6}{20} \times 100 \% = 8 \%$$

$$\text{Prosentase kadar air III} = \frac{1,6}{20} \times 100 \% = 8 \%$$

Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi daun kenikir
Rendemen ekstrak maserasi daun kenikir

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (b/b%)
900	162,21	18,02

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{162,21}{900} \times 100 \% = 18,02 \%$$

Rendemen fraksinasi daun kenikir

Pelarut	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (%)	Rendemen %
<i>n</i> -heksana	10	1,49	14,9
	10	2,23	22,3
	10	2,22	22,2
	10	1,50	15,0
	10	1,61	16,0
	10	2,21	22,1
Rata – rata		1,876	18,76
Etil asetat	10	1,21	12,1
	10	1,26	12,6
	10	1,12	11,2
	10	1,32	13,2
	10	1,11	11,1
	10	1,15	11,5
Rata – rata		1,195	11,95
Air	10	1,84	18,4
	10	1,63	16,3
	10	1,93	19,3
	10	2,12	21,2
	10	1,77	17,7
	10	2,13	21,3
Rata – rata		1,903	19,03

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak daun kenikir :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot fraksi (g)}}{\text{Bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

Fraksi *n*-heksana

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,49 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 14,9\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,23 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 22,3\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,22 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 22,2\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,50 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 15,0\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,61 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 16,1\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,21 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 22,1\%$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak daun kenikir :

Fraksi etil asetat

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,21 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 12,1\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,26 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 12,6\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,12 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 22,1\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,32 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 13,2\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,11 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 11,1\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,15 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 11,5\%$$

Perhitungan rendemen fraksi Air dari ekstrak daun kenikir :

Fraksi air

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,84 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 18,4\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,63 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 16,3\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,93 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 19,3\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,12 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 21,2\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1,77 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 17,7\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2,13 \text{ (g)}}{10 \text{ (g)}} \times 100 \% = 21,3\%$$

Lampiran 14. Pembuatan seri konsentrasi larutan uji metode difusi
Pembuatan seri konsentrasi ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana,
etil asetat dan air dari daun kenikir

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 2 gram ekstrak dilarutkan dalam DMSO 5% 4 mL

2. Konsentrasi 25%

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

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

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

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

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

3. Konsentrasi 12,5%

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

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

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

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

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

Lampiran 15. Perhitungan konsentrasi fraksi etil asetat secara dilusi

Perhitungan seri konsentrasi fraksi teraktif etil asetat daun kenikir adalah sebagai berikut :

Menimbang 2 gram fraksi etil asetat kemudian dimasukkan ke dalam vial 4 mL dengan DMSO 5% .

Tabung 1 = Kontrol (-) diisi fraksi etil asetat 0,5 mL konsentrasi 50%

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

Tabung 3 = pembuatan konsentrasi 25%

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

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

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

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 2 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 4 pembuatan konsentrasi 12,5 %

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

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

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

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 3 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 5 pembuatan konsentarsi 6,25%

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

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

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

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 4 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 6 pembuatan konsentarsi 3,125%

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

$$V_1 \cdot 6,25\% = 1 \text{ mL} \cdot 3,125\%$$

$$V_1 = \frac{3,125\%}{6,25\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 5 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 7 pembuatan konsentarsi 1,56%

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

$$V_1 \cdot 3,125\% = 1 \text{ mL} \cdot 1,56\%$$

$$V_1 = \frac{1,56\%}{3,125\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 6 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 8 pembuatan konsentarsi 0,78%

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

$$V_1 \cdot 1,56\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,78\%$$

$$V_1 = \frac{0,78\%}{1,56\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 7 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 9 pembuatan konsentarsi 0,39%

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

$$V_1 \cdot 0,78\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,39\%$$

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

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 8 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 10 pembuatan konsentarsi 0,195%

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

$$V_1 \cdot 0,39\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,195\%$$

$$V_1 = \frac{0,195\%}{0,39\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari tabung 9 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml kemudian dipipet 0,5 ml dan dibuang

Tabung 11 = Kontrol (+) diisi suspensi bakteri 1 ml

Keterangan :

Tabung 2 sampai tabung 10 ditambahkan suspensi bakteri 0,5 ml

Lampiran 16. Cara dan pembuatan media

1. Komposisi pewarnaan Gram

a. Cat Gram A

Komposisi :

Larutan Kristal violet	2 gr
Alkohol 95%	20 ml
Larutan ammonium oksalat	80 mg
Aquadest	80 ml

b. Cat gram B

Komposisi :

Iodium	1 gr
Kalium iodide	2 gr
Aquadest	300 ml

c. Cat Gram C

Komposisi :

Alkohol 95%	70 ml
Aceton	30 ml

d. Cat gram D

Komposisi :

Safranin	250 mg
Alkohol 95%	10 ml
Aquadest	100 ml

2. Komposisi pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan *Mac Conkey Agar* (MCA)

Komposisi :

Preteose	3 gr
Peptone	17 gr
Lactose monohydrate	10 gr
Bile salts	1,5 gr
Sodium chloride	5 gr
Neutral red	0,03 gr
Crystal violet	0,001 gr
Agar	13,5 gr
Aquadest ml	1000 ml

Reagen tersebut diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, dituangkan dalam tabung reaksi steril, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

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

Komposisi:	Brain infusion	12,5 gr
	Heart infusion	5,0 gr
	Proteose peptone	10,0 gr
	Glucose	2,0 gr
	Sodium chloride	5,0 gr
	Di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gr
	Aquadest ad	1000 ml

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam Aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

c. Formulasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Komposisi :	Infus sapi	300,0 gr
	Pepton	17,5 gr
	Tepung	1,5 gr
	Agar	17,5 gr
	Aquadest ad	1000 ml
	Ph	7,3 ± 0,1

Reagen tersebut diatas dilarutkan dalam akuadest sebanyak 1000 ml. Dipanaskan sampai larut sempurna dituangkan dalam tabung reaksi steril, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 120°C selama 15 menit.

d. Standart Mc. Farland

Suspensi Standart Mc. Farland adalah suspense yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 CFU/ml

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat 1%	b/v 9,5 ml
Larutan Barium klorida	1,175% v/v 0,5 ml

Cara pembuatan :

Dicampur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspense bakteri uji adalah sama

dengan kekeruhan suspensi standart, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/ml (Bridson 1998).

3. Komposisi pembuatan media biokimia

a. *Kliger's iron Agar* (KIA)

Komposisi :

Lab-Lemco' powder	3,0 gr
Yeast extract	3,0 gr
Peptone	20,0 gr
Sodium chloride	5,0 gr
Lactose	10,0 gr
Glucose	1,0 gr
Ferric citrate	0,3 gr
Sodium thiosulphate	0,3 gr
Phenolred	0,05 gr
Agar	12,0 gr
pH	7,4

suspensikan 55 gr media dalam 1000 ml aquadest. Didihkan hingga larut sempurna tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo scientific 2011)

b. Media S.I.M

Komposisi :

Tryptone	20,0 g/l
Peptone	6,1 g/l
Ferrous ammonium sulphate	0,2 g/l
Sodium thiosulphate	0,2 g/l
Agar	3,5 g/l
pH	7,3

suspensikan 30 gr media dalam 1000 ml aquadest didihkan hingga larut sempurna . tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo scientific 2011)

c. Media Lysine Iron Agar (LIA)

Komposisi :

Bacteriological peptone	5,0 g/l
Yeast extract	3,0 g/l
Glucose	1,0 g/l
Lysine	1,0 g/l
Ferric ammonium citrate	0,5 g/l
Sodium thiosulphate	0,04 g/l
Bromocresol purple	0,02 g/l
pH	6,7

suspensikan 34 gr media dalam 1000 ml aquadest didihkan hingga larut sempurna . tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalm keadaan miring (Thermo scientific 2011)

d. Media sitrat (Simons Citrate Agar)

Komposisi :

Magnesium sulphate	0,3 g/l
Ammonium dyhyogen phosphate	0,2 g/l
Sodium ammonium phosphate	0,8g/l
Sodium citrate	2,0 g/l
Sodium chloride	5,0g/l
Bromothymol blue	0,08g/l
Agar	15,0g/l
pH	7,0

suspensikan 34 gr media dalam 1000 ml aquadest didihkan hingga larut sempurna . tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalm keadaan miring (Thermo scientific 2011)

4. Cara mensterilkan alat

a. Cara sterilisasi alat gelas

- Peralatan yang sudah selesai dipakai , dicuci dengan air dan sabun kemudian dikeringkan
- Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas
- Dimasukkan ke dalam oven pada suhu 175°C selama 2 jam

b. Cara Sterilisasi Kapas Lidi

- Gulung kapas diujung lidi hingga padat kira-kira sebesar jari kelingking
- Kapas lidi dibungkus dengan kertas
- Dimasukkan ke dalam oven pada suhu 175°C selama 2 jam

Lampiran 17. Analisa data uji ANOVA antara ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATTC 10031

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Dayahambat	42	13.1333	6.62146	.00	28.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Dayahambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	13.1333
	Std. Deviation	6.62146
Most Extreme Differences	Absolute	.106
	Positive	.103
	Negative	-.106
Kolmogorov-Smirnov Z		.685
Asymp. Sig. (2-tailed)		.736

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Descriptives

Dayahambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak metanol 50%	3	14.6667	.57735	.33333	13.2324	16.1009	14.00	15.00
ekstrak metanol 25%	3	12.3333	.57735	.33333	10.8991	13.7676	12.00	13.00
ekstrak metanol 12,5%	3	9.5000	.50000	.28868	8.2579	10.7421	9.00	10.00
fraksi N-heksana 50%	3	9.6000	.52915	.30551	8.2855	10.9145	9.00	10.00
fraksi N-heksan 25%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
fraksi N-heksana 12,5%	3	7.6333	.55076	.31798	6.2652	9.0015	7.00	8.00
fraksi etil asetat 50%	3	20.5000	.50000	.28868	19.2579	21.7421	20.00	21.00
fraksi etil asetat 25%	3	18.7333	.64291	.37118	17.1363	20.3304	18.00	19.20
fraksi etil asetat 12,5%	3	17.7333	.46188	.26667	16.5860	18.8807	17.20	18.00
fraksi air 50%	3	14.2667	.46188	.26667	13.1193	15.4140	14.00	14.80
fraksi air 25%	3	12.5000	.86603	.50000	10.3487	14.6513	12.00	13.50
fraksi air 12,5%	3	10.7333	.55076	.31798	9.3652	12.1015	10.20	11.30
siprofloksasin	3	28.0000	.00000	.00000	28.0000	28.0000	28.00	28.00
Dmso 5%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	42	13.1333	6.62146	1.02171	11.0699	15.1967	.00	28.00

Test of Homogeneity of Variances

Dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.048	13	28	.055

ANOVA

Dayahambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1789.640	13	137.665	484.653	.000
Within Groups	7.953	28	.284		
Total	1797.593	41			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayahambat

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	ekstrak metanol 50%	ekstrak metanol 25%	2.33333	.43516	.001	.7405	3.9262
		ekstrak metanol 12,5%	5.16667	.43516	.000	3.5738	6.7595
		fraksi N-heksana 50%	5.06667	.43516	.000	3.4738	6.6595
		fraksi N-heksan 25%	7.00000	.43516	.000	5.4071	8.5929
		fraksi N-heksana 12,5%	7.03333	.43516	.000	5.4405	8.6262
		fraksi etil asetat 50%	-5.83333	.43516	.000	-7.4262	-4.2405
		fraksi etil asetat 25%	-4.06667	.43516	.000	-5.6595	-2.4738
		fraksi etil asetat 12,5%	-3.06667	.43516	.000	-4.6595	-1.4738
		fraksi air 50%	.40000	.43516	.999	-1.1929	1.9929
		fraksi air 25%	2.16667	.43516	.002	.5738	3.7595
		fraksi air 12,5%	3.93333	.43516	.000	2.3405	5.5262
		siprofloksasin	-13.33333	.43516	.000	-14.9262	-11.7405
		Dmso 5%	14.66667	.43516	.000	13.0738	16.2595
		ekstrak metanol 25%	ekstrak metanol 25%	ekstrak metanol 50%	-2.33333	.43516	.001
ekstrak metanol 12,5%	2.83333			.43516	.000	1.2405	4.4262
fraksi N-heksana 50%	2.73333			.43516	.000	1.1405	4.3262
fraksi N-heksan 25%	4.66667			.43516	.000	3.0738	6.2595
fraksi N-heksana 12,5%	4.70000			.43516	.000	3.1071	6.2929
fraksi etil asetat 50%	-8.16667			.43516	.000	-9.7595	-6.5738
fraksi etil asetat 25%	-6.40000			.43516	.000	-7.9929	-4.8071
fraksi etil asetat 12,5%	-5.40000			.43516	.000	-6.9929	-3.8071
fraksi air 50%	-1.93333			.43516	.008	-3.5262	-.3405
fraksi air 25%	-.16667			.43516	1.000	-1.7595	1.4262
fraksi air 12,5%	1.60000			.43516	.048	.0071	3.1929

	siprofloksasin	-15.66667	.43516	.000	-17.2595	-14.0738
	Dmso 5%	12.33333	.43516	.000	10.7405	13.9262
ekstrak metanol 12,5%	ekstrak metanol 50%	-5.16667	.43516	.000	-6.7595	-3.5738
	ekstrak metanol 25%	-2.83333	.43516	.000	-4.4262	-1.2405
	fraksi N-heksana 50%	-.10000	.43516	1.000	-1.6929	1.4929
	fraksi N-heksan 25%	1.83333	.43516	.013	.2405	3.4262
	fraksi N-heksana 12,5%	1.86667	.43516	.011	.2738	3.4595
	fraksi etil asetat 50%	-11.00000	.43516	.000	-12.5929	-9.4071
	fraksi etil asetat 25%	-9.23333	.43516	.000	-10.8262	-7.6405
	fraksi etil asetat 12,5%	-8.23333	.43516	.000	-9.8262	-6.6405
	fraksi air 50%	-4.76667	.43516	.000	-6.3595	-3.1738
	fraksi air 25%	-3.00000	.43516	.000	-4.5929	-1.4071
	fraksi air 12,5%	-1.23333	.43516	.264	-2.8262	.3595
	siprofloksasin	-18.50000	.43516	.000	-20.0929	-16.9071
	Dmso 5%	9.50000	.43516	.000	7.9071	11.0929
	fraksi N-heksana 50%	ekstrak metanol 50%	-5.06667	.43516	.000	-6.6595
ekstrak metanol 25%		-2.73333	.43516	.000	-4.3262	-1.1405
ekstrak metanol 12,5%		.10000	.43516	1.000	-1.4929	1.6929
fraksi N-heksan 25%		1.93333	.43516	.008	.3405	3.5262
fraksi N-heksana 12,5%		1.96667	.43516	.006	.3738	3.5595
fraksi etil asetat 50%		-10.90000	.43516	.000	-12.4929	-9.3071
fraksi etil asetat 25%		-9.13333	.43516	.000	-10.7262	-7.5405
fraksi etil asetat 12,5%		-8.13333	.43516	.000	-9.7262	-6.5405
fraksi air 50%		-4.66667	.43516	.000	-6.2595	-3.0738
fraksi air 25%		-2.90000	.43516	.000	-4.4929	-1.3071
fraksi air 12,5%		-1.13333	.43516	.381	-2.7262	.4595
siprofloksasin		-18.40000	.43516	.000	-19.9929	-16.8071
Dmso 5%		9.60000	.43516	.000	8.0071	11.1929
fraksi N-heksan 25%		ekstrak metanol 50%	-7.00000	.43516	.000	-8.5929
	ekstrak metanol 25%	-4.66667	.43516	.000	-6.2595	-3.0738
	ekstrak metanol 12,5%	-1.83333	.43516	.013	-3.4262	-.2405
	fraksi N-heksana 50%	-1.93333	.43516	.008	-3.5262	-.3405
	fraksi N-heksana 12,5%	.03333	.43516	1.000	-1.5595	1.6262
	fraksi etil asetat 50%	-12.83333	.43516	.000	-14.4262	-11.2405
	fraksi etil asetat 25%	-11.06667	.43516	.000	-12.6595	-9.4738
	fraksi etil asetat 12,5%	-10.06667	.43516	.000	-11.6595	-8.4738
	fraksi air 50%	-6.60000	.43516	.000	-8.1929	-5.0071
	fraksi air 25%	-4.83333	.43516	.000	-6.4262	-3.2405
	fraksi air 12,5%	-3.06667	.43516	.000	-4.6595	-1.4738
	siprofloksasin	-20.33333	.43516	.000	-21.9262	-18.7405
	Dmso 5%	7.66667	.43516	.000	6.0738	9.2595

fraksi N-heksana 12,5%	ekstrak metanol 50%	-7.03333	.43516	.000	-8.6262	-5.4405
	ekstrak metanol 25%	-4.70000	.43516	.000	-6.2929	-3.1071
	ekstrak metanol 12,5%	-1.86667	.43516	.011	-3.4595	-.2738
	fraksi N-heksana 50%	-1.96667	.43516	.006	-3.5595	-.3738
	fraksi N-heksan 25%	-.03333	.43516	1.000	-1.6262	1.5595
	fraksi etil asetat 50%	-12.86667	.43516	.000	-14.4595	-11.2738
	fraksi etil asetat 25%	-11.10000	.43516	.000	-12.6929	-9.5071
	fraksi etil asetat 12,5%	-10.10000	.43516	.000	-11.6929	-8.5071
	fraksi air 50%	-6.63333	.43516	.000	-8.2262	-5.0405
	fraksi air 25%	-4.86667	.43516	.000	-6.4595	-3.2738
	fraksi air 12,5%	-3.10000	.43516	.000	-4.6929	-1.5071
	siprofloksasin	-20.36667	.43516	.000	-21.9595	-18.7738
	Dmso 5%	7.63333	.43516	.000	6.0405	9.2262
fraksi etil asetat 50%	ekstrak metanol 50%	5.83333	.43516	.000	4.2405	7.4262
	ekstrak metanol 25%	8.16667	.43516	.000	6.5738	9.7595
	ekstrak metanol 12,5%	11.00000	.43516	.000	9.4071	12.5929
	fraksi N-heksana 50%	10.90000	.43516	.000	9.3071	12.4929
	fraksi N-heksan 25%	12.83333	.43516	.000	11.2405	14.4262
	fraksi N-heksana 12,5%	12.86667	.43516	.000	11.2738	14.4595
	fraksi etil asetat 25%	1.76667	.43516	.020	.1738	3.3595
	fraksi etil asetat 12,5%	2.76667	.43516	.000	1.1738	4.3595
	fraksi air 50%	6.23333	.43516	.000	4.6405	7.8262
	fraksi air 25%	8.00000	.43516	.000	6.4071	9.5929
	fraksi air 12,5%	9.76667	.43516	.000	8.1738	11.3595
	siprofloksasin	-7.50000	.43516	.000	-9.0929	-5.9071
	Dmso 5%	20.50000	.43516	.000	18.9071	22.0929
fraksi etil asetat 25%	ekstrak metanol 50%	4.06667	.43516	.000	2.4738	5.6595
	ekstrak metanol 25%	6.40000	.43516	.000	4.8071	7.9929
	ekstrak metanol 12,5%	9.23333	.43516	.000	7.6405	10.8262
	fraksi N-heksana 50%	9.13333	.43516	.000	7.5405	10.7262
	fraksi N-heksan 25%	11.06667	.43516	.000	9.4738	12.6595
	fraksi N-heksana 12,5%	11.10000	.43516	.000	9.5071	12.6929
	fraksi etil asetat 50%	-1.76667	.43516	.020	-3.3595	-.1738
	fraksi etil asetat 12,5%	1.00000	.43516	.569	-.5929	2.5929
	fraksi air 50%	4.46667	.43516	.000	2.8738	6.0595
	fraksi air 25%	6.23333	.43516	.000	4.6405	7.8262
	fraksi air 12,5%	8.00000	.43516	.000	6.4071	9.5929
	siprofloksasin	-9.26667	.43516	.000	-10.8595	-7.6738
	Dmso 5%	18.73333	.43516	.000	17.1405	20.3262
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak metanol 50%	3.06667	.43516	.000	1.4738	4.6595
	ekstrak metanol 25%	5.40000	.43516	.000	3.8071	6.9929
	ekstrak metanol 12,5%	8.23333	.43516	.000	6.6405	9.8262
	fraksi N-heksana 50%	8.13333	.43516	.000	6.5405	9.7262

	fraksi N-heksan 25%	10.06667	.43516	.000	8.4738	11.6595
	fraksi N-heksana 12,5%	10.10000	.43516	.000	8.5071	11.6929
	fraksi etil asetat 50%	-2.76667	.43516	.000	-4.3595	-1.1738
	fraksi etil asetat 25%	-1.00000	.43516	.569	-2.5929	.5929
	fraksi air 50%	3.46667	.43516	.000	1.8738	5.0595
	fraksi air 25%	5.23333	.43516	.000	3.6405	6.8262
	fraksi air 12,5%	7.00000	.43516	.000	5.4071	8.5929
	siprofloksasin	-10.26667	.43516	.000	-11.8595	-8.6738
	Dmso 5%	17.73333	.43516	.000	16.1405	19.3262
fraksi air 50%	ekstrak metanol 50%	-.40000	.43516	.999	-1.9929	1.1929
	ekstrak metanol 25%	1.93333	.43516	.008	.3405	3.5262
	ekstrak metanol 12,5%	4.76667	.43516	.000	3.1738	6.3595
	fraksi N-heksana 50%	4.66667	.43516	.000	3.0738	6.2595
	fraksi N-heksan 25%	6.60000	.43516	.000	5.0071	8.1929
	fraksi N-heksana 12,5%	6.63333	.43516	.000	5.0405	8.2262
	fraksi etil asetat 50%	-6.23333	.43516	.000	-7.8262	-4.6405
	fraksi etil asetat 25%	-4.46667	.43516	.000	-6.0595	-2.8738
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.46667	.43516	.000	-5.0595	-1.8738
	fraksi air 25%	1.76667	.43516	.020	.1738	3.3595
	fraksi air 12,5%	3.53333	.43516	.000	1.9405	5.1262
	siprofloksasin	-13.73333	.43516	.000	-15.3262	-12.1405
	Dmso 5%	14.26667	.43516	.000	12.6738	15.8595
fraksi air 25%	ekstrak metanol 50%	-2.16667	.43516	.002	-3.7595	-.5738
	ekstrak metanol 25%	.16667	.43516	1.000	-1.4262	1.7595
	ekstrak metanol 12,5%	3.00000	.43516	.000	1.4071	4.5929
	fraksi N-heksana 50%	2.90000	.43516	.000	1.3071	4.4929
	fraksi N-heksan 25%	4.83333	.43516	.000	3.2405	6.4262
	fraksi N-heksana 12,5%	4.86667	.43516	.000	3.2738	6.4595
	fraksi etil asetat 50%	-8.00000	.43516	.000	-9.5929	-6.4071
	fraksi etil asetat 25%	-6.23333	.43516	.000	-7.8262	-4.6405
	fraksi etil asetat 12,5%	-5.23333	.43516	.000	-6.8262	-3.6405
	fraksi air 50%	-1.76667	.43516	.020	-3.3595	-.1738
	fraksi air 12,5%	1.76667	.43516	.020	.1738	3.3595
	siprofloksasin	-15.50000	.43516	.000	-17.0929	-13.9071
	Dmso 5%	12.50000	.43516	.000	10.9071	14.0929
fraksi air 12,5%	ekstrak metanol 50%	-3.93333	.43516	.000	-5.5262	-2.3405
	ekstrak metanol 25%	-1.60000	.43516	.048	-3.1929	-.0071
	ekstrak metanol 12,5%	1.23333	.43516	.264	-.3595	2.8262
	fraksi N-heksana 50%	1.13333	.43516	.381	-.4595	2.7262
	fraksi N-heksan 25%	3.06667	.43516	.000	1.4738	4.6595
	fraksi N-heksana 12,5%	3.10000	.43516	.000	1.5071	4.6929
	fraksi etil asetat 50%	-9.76667	.43516	.000	-11.3595	-8.1738
	fraksi etil asetat 25%	-8.00000	.43516	.000	-9.5929	-6.4071

	fraksi etil asetat 12,5%	-7.00000	.43516	.000	-8.5929	-5.4071
	fraksi air 50%	-3.53333	.43516	.000	-5.1262	-1.9405
	fraksi air 25%	-1.76667	.43516	.020	-3.3595	-.1738
	siprofloksasin	-17.26667	.43516	.000	-18.8595	-15.6738
	Dmso 5%	10.73333	.43516	.000	9.1405	12.3262
siprofloksasin	ekstrak metanol 50%	13.33333	.43516	.000	11.7405	14.9262
	ekstrak metanol 25%	15.66667	.43516	.000	14.0738	17.2595
	ekstrak metanol 12,5%	18.50000	.43516	.000	16.9071	20.0929
	fraksi N-heksana 50%	18.40000	.43516	.000	16.8071	19.9929
	fraksi N-heksan 25%	20.33333	.43516	.000	18.7405	21.9262
	fraksi N-heksana 12,5%	20.36667	.43516	.000	18.7738	21.9595
	fraksi etil asetat 50%	7.50000	.43516	.000	5.9071	9.0929
	fraksi etil asetat 25%	9.26667	.43516	.000	7.6738	10.8595
	fraksi etil asetat 12,5%	10.26667	.43516	.000	8.6738	11.8595
	fraksi air 50%	13.73333	.43516	.000	12.1405	15.3262
	fraksi air 25%	15.50000	.43516	.000	13.9071	17.0929
	fraksi air 12,5%	17.26667	.43516	.000	15.6738	18.8595
	Dmso 5%	28.00000	.43516	.000	26.4071	29.5929
Dmso 5%	ekstrak metanol 50%	-14.66667	.43516	.000	-16.2595	-13.0738
	ekstrak metanol 25%	-12.33333	.43516	.000	-13.9262	-10.7405
	ekstrak metanol 12,5%	-9.50000	.43516	.000	-11.0929	-7.9071
	fraksi N-heksana 50%	-9.60000	.43516	.000	-11.1929	-8.0071
	fraksi N-heksan 25%	-7.66667	.43516	.000	-9.2595	-6.0738
	fraksi N-heksana 12,5%	-7.63333	.43516	.000	-9.2262	-6.0405
	fraksi etil asetat 50%	-20.50000	.43516	.000	-22.0929	-18.9071
	fraksi etil asetat 25%	-18.73333	.43516	.000	-20.3262	-17.1405
	fraksi etil asetat 12,5%	-17.73333	.43516	.000	-19.3262	-16.1405
	fraksi air 50%	-14.26667	.43516	.000	-15.8595	-12.6738
	fraksi air 25%	-12.50000	.43516	.000	-14.0929	-10.9071
	fraksi air 12,5%	-10.73333	.43516	.000	-12.3262	-9.1405
	siprofloksasin	-28.00000	.43516	.000	-29.5929	-26.4071
Bonferroni	ekstrak metanol 50%	2.33333	.43516	.001	.6363	4.0304
	ekstrak metanol 12,5%	5.16667	.43516	.000	3.4696	6.8637
	fraksi N-heksana 50%	5.06667	.43516	.000	3.3696	6.7637
	fraksi N-heksan 25%	7.00000	.43516	.000	5.3030	8.6970
	fraksi N-heksana 12,5%	7.03333	.43516	.000	5.3363	8.7304
	fraksi etil asetat 50%	-5.83333	.43516	.000	-7.5304	-4.1363
	fraksi etil asetat 25%	-4.06667	.43516	.000	-5.7637	-2.3696
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.06667	.43516	.000	-4.7637	-1.3696
	fraksi air 50%	.40000	.43516	1.000	-1.2970	2.0970
	fraksi air 25%	2.16667	.43516	.003	.4696	3.8637
	fraksi air 12,5%	3.93333	.43516	.000	2.2363	5.6304
	siprofloksasin	-13.33333	.43516	.000	-15.0304	-11.6363
	Dmso 5%	14.66667	.43516	.000	12.9696	16.3637

ekstrak metanol 25%	ekstrak metanol 50%	-2.33333	.43516	.001	-4.0304	-6.363
	ekstrak metanol 12,5%	2.83333	.43516	.000	1.1363	4.5304
	fraksi N-heksana 50%	2.73333	.43516	.000	1.0363	4.4304
	fraksi N-heksan 25%	4.66667	.43516	.000	2.9696	6.3637
	fraksi N-heksana 12,5%	4.70000	.43516	.000	3.0030	6.3970
	fraksi etil asetat 50%	-8.16667	.43516	.000	-9.8637	-6.4696
	fraksi etil asetat 25%	-6.40000	.43516	.000	-8.0970	-4.7030
	fraksi etil asetat 12,5%	-5.40000	.43516	.000	-7.0970	-3.7030
	fraksi air 50%	-1.93333	.43516	.012	-3.6304	-.2363
	fraksi air 25%	-.16667	.43516	1.000	-1.8637	1.5304
	fraksi air 12,5%	1.60000	.43516	.090	-.0970	3.2970
	siprofloksasin	-15.66667	.43516	.000	-17.3637	-13.9696
	Dmso 5%	12.33333	.43516	.000	10.6363	14.0304
ekstrak metanol 12,5%	ekstrak metanol 50%	-5.16667	.43516	.000	-6.8637	-3.4696
	ekstrak metanol 25%	-2.83333	.43516	.000	-4.5304	-1.1363
	fraksi N-heksana 50%	-.10000	.43516	1.000	-1.7970	1.5970
	fraksi N-heksan 25%	1.83333	.43516	.022	.1363	3.5304
	fraksi N-heksana 12,5%	1.86667	.43516	.018	.1696	3.5637
	fraksi etil asetat 50%	-11.00000	.43516	.000	-12.6970	-9.3030
	fraksi etil asetat 25%	-9.23333	.43516	.000	-10.9304	-7.5363
	fraksi etil asetat 12,5%	-8.23333	.43516	.000	-9.9304	-6.5363
	fraksi air 50%	-4.76667	.43516	.000	-6.4637	-3.0696
	fraksi air 25%	-3.00000	.43516	.000	-4.6970	-1.3030
	fraksi air 12,5%	-1.23333	.43516	.767	-2.9304	.4637
	siprofloksasin	-18.50000	.43516	.000	-20.1970	-16.8030
	Dmso 5%	9.50000	.43516	.000	7.8030	11.1970
fraksi N-heksana 50%	ekstrak metanol 50%	-5.06667	.43516	.000	-6.7637	-3.3696
	ekstrak metanol 25%	-2.73333	.43516	.000	-4.4304	-1.0363
	ekstrak metanol 12,5%	.10000	.43516	1.000	-1.5970	1.7970
	fraksi N-heksan 25%	1.93333	.43516	.012	.2363	3.6304
	fraksi N-heksana 12,5%	1.96667	.43516	.009	.2696	3.6637
	fraksi etil asetat 50%	-10.90000	.43516	.000	-12.5970	-9.2030
	fraksi etil asetat 25%	-9.13333	.43516	.000	-10.8304	-7.4363
	fraksi etil asetat 12,5%	-8.13333	.43516	.000	-9.8304	-6.4363
	fraksi air 50%	-4.66667	.43516	.000	-6.3637	-2.9696
	fraksi air 25%	-2.90000	.43516	.000	-4.5970	-1.2030
	fraksi air 12,5%	-1.13333	.43516	1.000	-2.8304	.5637
	siprofloksasin	-18.40000	.43516	.000	-20.0970	-16.7030
	Dmso 5%	9.60000	.43516	.000	7.9030	11.2970
fraksi N-heksan 25%	ekstrak metanol 50%	-7.00000	.43516	.000	-8.6970	-5.3030
	ekstrak metanol 25%	-4.66667	.43516	.000	-6.3637	-2.9696
	ekstrak metanol 12,5%	-1.83333	.43516	.022	-3.5304	-.1363
	fraksi N-heksana 50%	-1.93333	.43516	.012	-3.6304	-.2363
	fraksi N-heksana 12,5%	.03333	.43516	1.000	-1.6637	1.7304
	fraksi etil asetat 50%	-12.83333	.43516	.000	-14.5304	-11.1363
	fraksi etil asetat 25%	-11.06667	.43516	.000	-12.7637	-9.3696

	fraksi etil asetat 12,5%	-10.06667	.43516	.000	-11.7637	-8.3696
	fraksi air 50%	-6.60000	.43516	.000	-8.2970	-4.9030
	fraksi air 25%	-4.83333	.43516	.000	-6.5304	-3.1363
	fraksi air 12,5%	-3.06667	.43516	.000	-4.7637	-1.3696
	siprofloksasin	-20.33333	.43516	.000	-22.0304	-18.6363
	Dmso 5%	7.66667	.43516	.000	5.9696	9.3637
fraksi N-heksana 12,5%	ekstrak metanol 50%	-7.03333	.43516	.000	-8.7304	-5.3363
	ekstrak metanol 25%	-4.70000	.43516	.000	-6.3970	-3.0030
	ekstrak metanol 12,5%	-1.86667	.43516	.018	-3.5637	-.1696
	fraksi N-heksana 50%	-1.96667	.43516	.009	-3.6637	-.2696
	fraksi N-heksan 25%	-.03333	.43516	1.000	-1.7304	1.6637
	fraksi etil asetat 50%	-12.86667	.43516	.000	-14.5637	-11.1696
	fraksi etil asetat 25%	-11.10000	.43516	.000	-12.7970	-9.4030
	fraksi etil asetat 12,5%	-10.10000	.43516	.000	-11.7970	-8.4030
	fraksi air 50%	-6.63333	.43516	.000	-8.3304	-4.9363
	fraksi air 25%	-4.86667	.43516	.000	-6.5637	-3.1696
	fraksi air 12,5%	-3.10000	.43516	.000	-4.7970	-1.4030
	siprofloksasin	-20.36667	.43516	.000	-22.0637	-18.6696
	Dmso 5%	7.63333	.43516	.000	5.9363	9.3304
fraksi etil asetat 50%	ekstrak metanol 50%	5.83333	.43516	.000	4.1363	7.5304
	ekstrak metanol 25%	8.16667	.43516	.000	6.4696	9.8637
	ekstrak metanol 12,5%	11.00000	.43516	.000	9.3030	12.6970
	fraksi N-heksana 50%	10.90000	.43516	.000	9.2030	12.5970
	fraksi N-heksan 25%	12.83333	.43516	.000	11.1363	14.5304
	fraksi N-heksana 12,5%	12.86667	.43516	.000	11.1696	14.5637
	fraksi etil asetat 25%	1.76667	.43516	.033	.0696	3.4637
	fraksi etil asetat 12,5%	2.76667	.43516	.000	1.0696	4.4637
	fraksi air 50%	6.23333	.43516	.000	4.5363	7.9304
	fraksi air 25%	8.00000	.43516	.000	6.3030	9.6970
	fraksi air 12,5%	9.76667	.43516	.000	8.0696	11.4637
	siprofloksasin	-7.50000	.43516	.000	-9.1970	-5.8030
	Dmso 5%	20.50000	.43516	.000	18.8030	22.1970
fraksi etil asetat 25%	ekstrak metanol 50%	4.06667	.43516	.000	2.3696	5.7637
	ekstrak metanol 25%	6.40000	.43516	.000	4.7030	8.0970
	ekstrak metanol 12,5%	9.23333	.43516	.000	7.5363	10.9304
	fraksi N-heksana 50%	9.13333	.43516	.000	7.4363	10.8304
	fraksi N-heksan 25%	11.06667	.43516	.000	9.3696	12.7637
	fraksi N-heksana 12,5%	11.10000	.43516	.000	9.4030	12.7970
	fraksi etil asetat 50%	-1.76667	.43516	.033	-3.4637	-.0696
	fraksi etil asetat 12,5%	1.00000	.43516	1.000	-.6970	2.6970
	fraksi air 50%	4.46667	.43516	.000	2.7696	6.1637
	fraksi air 25%	6.23333	.43516	.000	4.5363	7.9304
	fraksi air 12,5%	8.00000	.43516	.000	6.3030	9.6970
	siprofloksasin	-9.26667	.43516	.000	-10.9637	-7.5696
	Dmso 5%	18.73333	.43516	.000	17.0363	20.4304

fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak metanol 50%	3.06667	.43516	.000	1.3696	4.7637
	ekstrak metanol 25%	5.40000	.43516	.000	3.7030	7.0970
	ekstrak metanol 12,5%	8.23333	.43516	.000	6.5363	9.9304
	fraksi N-heksana 50%	8.13333	.43516	.000	6.4363	9.8304
	fraksi N-heksan 25%	10.06667	.43516	.000	8.3696	11.7637
	fraksi N-heksana 12,5%	10.10000	.43516	.000	8.4030	11.7970
	fraksi etil asetat 50%	-2.76667	.43516	.000	-4.4637	-1.0696
	fraksi etil asetat 25%	-1.00000	.43516	1.000	-2.6970	.6970
	fraksi air 50%	3.46667	.43516	.000	1.7696	5.1637
	fraksi air 25%	5.23333	.43516	.000	3.5363	6.9304
	fraksi air 12,5%	7.00000	.43516	.000	5.3030	8.6970
	siprofloksasin	-10.26667	.43516	.000	-11.9637	-8.5696
	Dmso 5%	17.73333	.43516	.000	16.0363	19.4304
fraksi air 50%	ekstrak metanol 50%	-.40000	.43516	1.000	-2.0970	1.2970
	ekstrak metanol 25%	1.93333	.43516	.012	.2363	3.6304
	ekstrak metanol 12,5%	4.76667	.43516	.000	3.0696	6.4637
	fraksi N-heksana 50%	4.66667	.43516	.000	2.9696	6.3637
	fraksi N-heksan 25%	6.60000	.43516	.000	4.9030	8.2970
	fraksi N-heksana 12,5%	6.63333	.43516	.000	4.9363	8.3304
	fraksi etil asetat 50%	-6.23333	.43516	.000	-7.9304	-4.5363
	fraksi etil asetat 25%	-4.46667	.43516	.000	-6.1637	-2.7696
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.46667	.43516	.000	-5.1637	-1.7696
	fraksi air 25%	1.76667	.43516	.033	.0696	3.4637
	fraksi air 12,5%	3.53333	.43516	.000	1.8363	5.2304
	siprofloksasin	-13.73333	.43516	.000	-15.4304	-12.0363
	Dmso 5%	14.26667	.43516	.000	12.5696	15.9637
fraksi air 25%	ekstrak metanol 50%	-2.16667	.43516	.003	-3.8637	-.4696
	ekstrak metanol 25%	.16667	.43516	1.000	-1.5304	1.8637
	ekstrak metanol 12,5%	3.00000	.43516	.000	1.3030	4.6970
	fraksi N-heksana 50%	2.90000	.43516	.000	1.2030	4.5970
	fraksi N-heksan 25%	4.83333	.43516	.000	3.1363	6.5304
	fraksi N-heksana 12,5%	4.86667	.43516	.000	3.1696	6.5637
	fraksi etil asetat 50%	-8.00000	.43516	.000	-9.6970	-6.3030
	fraksi etil asetat 25%	-6.23333	.43516	.000	-7.9304	-4.5363
	fraksi etil asetat 12,5%	-5.23333	.43516	.000	-6.9304	-3.5363
	fraksi air 50%	-1.76667	.43516	.033	-3.4637	-.0696
	fraksi air 12,5%	1.76667	.43516	.033	.0696	3.4637
	siprofloksasin	-15.50000	.43516	.000	-17.1970	-13.8030
	Dmso 5%	12.50000	.43516	.000	10.8030	14.1970
fraksi air 12,5%	ekstrak metanol 50%	-3.93333	.43516	.000	-5.6304	-2.2363
	ekstrak metanol 25%	-1.60000	.43516	.090	-3.2970	.0970
	ekstrak metanol 12,5%	1.23333	.43516	.767	-.4637	2.9304
	fraksi N-heksana 50%	1.13333	.43516	1.000	-.5637	2.8304
	fraksi N-heksan 25%	3.06667	.43516	.000	1.3696	4.7637
	fraksi N-heksana 12,5%	3.10000	.43516	.000	1.4030	4.7970
	fraksi etil asetat 50%	-9.76667	.43516	.000	-11.4637	-8.0696

	fraksi etil asetat 25%	-8.00000	.43516	.000	-9.6970	-6.3030
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.00000	.43516	.000	-8.6970	-5.3030
	fraksi air 50%	-3.53333	.43516	.000	-5.2304	-1.8363
	fraksi air 25%	-1.76667	.43516	.033	-3.4637	-.0696
	siprofloksasin	-17.26667	.43516	.000	-18.9637	-15.5696
	Dmso 5%	10.73333	.43516	.000	9.0363	12.4304
siprofloksasin	ekstrak metanol 50%	13.33333	.43516	.000	11.6363	15.0304
	ekstrak metanol 25%	15.66667	.43516	.000	13.9696	17.3637
	ekstrak metanol 12,5%	18.50000	.43516	.000	16.8030	20.1970
	fraksi N-heksana 50%	18.40000	.43516	.000	16.7030	20.0970
	fraksi N-heksan 25%	20.33333	.43516	.000	18.6363	22.0304
	fraksi N-heksana 12,5%	20.36667	.43516	.000	18.6696	22.0637
	fraksi etil asetat 50%	7.50000	.43516	.000	5.8030	9.1970
	fraksi etil asetat 25%	9.26667	.43516	.000	7.5696	10.9637
	fraksi etil asetat 12,5%	10.26667	.43516	.000	8.5696	11.9637
	fraksi air 50%	13.73333	.43516	.000	12.0363	15.4304
	fraksi air 25%	15.50000	.43516	.000	13.8030	17.1970
	fraksi air 12,5%	17.26667	.43516	.000	15.5696	18.9637
	Dmso 5%	28.00000	.43516	.000	26.3030	29.6970
Dmso 5%	ekstrak metanol 50%	-14.66667	.43516	.000	-16.3637	-12.9696
	ekstrak metanol 25%	-12.33333	.43516	.000	-14.0304	-10.6363
	ekstrak metanol 12,5%	-9.50000	.43516	.000	-11.1970	-7.8030
	fraksi N-heksana 50%	-9.60000	.43516	.000	-11.2970	-7.9030
	fraksi N-heksan 25%	-7.66667	.43516	.000	-9.3637	-5.9696
	fraksi N-heksana 12,5%	-7.63333	.43516	.000	-9.3304	-5.9363
	fraksi etil asetat 50%	-20.50000	.43516	.000	-22.1970	-18.8030
	fraksi etil asetat 25%	-18.73333	.43516	.000	-20.4304	-17.0363
	fraksi etil asetat 12,5%	-17.73333	.43516	.000	-19.4304	-16.0363
	fraksi air 50%	-14.26667	.43516	.000	-15.9637	-12.5696
	fraksi air 25%	-12.50000	.43516	.000	-14.1970	-10.8030
	fraksi air 12,5%	-10.73333	.43516	.000	-12.4304	-9.0363
	siprofloksasin	-28.00000	.43516	.000	-29.6970	-26.3030

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

dayahambat

perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05											
			1	2	3	4	5	6	7	8				
Tukey HSD ^a	Dmso 5%	3	.0000											
	fraksi N- heksana 12,5%	3		7.6333										
	fraksi N- heksan 25%	3		7.6667										
	ekstrak metanol 12,5%	3			9.5000									
	fraksi N- heksana 50%	3			9.6000									
	fraksi air 12,5%	3			10.7333									
	ekstrak metanol 25%	3				12.3333								
	fraksi air 25%	3				12.5000								
	fraksi air 50%	3					14.2667							
	ekstrak metanol 50%	3					14.6667							
	fraksi etil asetat 12,5%	3						17.7333						
	fraksi etil asetat 25%	3						18.7333						
	fraksi etil asetat 50%	3							20.5000					
	siprofloksasin	3												28.0000
	Sig.			1.000	1.000	.264	1.000	.999	.569	1.000	1.000			

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.