

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**



Diajukan Oleh:

Yasri Lukita Ningtyas

19133741A

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2017

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

SKRIPSI

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

Oleh:

Yasri Lukita Ningtyas

19133741A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922**

Oleh:

Yasri Lukita Ningtyas
19133741A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan



Prof. Dr. A. A. Octari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Fransiska Leviana, S.Farm.,M.Sc.,Apt

Pembimbing Pendamping

Dra. Kartinah W. SU.

Penguji:

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt
3. Dra. Nony Puspawati, M.Si
4. Fransiska Leviana, S.Farm.,M.Sc.,Apt

1. 
2. 
3. 
4. 

PERSEMBAHAN

“Dengan Bismillah aku memulainya dan dengan Alhamdulillah aku mengakhirinya”

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(QS. *AL-Insyirah* : 5)

“Janganlah kamu putus asa, kalau daya upaya mu tidak lekas memperlihatkan hasil yang nyata”
(Tan Malaka)

“Sebaik-baiknya kamu adalah orang yang belajar Al-Qur’an dan yang mengajarkannya”
(HR.Bukhari)

SKRIPSI INI KUPERSEMBAHKAN KEPADA :

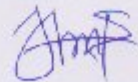
- ALLAH SWT TERIMA KASIH ATAS SEGALA NIKMAT, RAHMAT, KARUNIA DAN PETUNJUK-MU SEHINGGA SAYA DAPAT MENYELESAIKAN SETIAP MASALAH TERKAIT SKRIPSI SAYA DENGAN LANCAR.
- PAPA DAN MAMA SERTA ADIK-ADIKKU TERCINTA (SHOFIA, LIES DAN DONI) YANG MENJADI PENYEMANGAT DALAM HAL APAPUN, TANPA DOA, KASIH SAYANG, NASEHAT, DAN BIMBINGAN DARI KALIAN MUNGKIN SAYA BUKAN APA-APA, TERIMA KASIH.
- UNTUK SAHABATKU YANG TELAH MENEMANI HARI-HARI KU DARI AWAL KENAL SAMPAI KELAK (EPIFANIA, DEWI, DITA, ERLY, DYAS, IRWAN, HIDAYAH DAN BELLA), TERIMA KASIH UNTUK WARNA WARNI PENGALAMAN YANG TAKKAN TERLUPAKAN, CANDA TAWA DAN KEBERSAMAAN YANG LUAR BIASA.
- UNTUK TIM SKRIPSIKU (DEWI DAN TATA) TERIMA KASIH ATAS KESABARAN DALAM MEMBANTU PENELITIANKU DAN KEKOMPAKKANNYA.
- REKAN-REKAN SEPERJUANGANKU DI FAKULTAS FARMASI TEORI 1, PRAKTIKUM B, DAN FKK 1 YANG TERUS SEMANGAT DALAM MENGEJAR CITA-CITA.
- ALMAMATER
- BANGSA DAN NEGARA

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2017



Yasri Lukita Ningtyas

KATA PENGANTAR

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

Alhamdulillahirobbil'alamin, dengan segala rahmatnya akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan farmasi (S.Farm) di fakultas farmasi Universitas Setia Budi.

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

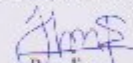
1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta dan selaku penguji yang telah memberikan dukungan, koreksi sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
3. Fransiska Leviana, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungan, masukan, dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W, SU selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungan, masukan, dan petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Dosen penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam menyempurnakan skripsi ini.
6. Kedua orang tua dan adik-adikku tercinta yang telah memberikan kasih sayang dan doa tiada hentinya, serta dukungan baik moral, spiritual, dan material sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

7. Seluruh sahabat, teman-teman seperjuangan S1 farmasi angkatan 2013, dosen, dan staf pegawai di Universitas Setia Budi.

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

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

Surakarta, Juni 2017


Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xxiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Peumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Daun Cabe Rawit	4
1. Sistematika tumbuhan.....	4
2. Nama umum / dagang.....	4
3. Deskripsi tanaman	5
4. Khasiat daun cabe rawit	6
5. Kandungan kimia.....	6
B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia	6
2. Pengeringan	6
C. Ekstraksi.....	7
1. Pengertian ekstraksi	7
2. Metode maserasi	7
3. Fraksinasi	7

4. Pelarut	8
D. <i>Escherichia coli</i>	9
1. Sistematika <i>Escherichia coli</i>	10
2. Morfologi dan identifikasi	10
3. Toksin <i>Escherichia coli</i>	10
4. Patogenesis	11
5. Pengobatan diare	11
E. Antibakteri	11
1. Antibakteri	11
2. Mekanisme antibakteri	12
2.1 Menghambat metabolisme sel bakteri	12
2.2 Menghambat sintesis dinding sel bakteri	12
2.3 Menghambat keutuhan membran sel bakteri	13
2.4 Menghambat sintesis protein sel bakteri	13
2.5 Menghambat sintesis asam nukleat dan protein	13
3. Metode pengujian aktivitas antibakteri	14
F. Media	15
1. Pengertian media	15
2. Macam-macam media	15
G. Sterilisasi	15
H. Amoxicillin	16
I. Landasan teori	17
J. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
A. Populasi dan Sampel	19
1. Populasi	19
2. Sampel	19
B. Variabel Penelitian	19
1. Identifikasi Variabel Utama	19
2. Klasifikasi Variabel Utama	19
3. Definisi Operasional Variabel Utama	20
C. Bahan dan Alat	21
1. Bahan	21
1.1. Bahan sampel	21
1.2. Bakteri uji	21
1.3. Medium	21
1.4. Bahan kimia	21
2. Alat	21
D. Jalannya Penelitian	22
1. Determinasi tanaman	22
2. Pengambilan bahan	22
3. Pembuatan serbuk daun cabe rawit	22
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit	22
5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabe rawit	23
6. Penetapan kadar air	23

7. Penetapan persen rendeman	23
8. Tes bebas etanol ekstrak daun cabe rawit.....	24
9. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit.....	24
10. Uji kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun cabe rawit.....	24
10.1. Identifikasi saponin	24
10.2. Identifikasi flavonoid	24
10.3. Identifikasi alkaloid.....	25
10.4. Identifikasi tanin	25
11. Sterilisasi	25
12. Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	25
12.1. Identifikasi bakteri uji secara makroskopis	25
12.2. Identifikasi mikroskopis bakteri uji dengan pewarnaan Gram	25
12.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia	26
13. Pembuatan suspensi bakteri uji	27
14. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara difusi.....	27
15. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi.....	28
16. Skema penyarian daun cabe rawit	30
17. Skema pembuatan fraksi daun cabe rawit.....	31
18. Skema jalannya penelitian.....	32
19. Skema pembuatan suspensi bakteri uji	33
20. Skema uji aktivitas dengan metode difusi.....	34
21. Skema uji aktivitas dengan metode dilusi.....	35
E. Analisa Data	36

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... 37

A. Determinasi tanaman daun cabe rawit.....	37
B. Pengambilan bahan	37
C. Pembuatan serbuk daun cabe rawit	38
D. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit.....	38
E. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabe rawit.....	38
F. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit	39
G. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit	39
H. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit.....	39
I. Uji kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi etil asetat daun cabe rawit	40
J. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	42
1. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> pada media Endo Agar	42
2. Hasil pengamatan mikroskopis bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan pewarnaan Gram	42
3. Hasil uji bakteri <i>Escherichia coli</i> secara biokimia	42
K. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji	44
L. Hasil pengujian antibakteri daun cabe rawit secara difusi	44
M. Hasil pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi.....	47

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 49

 A. Kesimpulan..... 49

 B. Saran 49

DAFTAR PUSTAKA 50

LAMPIRAN 54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman cabe rawit	4
2. Skema kerja ekstrak daun cabe rawit secara remaserasi	30
3. Skema pembuatan fraksi daun cabe rawit	31
4. Skema jalannya penelitian	32
5. Bagan kerja pembuatan suspensi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	33
6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun cabe rawit terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan metode difusi	34
7. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun cabe rawit terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan metode dilusi	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabe rawit.....	38
2. Hasil penetapan susut pengeringan daun cabe rawit dengan menggunakan alat <i>Moisture Balance</i>	38
3. Rendemen ekstrak etanol daun cabe rawit	38
4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit dengan menggunakan alat <i>Sterling Bidwell</i>	39
5. Uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit	39
6. Hasil fraksinasi dan rendemen dari ekstrak etanol daun cabe rawit.....	40
7. Hasil identifikasi kandungan kimia daun cabe rawit.	41
8. Identifikasi uji biokimia pada <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	43
9. Hasil Diameter daya hambat uji aktivitas antibakteri secara difusi.....	45
10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara dilusi.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi daun cabe rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).....	54
2. Daun cabe rawit dan serbuk daun cabe rawit	55
3. Gambar alat fraksinasi, inkas, <i>Moisture Balance</i> , dan Vacuum Rotary Evaporator	56
4. Gambar oven, inkubator, timbangan analitik, ayakan mess 40 dan <i>Sterling Bidwell</i>	57
5. Gambar hasil identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	58
6. Identifikasi kandungan kimia daun cabe rawit	59
7. Diameter hambat uji aktivitas antibakteri daun cabe rawit secara difusi.	60
8. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabe rawit secara dilusi.	63
9. Hasil ekstrak etanol 70%, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan air	64
10. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabe rawit.	65
11. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit.	66
12. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit.	67
13. Perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit.....	68
14. Hasil fraksinasi.....	69
15. Perhitungan pembuatan larutan stok difusi.....	70
16. Perhitungan Konsentrasi Amoxicillin dan DMSO 5%.....	71
17. Perhitungan pembuatan larutan stok dilusi.....	72
18. Hasil uji statistik.....	74
19. Formulasi dan pembuatan media.	83

INTISARI

NINGTYAS, Y.L., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Serbuk daun cabe rawit lalu diremaserasi dengan etanol 70% kemudian difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Ekstrak etanol 70%, dan fraksi diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% untuk menentukan ekstrak atau fraksi teraktif, dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi, dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,7813%; 0,3906%; 0,1959%; 0,0977% terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Diameter daya hambat diukur, dan dilakukan uji statistik menggunakan uji ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri, dan fraksi etil asetat dari daun cabe rawit mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, dengan konsentrasi bunuh minimum 12,5%.

Kata kunci : *Capsicum frutescens* L, *Escherichia coli* ATCC 25922, difusi, dilusi

ABSTRACT

NINGTYAS, Y.L., 2017 , ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL 70% EXTRACT, FRACTION *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER OF CHILI LEAVES (*Capsicum frutescens* L) AGAINST BACTERIA *Escherichia coli* ATCC 25922, THESIS , FACULTY OF PHARMACY , UNIVERSITY OF SETIA BUDI , SURAKARTA.

Chili leaves (*Capsicum frutescens* L.) contains flavonoids, saponins, alkaloids, and tannins that are suspected of having antibacterial activity. The purpose of this research was to know antibacterial activity of ethanol extract 70%, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate, and water from chili pepper leaves (*Capsicum frutescens* L.) against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Chili leaves powder was remacerated with ethanol 70% then fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and water. The ethanol extract was 70%, and the fractions were tested for antibacterial activity using diffusion method, with concentration of 50%, 25%, and 12,5% to determine the most active extract or fraction, followed by antibacterial activity test using dilution method, with concentration 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.5625%; 0.7813%; 0.3906%; 0.1959%; 0.0977% against the bacterium *Escherichia coli* ATCC 25922. The diameter of inhibitory power was measured and statistically analysed using ANOVA.

The results showed that 70% ethanol extract, of *n*-hexane fraction, ethyl acetate, and water from chili pepper leaves (*Capsicum frutescens* L.) had antibacterial activity, and ethyl acetate fraction of chili pepper leaves had the most active antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, with a minimum kill concentration of 12,5%.

Keywords: *Capsicum frutescens* L, *Escherichia coli* ATCC 25922, diffusion, dilution.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit diare merupakan salah satu penyakit utama yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat Indonesia. Angka kejadian diperkirakan 20-50 kejadian diare per 100 penduduk setiap tahunnya (Paramitha *et al.* 2010). Diare adalah gangguan pencernaan yang ditandai dengan penurunan konsentrasi tinja (menjadi lunak atau cair) dalam waktu 24 jam. Gambaran secara klinis diare adalah buang air besar dengan frekuensi tiga kali atau lebih sehingga menyebabkan badan lesu dan lemas, tidak nafsu makan, serta muntah (Kairupan *et al.* 2014).

Salah satu penyebab penyakit diare adalah bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bagian dari flora normal saluran usus. *Escherichia coli* ditemukan dalam usus besar manusia dan tidak menimbulkan penyakit pada inang yang dalam keadaan normal. *Escherichia coli* pada keadaan tertentu dapat menimbulkan penyakit apabila terjadi perubahan pada inang seperti sistem imun yang menurun (Sarson *et al.* 2010). Mekanisme kerja *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare dengan cara memproduksi enterotoksin yang berlebih sehingga menimbulkan invasi pada lapisan epitelium dinding usus yang menyebabkan peradangan dan kekurangan cairan tubuh (Volk & Wheeler 1988).

Salah satu alternatif pengobatan untuk diare adalah dengan menggunakan tanaman obat (Defrin *et al.* 2010). Tanaman obat mempunyai peranan penting dalam kesehatan dan sudah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman obat tradisional yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan penyakit diare adalah tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.). Cabe rawit di masyarakat biasanya dimanfaatkan sebagai bumbu masakan sehari-hari.

Kandungan kimia daun cabe rawit yang memiliki khasiat sebagai antibakteri adalah flavonoid. Penelitian Yunita (2012) mengidentifikasi adanya senyawa glikon dan flavonoid pada daun cabe rawit. Penelitian Yunita (2012) dilanjutkan oleh Rahim dkk (2014) diketahui bahwa ekstrak etanolik 70% daun

cabe rawit memiliki efektivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Risa dkk (2010) menunjukkan bahwa beberapa tumbuhan obat tradisional memiliki potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, antara lain adalah daun cabe rawit.

Berdasarkan latar belakang di atas, daun cabe rawit mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini mendasari perlunya melakukan penelitian lebih lanjut ke tahap fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa berdasarkan perbedaan polaritasnya. Proses penyarian menggunakan metode maserasi sesuai dengan penelitian Rahim dkk (2014) dengan menggunakan pelarut etanol agar senyawa yang bersifat polar, semi polar, dan non polar dapat terlarut dan tersari, kemudian dilakukan pemisahan komponen senyawa kimia berdasarkan perbedaan polaritasnya dengan cara fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi atau pengenceran. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram disk untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dengan cara melihat diameter zona hambat disekitar cakram disk, sehingga dapat diketahui ekstrak atau fraksi teraktifnya. Ekstrak atau fraksi teraktif yang telah diketahui dilanjutkan dengan metode dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922?

Kedua, manakah dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air yang paling aktif aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak atau fraksi teraktif?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, untuk mengetahui di antara ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air yang paling aktif mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak atau fraksi teraktif.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat daun cabe rawit dapat digunakan sebagai obat tradisional, dan dapat menambah ilmu pengetahuan tentang cara mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun Cabe Rawit

1. Sistematika tumbuhan

Klasifikasi secara lengkap tanaman cabe rawit adalah sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Subdivisi : Angiospermae (biji berada dalam buah)
Kelas : Dicotyledoneae (biji berkeping dua/biji belah)
Ordo (bangsa) : Solanales
Famili (suku) : Solanaceae
Genus (marga): Capsicum
Spesies : *Capsicum frutescens* L. (Samuel *et al.* 1987)



Gambar 1. Tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)

2. Nama umum / dagang

Nama cabe rawit di tiap daerah di Indonesia berbeda-beda, yaitu: Sumatera: leudeuaarum, lombok pentek (Gayo), situdu langit, lacina sipane (Simelungmz), lada limi (Nias), lombok mutia (Melayu). Jawa: cabe rawit, cabe cengek (Sunda), lombok jempling, lombok jemprit, lombok rawit, lombok gambir, lombok setan, lombok cempling (Jawa), cabhi letek, cabhi taena manok

(Madrara). Nusa Tenggara: tabia krinyi (Bali), kurus(Alor). Sulawesi: kaluya kapal (bent.), mareta dodi (Mongond.), malita diti (Gorontalo), m. didi (Buol), lada masiwu (Baree), lombok marica, lombok capa, laso meyong (Mak.), lombok meyong, ladang burica, lombok marica (Bug.), rica halus, rica padi (Manado). Maluku: Abrisan kubur (Seram), karatupa batawe (Elpaputi), katupu walata (Waraka), araputa patawe (Atamano), kalapita batawi (Amahai), karatuba manesane (Nuaulu), karatupa. batawi (Sepcc), maricang kekupe (Weda), rica gufu (Ternate). Irian: metrek wakfoh (Sarmi), basen tanah (Barik) (Samuel *et al.* 1987).

3. Deskripsi tanaman

Cabe rawit dapat ditanam di dataran rendah ataupun di dataran tinggi, tergantung dari kultivarnya. Tanah yang cocok untuk tanaman cabe adalah tanah yang gembur dan subur.

Tinggi tanaman cabe rawit 50-150 cm, batang pokok yang tua berkayu. Cabe rawit termasuk tanaman berumur panjang (perennial) dapat hidup 2-3 tahun, asal dipelihara dengan baik dan unsur hara tercukupi. Daun bulat telur, dasarnya lebih lebar, ujung menyempit dan meruncing, warna daun hijau muda, permukaan bawah berbulu, lebar 0,5-5 cm, panjang 1-10 cm, panjang tangkai 0,5-3,5 cm.

Bunga kecil, terletak pada ujung ranting, jumlahnya satu atau dua kadang-kadang lebih. Tangkai bunga tegak, panjangnya 1,5-2,5 cm, warnanya hijau muda. Kelopak bunga kecil, berbentuk bintang sudut 5, warnanya hijau kekuningan. Mahkota bunga warna kuning-kehijauan atau kekuningan, garis tengah 0,5-1 cm, bentuk bintang bersudut 5-6. Benangsari 5 buah, tegak, warna kepala sari ungu.

Buah cabe rawit kecil, berbentuk kerucut, ujung runcing, tegak, dan tangkainya panjang; panjang buah 1-3 cm, garis tengah 0,3-1 cm, bila masak warnanya merah cerah, oranye atau putih kekuningan, mengkilat.

Dikenal tiga varietas cabe rawit terdiri dari cabe rawit putih, cabe rawit jengki, dan cabe rawit jemprit (Samuel *et al.* 1987).

4. Khasiat daun cabe rawit

Secara empiris, daun cabe rawit memiliki khasiat untuk mengobati sakit perut, iritasi, diare, antibiotik, dan menurunkan kadar kolesterol (Samuel *et al.* 1987).

5. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada daun cabe rawit antara lain flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin (Yunita 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami proses perubahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya dalam bentuk yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiga. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat – zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa mineral (pelikan) yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dengan cara pengeringannya. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C-90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak lebih dari 60°C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C-45°C.

Berikut ini faktor yang mempengaruhi pengeringan yaitu : waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan, ketebalan bahan yang di keringkan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan.

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah sediaan kering, kental atau cair, dibuat dengan mengambil sari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Tiwari *et al.* 2011). Ekstraksi terbagi menjadi tiga macam antara lain : ekstrak cair, ekstrak kental liat dalam keadaan dingin dan tidak bisa dituang, dan ekstrak kering (Voigt 1995).

Cairan penyari yang dapat digunakan antara lain air, ester, dan campuran etanol dengan air. Pemilihan cairan penyari ekstraksi dipengaruhi beberapa faktor. Pertama, adanya selektivitas yaitu penyari hanya melarutkan ekstrak yang diinginkan dan bukan komponen lain dari bahan yang diekstraksi. Kedua, penyari sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar. Ketiga, penyari memiliki kemampuan tidak saling bercampur dalam bahan ekstraksi. Keempat, pada umumnya penyari tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen – komponen bahan ekstraksi. Selain itu, penyari sedapat mungkin harus murah, tidak beracun, tidak dapat terbakar, tidak korosif, dan stabil secara kimia (Voigt 1995).

2. Metode remaserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Yunita 2012).

3. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa tertentu dari campuran senyawa kompleks yang terdapat di dalam suatu ekstrak dengan

menggunakan dua macam pelarut yang saling tidak bercampur dalam rangka penyederhanaan keanekaragaman senyawa. Terkadang dengan satu kali saja dilakukan fraksinasi, yaitu dengan penggunaan teknik ekstraksi cair-cair, dapat diperoleh suatu senyawa dengan jumlah besar yang selanjutnya tinggal dimurnikan saja, misalnya dengan rekristalisasi sederhana. Namun, pada umumnya memerlukan fraksinasi yang berulang-ulang, baik dengan teknik yang sama atau kombinasi dengan teknik fraksinasi lain. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah *n*-heksana, etil asetat, dan air. Berbagai pelarut ini memiliki tingkat kepolaran berbeda sehingga digunakan untuk tujuan penarikan senyawa yang berbeda. Hal ini sejalan dengan tujuan fraksinasi yaitu untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya. Pelarut *n*-heksana mampu menarik senyawa nonpolar seperti asam lemak, etil asetat mampu menarik senyawa semipolar sedangkan air mampu menarik senyawa bersifat polar. Hasil tiap fraksinasi diuapkan sampai kental dengan penguapan putar pada suhu kurang lebih 50°C.

Fraksinasi kemudian dilanjutkan dengan proses pemisahan. Proses pemisahan merupakan suatu cara untuk mengisolasi sejumlah komponen kimia dalam keadaan murni dari suatu campuran. Proses pemisahan dilakukan untuk dua tujuan, yaitu kualitatif dan kuantitatif. Banyak analisis tumbuhan yang dicurahkan pada isolasi dan identifikasi kandungan sekunder dalam sekelompok jenis tumbuhan tertentu dengan harapan menemukan beberapa kandungan yang strukturnya baru atau tidak biasa. Penentuan kuantitas komponen yang ada dalam ekstrak tumbuhan sama pentingnya dengan penentuan kualitatif ekstrak tumbuhan tersebut, di mana masing-masing komponen dapat ditentukan kuantitasnya dengan mudah secara KGC atau KCKT (Harbone 1987).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan dalam proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tergantung dari daya larut zat yang aktif dan yang tidak aktif serta yang tidak diinginkan dari bahan obat tersebut dan tergantung dari preparat yang digunakan (Ansel 1989). Etanol dipilih sebagai

cairan penyari karena lebih selektif, kuman sulit tumbuh dalam etanol pada konsentrasi diatas 20%, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, dan panas yang digunakan untuk pemekatan lebih kecil. Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Dapat juga menggunakan metanol, tetapi metanol lebih polar dibandingkan etanol, karena sifat metanol lebih sitotoksik, hal ini tidak cocok untuk beberapa penelitian karena mengakibatkan salah hasil (Tiwari *et al.* 2011).

n-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna, bersifat mudah terbakar, baunya khas, tidak dapat larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter. Senyawa yang dapat larut dalam *n*-Heksana yaitu senyawa yang bersifat polar seperti terpenoid, sisterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al.* 2011).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah menguap dan mudah terbakar, sehingga penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terlindung dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih tidak berwarna, bau khas, larut dalam 15 bagian air bercampur dengan eter dan etanol. Senyawa yang dapat larut adalah flavonoid, alkaloid, dan senyawa-senyawa fenolik (Harbone 1987).

Air adalah pelarut serba guna. Kemampuan air dalam melarutkan zat tersimpan dalam polaritas yang dimiliki oleh air. Air dapat melarutkan zat-zat yang bersifat ionik dan polar saja. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan, karena zat aktif ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al.* 2011).

D. Escherichia coli

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah, dan air. Bakteri ini merupakan flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia (Jawetz *et al.* 2012).

1. Sistematika *Escherichia coli*

Menurut Jawetz *et al.* (2012) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
Sub Divisi : Schizomycetea
Class : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

2. Morfologi dan identifikasi

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, dari anggota familia Enterobacteriaceae. Ukuran sel dengan panjang 2,0 – 6,0 μm dan lebar 1,1 – 1,5 μm . Bentuk sel dari bentuk seperti coocal dan tidak ditemukan spora. Selnya bisa berbentuk tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* biasanya tumbuh secara bergerombol serta dapat tumbuh pada berbagai kondisi. *Escherichia coli* hidup didalam saluran pencernaan manusia dan hewan sebagai flora normal. *Escherichia coli* seperti Gram negatif lainnya dapat mensintesis semua asam amino yang dibutuhkan (Jawetz *et al.* 2012).

Pertumbuhan yang baik *Escherichia coli* pada suhu optimal 37⁰C pada media yang mengandung 1% peptone sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 60⁰C selama 15 menit atau pada 55⁰C selama 60 menit (Pelczar dan Chan 1998).

3. Toksin *Escherichia coli*

Escherichia coli menghasilkan enterotoksin yang disebut *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC). ETEC tidak tahan terhadap pemanasan yang dapat menyebabkan meningkatnya sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus. Sekresi

tersebut mengakibatkan diare ringan pada anak-anak dan mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus yang disebut *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC) (Jawetz *et al.* 2012).

4. Patogenesis

Patogenitas adalah kemampuan agen patogen untuk menimbulkan penyakit. Patogenisitas mencakup inisiasi dari proses infeksi dan mekanisme yang menyebabkan gejala penyakit. *Escherichia coli* diisolasi pertama kali oleh Theodore Escherich pada tahun 1885 dari tinja seorang bayi. *Escherichia coli* termasuk dalam bakteri patogen penyebab diare yang diklasifikasikan menjadi 5 berdasarkan toksinnya yaitu: *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC), *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC), *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC), *Escherichia coli* hemoragik (EHEC), dan *Escherichia coli* enteroagregatif (EAEC).

5. Pengobatan diare

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati menggunakan antibiotik seperti ciprofloxacin, cotrimoxazole, metronidazole, injeksi gentamicine, dan amoxicillin. Obat lain yang digunakan adalah probiotik, untuk penyembuhan diare akut (Korompis *et al.* 2013).

E. Antibakteri

1. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Zat antibakteri berinteraksi dengan bakteri dapat bersifat bakteriostatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakterisid (membunuh bakteri), perbedaan kedua sifat tersebut terutama didasarkan pada dosis yang digunakan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif,

artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Brooks *et al.* 2007).

2. Mekanisme antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 5, yaitu: mengganggu metabolisme dinding sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat atau merusak sintesis asam nukleat sel bakteri (Odianti 2010).

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

2.2. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis sel dinding; diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin, dan diakhiri oleh penisilin, dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidase) dalam rangkaian reaksi tersebut. Tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka

kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Akhyar 2010).

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

2.4. Menghambat sintesis protein sel bakteri. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah golongan aminoglikosid, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan berbagai cara yaitu antara lain: linkomisin berikatan dengan komponen ribosom 50S dan menghambat sintesis protein. Tetrasiklin berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA asam amino pada lokasi asam amino. Streptomisin berikatan dengan komponen ribosom 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan dibentuk protein yang abnormal dan non fungsional pada sel bakteri. Kloramfenikol berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat peningkatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim peptidil transferase (Akhyar 2010).

2.5. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Rifampisin digunakan sebagai antivirus, yang berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA

oleh enzim bakteri tersebut. Golongan kuinolon sendiri menghambat enzim DNA girase pada bakteri yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga muat dalam sel bakteri yang kecil (Akhyar 2010).

3. Metode pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai indikator pengujian. Dalam hal ini mikroorganisme digunakan sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, dan untuk mendiagnosa penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia untuk menentukan potensi mutagenik atau karsinogenik suatu bahan.

Prinsip penggunaan antibakteri didasarkan pada dua pertimbangan utama, yaitu penyebab infeksi dan faktor pasien. Pemberian antibakteri yang paling ideal adalah berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologis dan uji kepekaan kuman (Tan dan Raharja 1989). Kegunaan uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode ini dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk dengan mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2012). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu: metode silinder, metode lubang/sumuran, dan metode cakram kertas (Kusmayati & Agustini 2007).

Metode dilusi merupakan metode yang menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Kegunaan menggunakan metode ini adalah memberi hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 1986).

F. Media

1. Pengertian

Media adalah tempat mikroba untuk tumbuh dan mengambil nutrisi. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang dibutuhkan mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH sesuai dengan kebutuhan mikroba. Dan media harus dalam keadaan steril, maksudnya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, media tersebut tidak ditumbuhi media lain (Abdurahman 2008).

2. Macam-macam media

Menurut konsistensinya media dibagi menjadi tiga, yaitu medium cair, medium padat, dan medium semi padat. Medium cair seperti kaldu glukosa yang digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Medium padat adalah hasil menambahkan bahan pematat pada medium kaldu yang dapat digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni, dan mengisolasi biakan murni. Medium semi padat mengandung gelatin dan atau agar-agar namun konsentrasinya lebih kecil dari pada medium padat yang biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Hadioetomo 1985).

G. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum digunakan dibagi menjadi tiga, yaitu sterilisasi secara fisik, sterilisasi secara kimia, dan sterilisasi secara mekanik. Sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan basah dan kering, selain itu juga dapat menggunakan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar α , sinar gamma, dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang dapat mengalami penguraian atau perubahan akibat pemanasan tekanan tinggi (Darmandi 2008). Pada bahan atau perlengkapan

yang akan digunakan untuk uji mikroba harus benar-benar dalam keadaan steril, yaitu harus bebas dari mikroba yang tidak diperlukan (Suriawiria 2005).

Media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan autoclav pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam. Untuk alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Dan terakhir sterilisasi inkas menggunakan formalin (Denyer 2004).

H. Amoxicillin

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

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

I. Landasan Teori

Penelitian Yunita (2012) mengidentifikasi adanya kandungan flavonoid dan glikon pada daun cabe rawit. Penelitian Yunita (2012) dilanjutkan oleh Rahim dkk (2014) yang diketahui bahwa ekstrak etanolik daun cabe rawit memiliki efektivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode penyarian yang digunakan adalah remaserasi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi. Metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%, karena kebanyakan golongan senyawa seperti flavonoid, fenol-fenol, dan terpenoid dapat larut dalam pelarut tersebut. Etanol juga memiliki kelebihan karena bersifat selektif dan tidak dapat ditumbuhi mikroorganisme (Voigt 1995).

Fraksinasi yang digunakan adalah pelarut non polar, semipolar dan polar yang berturut-turut yaitu *n*-heksana, etil asetat dan air. Pelarut *n*-heksana adalah pelarut yang sifatnya nonpolar, maka dapat menyari senyawa yang bersifat non polar juga misalnya terpenoid. Pelarut etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar, yang digunakan untuk melarutkan senyawa semipolar misalnya flavonoid dan alkaloid. Dan pelarut air adalah pelarut polar yang digunakan untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar misalnya tanin, dan saponin.

Metode penelitian yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ini adalah difusi dan dilusi. Metode difusi adalah salah satu metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari suatu antibiotik terhadap bakteri uji. Metode difusi ini memberi hasil diameter zona hambat. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM) dan konsentrasi hambat minimum (KHM). Prinsip metode dilusi adalah menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat (Jawetz *et al.* 2012).

Amoxicillin adalah salah satu jenis antibiotik penisilin yang digunakan untuk mengatasi berbagai jenis bakteri. Misalnya, amoxicillin digunakan untuk mengobati infeksi pada saluran pernapasan, saluran kemih, dan telinga. Amoxicillin hanya berfungsi untuk mengobati infeksi bakteri dan tidak berdampak pada infeksi virus. Obat ini membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Penggunaan antibiotik amoxicillin

sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri (Goodman & Gilman 2008).

J. Hipotesis

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

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun cabe rawit mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) hasil ekstrak etanol atau fraksi teraktif ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari CV. Multi Global Agrindo, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diambil secara acak, dipilih daun yang tidak terlalu muda juga tidak terlalu tua, segar, dan bebas dari penyakit yang diperoleh dari CV. Multi Global Agrindo, Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang akan diteliti secara langsung. Variabel utama penelitian ini yaitu ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama memuat semua identifikasi dari semua variabel yang akan diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit dengan berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dipengaruhi oleh ekstraksi atau fraksinasi daun cabe rawit yang dilihat dari daya hambat dan daya bunuhnya.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, kondisi laboratorium (meliputi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril, media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, dan metode maserasi).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun cabe rawit adalah bagian dari tanaman cabe rawit yang diperoleh dari CV. Multi Global Agrindo, Karanganyar, Jawa Tengah.

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

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

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

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

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

Ketujuh, *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah bakteri Gram negatif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi untuk ekstrak etanol 70%, dan fraksi daun cabe rawit, sedangkan metode dilusi untuk fraksi teraktif dari daun cabe rawit.

Kesembilan, tujuan metode difusi adalah untuk mengukur luas daerah hambatan pertumbuhan bakteri dengan kontrol negatif adalah DMSO 5 % dan kontrol positif antibiotik amoxicillin, dan konsentrasi yaitu: 50%; 25%; 12,5%.

Kesepuluh, tujuan metode dilusi adalah untuk menentukan nilai KHM dan KBM dengan konsentrasi : 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,7813%; 0,3906%; 0,1959%; 0,0977%, dengan kontrol negatif fraksi teraktif dan kontrol positif suspensi bakteri.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit diambil dari CV. Multi Global Agrindo, Karanganyar, Jawa Tengah.

1.2. Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922.

1.3. Medium. Media ini digunakan untuk menangkap atau menumbuhkan bakteri: BHI (*Brain Heart Infusion*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), EA (Endo Agar), NA (Nutrient Agar), SIM, KIA, LIA dan citrat.

1.4. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, aquadest steril, DMSO 5%, HCl 2N, H₂SO₄ pekat, FeCl₃, Serbuk Mg, larutan mayer, larutan Dragendrof, safranin (gram D), alkohol (gram C), larutan kristal violet (gram A), dan larutan mordant (gram B).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penyerbuk, ayakan no. 40, timbangan analitik, mikropipet, seperangkat alat vacuum rotary evaporator, labu takar, gelas ukur, batang pengaduk, cawan penguap, seperangkat alat *moisture balance*, seperangkat alat *Sterling Bidwell*, autoklaf, inkubator, inkas, jarum ose, kapas lidi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, oven, lampu spiritus, cawan petri, beaker glass, pipet ukur, penggaris, kertas saring, kain flanel, dan pinset.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman cabe rawit yang bertujuan untuk menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dan untuk mengidentifikasi apakah bahan yang diambil benar-benar tanaman cabe rawit, dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman cabe rawit dengan acuan buku. Tanaman cabe rawit diidentifikasi di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Sampel daun cabe rawit yang diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu muda juga tidak terlalu tua, masih segar dan bebas dari hama diambil dari CV. Multi Global Agrindo, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Januari 2017.

3. Pembuatan serbuk daun cabe rawit

Pembuatan serbuk daun cabe rawit adalah dengan cara daun cabe rawit dicuci bersih dengan air mengalir terlebih dahulu. Daun cabe rawit yang sudah bersih dikeringkan dan dioven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, setelah kering segera diserbuk dengan mesin penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga didapatkan serbuk daun cabe rawit yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Penyerbukan ini bertujuan agar luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat langsung secara efektif.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit digunakan menggunakan alat *moisture balance*. Suhu atau temperatur diatur yaitu sebesar 105°C dan waktu pengeringan secara manual hingga kering. Serbuk daun cabe rawit dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00, lalu dimasukkan serbuk daun cabe rawit sebanyak 2 gram. Ditunggu sampai alat berbunyi, menandakan

hasil analisa telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana kadar air tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabe rawit

Metode ekstraksi daun cabe rawit yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada metode ekstraksi penelitian Rahim dkk (2014). Serbuk daun cabe rawit sebanyak 2200 gram diremaserasi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Campuran ini kemudian digojog-gojog supaya tercampur rata dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam campuran ini disaring dengan kain flanel dan kertas saring untuk didapat sari-sarinya. Proses penyarian ini dilakukan sebanyak dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Maserat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam vacuum rotary evaporator untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental (Kemenkes RI 2010).

6. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun cabe rawit 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan 125 mL pelarut xylene, kemudian memasang alat *Sterling Bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati dengan api kecil, setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Kementrian Kesehatan RI 2013).

7. Penetapan persen rendemen

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

$$\% = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk daun cabe rawit (L.)}} \times 100$$

8. Tes bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

Uji bebas etanol daun cabe rawit dilakukan dengan cara esterifikasi etanol, dimana ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak terdapat etanol (Praeparandi, 2006).

9. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit

Ekstrak daun cabe rawit sebanyak 10 gram dilarutkan dengan 10 mL etanol dan 65 mL air, kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksana dengan diekstraksi cair-cair sebanyak 3x masing-masing 75 mL. Fase *n*-heksana ditampung dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator sehingga menjadi fraksi *n*-heksana. Fase air yang terbentuk selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan pelarut etil asetat sebanyak 3x masing-masing 75 mL. Fase etil asetat yang didapat dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator sehingga menjadi fraksi etil asetat dan residu air ditampung dalam wadah lalu dikeringkan dengan *waterbath* sehingga menjadi fraksi air.

10. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun cabe rawit

Identifikasi kandungan senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun cabe rawit. Pengujian kandungan senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi.

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

10.2. Identifikasi flavonoid. Serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi teraktif daun cabe rawit dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquadest

selama satu menit. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan 0,1 gram serbuk magnesium dan ditambahkan 2 mL larutan alkohol 95% : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995).

10.3. Identifikasi alkaloid. Serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi teraktif daun cabe rawit dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan sedikit HCl 2N dipanaskan lalu ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan dragendroff terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1989).

10.4. Identifikasi tanin. Serbuk, ekstrak etanol dan fraksi teraktif daun cabe rawit dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 10 mL air panas kemudian di didihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 mL larutan B ditambah pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman atau hitam kehitaman (Robinson 1995).

11. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Cawan petri dan tabung reaksi disterilkan dengan oven pada suhu 170⁰-180⁰C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung, dan sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria, 2005).

12. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

12.1. Identifikasi bakteri uji secara makroskopis. Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan cara biakan *Escherichia coli* ATCC 25922 diinokulasikan pada media selektif EA (Endo Agar) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu dengan warna seperti kilap logam (Bonang & Koeswadono 1982).

12.2. Identifikasi mikroskopis bakteri uji dengan pewarnaan gram. Pewarnaan dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri tersebut golongan

Escherichia coli. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara membuat preparat ulasan yang difiksasi kemudian ditetesi kristal violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada preparat sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama kurang lebih 1 menit, kemudian dicuci dengan aquadest mengalir. Preparat lalu ditetesi mordant (lugol's iodine / Gram B), didiamkan selama kurang lebih 1 menit kemudian dicuci kembali dengan aquadest mengalir dan diangin-anginkan. Preparat dilunturkan dengan gram C (alkohol) sampai alkohol yang jatuh berwarna jernih, lalu dicuci dengan aquadest mengalir. Preparat ditetesi dengan gram D (safranin) dan ditunggu 45 detik kemudian preparat dicuci dengan aquadest mengalir setelah itu preparat dikeringkan dengan *tissue* yang ditempelkan disisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara dan diamati dibawah mikroskop (Volk dan Weeler 1988).

12.3. Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Identifikasi berdasarkan uji biokimia dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA dan Sitrat.

Pertama, media SIM (Sulfida Indol Motility). Biakan murni diinokulasi pada permukaan media dengan diinokulasi tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila media berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah dengan reagen Erlich A dan B. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media (Anonim 2008).

Kedua, media KIA (*Kliger's Iron Agar*) merupakan media yang berbentuk padat, keadaan miring, warna merah, dan berfungsi untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) serta sulfida. Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada bagian lereng dan dasar ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam pada media. Pada bagian miring, jika bakteri dapat memfermentasi laktosa dan glukosa, warna media berubah menjadi kuning (Raihana 2011).

Ketiga, media LIA (*Lysin Iron Agar*) merupakan media yang mengandung glukosa, asam amino lisin dan brom kresol ungu sebagai pH indikator, serta

natrium tiosulfat. Metode ini bertujuan untuk identifikasi mikroba penghasil enzim yang mampu mendekarboksilasi asam amino lisin dan memproduksi gas H₂S. Pengujian ini dilakukan dengan cara inokulasi biakan bakteri secara tusukan dan goresan, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media menunjukkan positif adanya sulfida (Haryani 2012).

Keempat, media Sitrat. Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media sitrat merupakan media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal (Jawetz *et al.* 1986).

13. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diambil dari suatu biakan murni pada media Nutrient Agar (NA) diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam dalam tabung yang berisi 1 ml BHI kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan *Mc Farland* 0,5 yang dianggap dengan jumlah koloni $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000 (Bonang & Koeswardono 1982).

14. Pengujian aktibakteri daun cabe rawit secara difusi

Ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh diuji secara mikrobiologi dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian daya antibakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan metode perataan (*Spread Plate Method*) dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Uji difusi ini menggunakan metode cakram disk, dimana masing-masing cakram disk telah ditetesi sebanyak 20 µL ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, amoxicillin sebagai kontrol

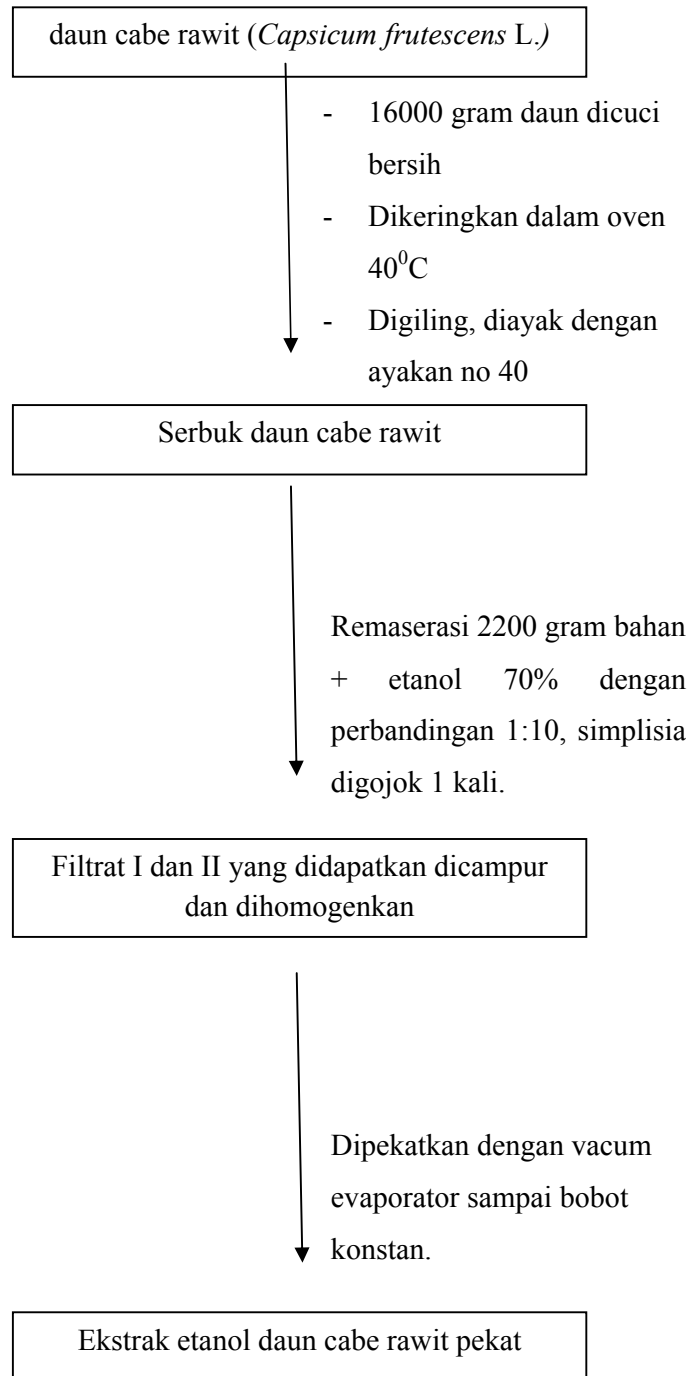
positif, dan DMSO 5 % sebagai kontrol negatif karena merupakan pelarut polaritas yang efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik maupun anorganik, dengan menggunakan mikropipet. Konsentrasi fraksi dalam tiap petri masing-masing 50%; 25%; dan 12,5%. Pembuatan konsentrasi fraksi *n*-heksana dan etil asetat menggunakan pelarut DMSO 5%, sedangkan fraksi air dilarutkan dalam aquadest steril. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar cakram disk yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram disk menandakan bahwa kandungan kimia daun cabe rawit memiliki daya hambat terhadap *Echerichia coli* ATCC 25922. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali.

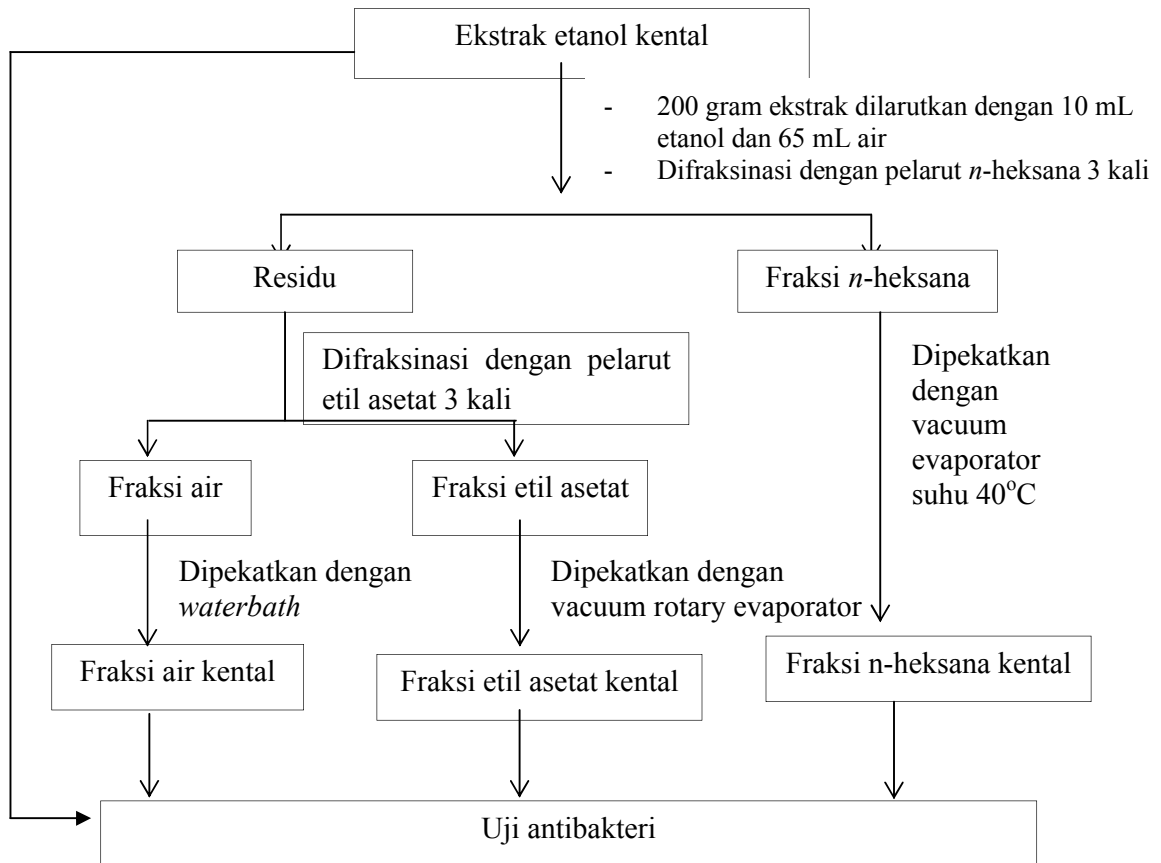
15. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah suatu sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 10 tabung steril secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali satu tabung sebagai kontrol positif dan satu tabung lagi sebagai kontrol negatif.

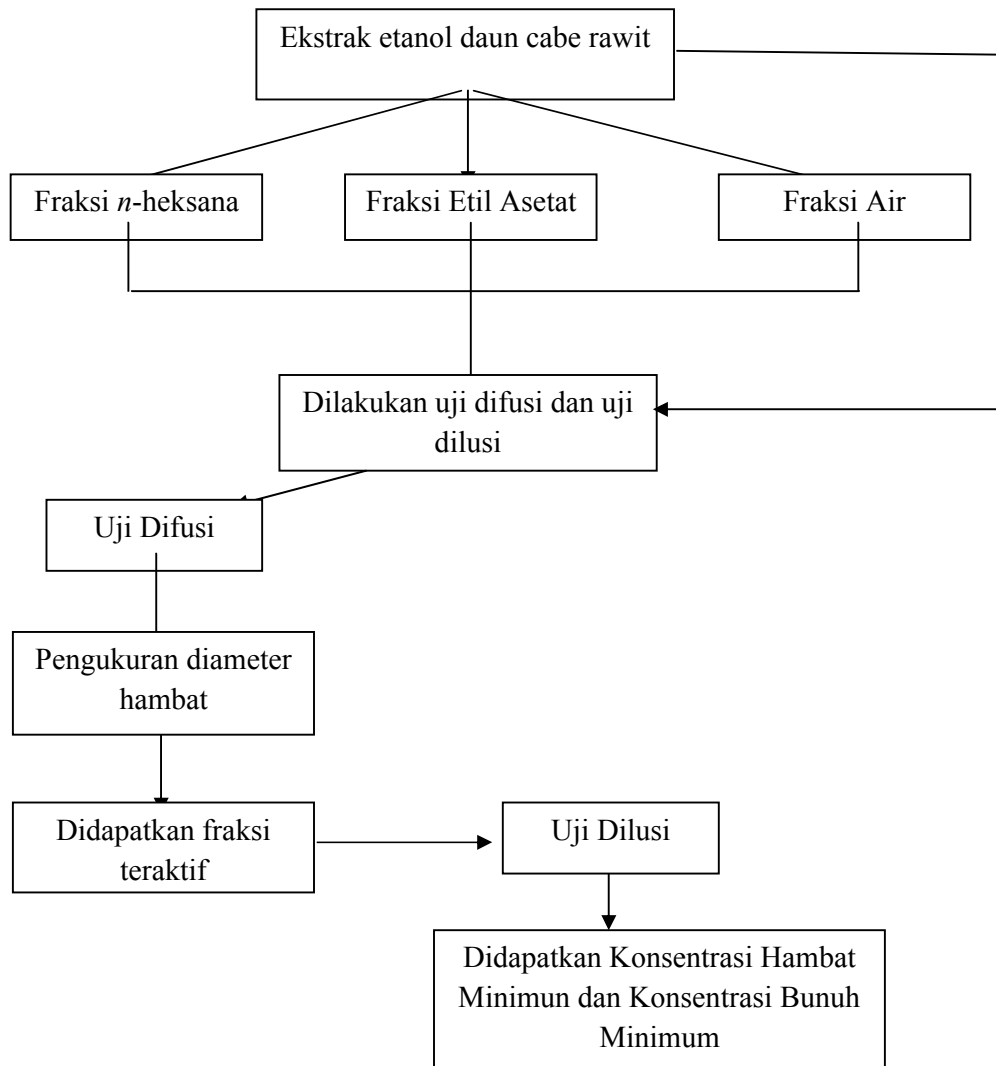
Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5% karena merupakan pelarut polaritas yang efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik maupun anorganik. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,7813%; 0,3906%; 0,1959%; 0,0977%. Medium BHI dimasukkan 0,5 mL ke dalam masing-masing tabung uji secara aseptis, tabung kedua dan ketiga ditambahkan 0,5 mL fraksi teraktif, dari tabung ketiga diambil 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung keempat dan begitu seterusnya sampai tabung kesebelas, terakhir diambil 0,5 mL lalu dibuang. Suspensi bakteri dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dimasukkan ke dalam tabung uji sebanyak 0,5 mL. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk

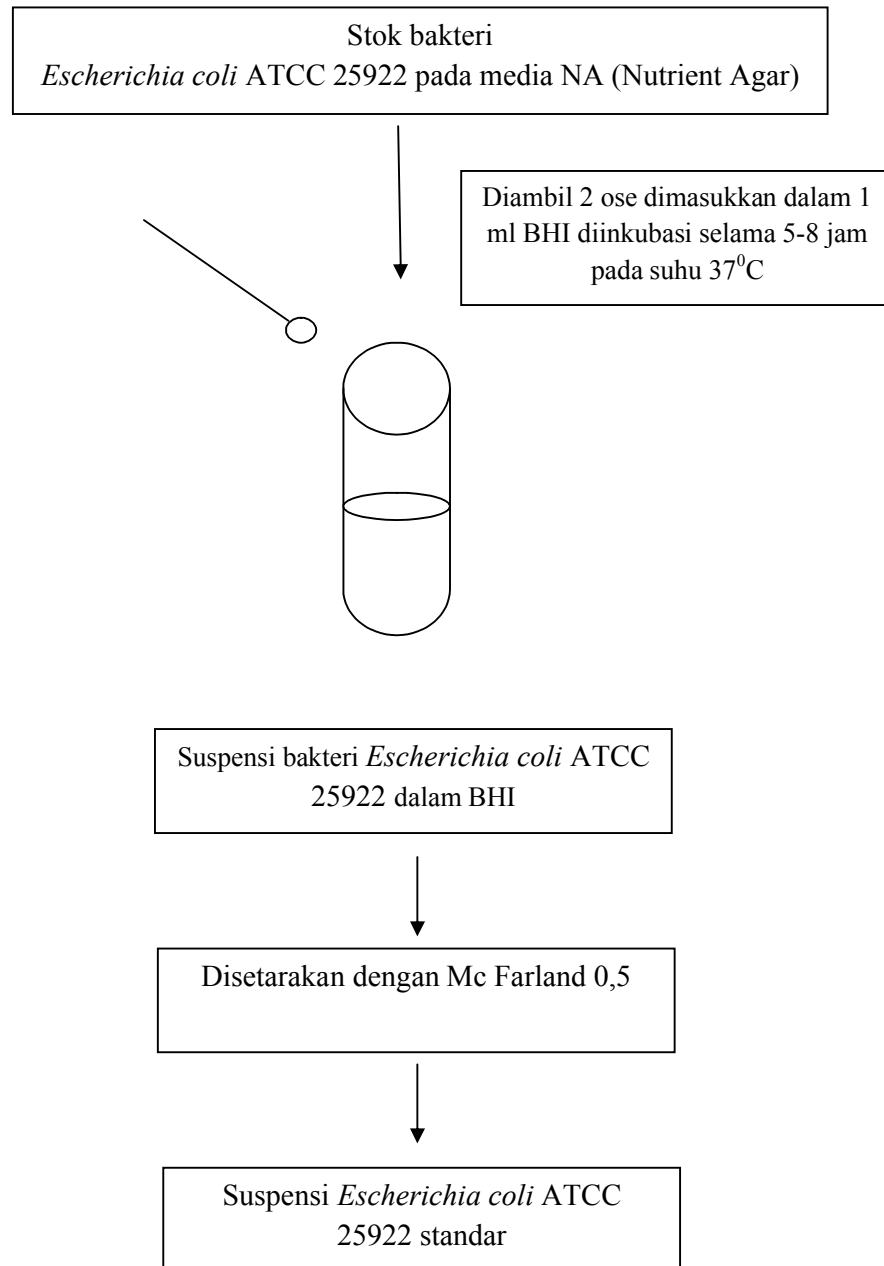
masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Mengamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media *EA* (Endo Agar) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali.

Skema penyarian daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)**Gambar 2. Skema kerja ekstrak daun cabe rawit secara remaserasi.**

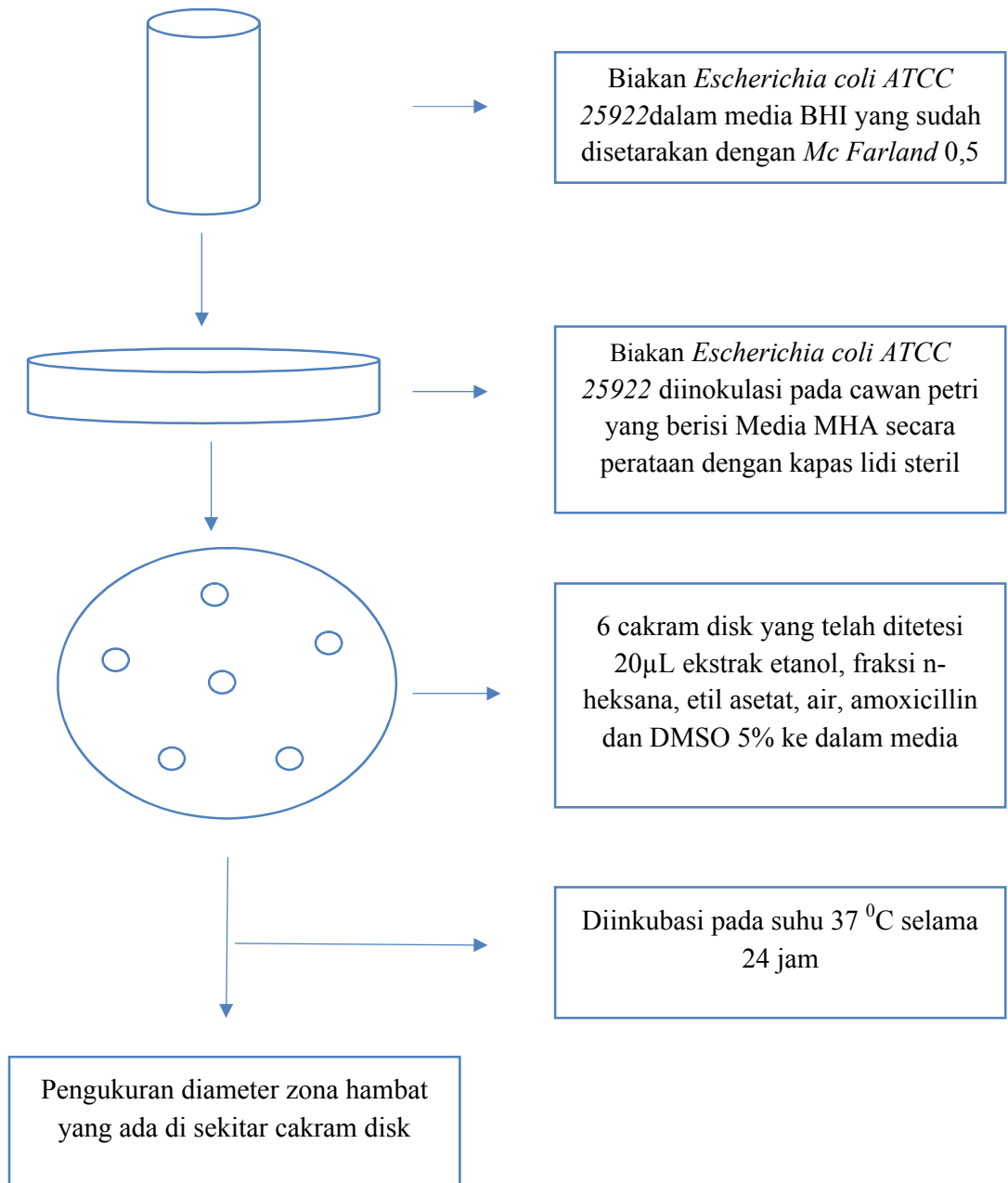


Gambar 3. Skema pembuatan fraksi daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.).

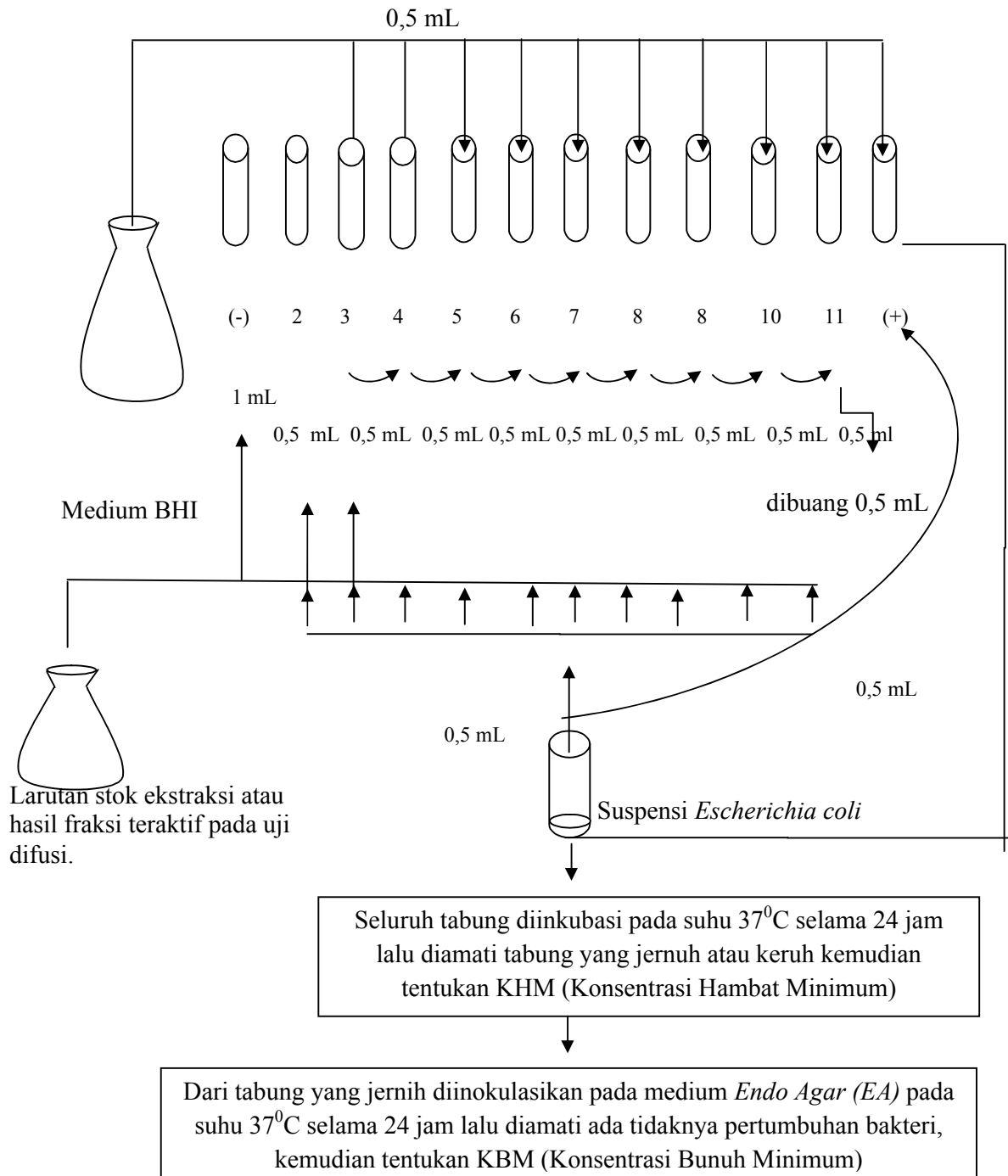
Skema uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan dilusi**Gambar 4. Skema jalannya penelitian.**



Gambar 5. Bagan kerja pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.



Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode difusi.



Gambar 7. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode dilusi.

E. Analisa data

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

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi dan deskripsi tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Determinasi tanaman cabe rawit dilakukan di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta. Determinasi tanaman cabe rawit ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel yang diambil, untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam mengumpulkan bahan serta kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan yang lain.

Hasil determinasi tanaman cabe rawit menurut Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978) : 1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a. golongan 8. 109b - 119b - 120b - 128b - 129b - 140b - 142b - 143b - 146b - 154b - 155b - 156b - 162b - 163b - 167b - 169b - 171b - 173b - 187b - 189b - 190b - 191a. familia 111. Solanaceae. 1b - 3b - 5b - 6b - 7a. 7. *Capsicum*. 1b. *Capsicum frutescens* L.

Deskripsi tanaman : Habitus : herba menahun, tegak, bercabang lebar, tinggi 0,5-1,5 m. Akar : sistem akar tunggang. Batang : percabangan monopodial, berkayu. Daun : tunggal, tersebar, tangkai 0,8-2 cm, helaian daun bulat telur memanjang atau bulat telur sampai lanset, pangkal runcing, ujung menyempit, panjang 5,5-8 cm, lebar 2,5-3,8 cm. Bunga : Di ujung atau di ketiak; berdiri sendiri atau 2 lebih bersama-sama, tangkai tegak dengan ujung mengangguk. Kelopak bentuk lonceng dengan 5 gigi kecil, dibawah buah membesar. Mahkota bentuk roda, berbagi 5 dalam, taju runcing, putih kehijauan. Kepala sari ungu. Buah : buah buni, bulat telur memanjang, tegak, waktu muda hijau, setelah tua merah, rasanya sangat pedas. Biji : Bulat, pipih kuning muda.

B. Pengambilan bahan

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

C. Pembuatan serbuk daun cabe rawit

Tabel 1 menunjukkan hasil perhitungan penentuan prosentase bobot kering terhadap bobot basah.

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabe rawit

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % (b/b)
16000	3150	19,69

Pengeringan bahan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya kerusakan oleh bakteri dan jamur, bekerjanya enzim sehingga terjadi perubahan kimiawi yang akan menurunkan kualitas simplisia. Bahan yang telah kering juga dapat mempermudah dalam pembuatan serbuk.

D. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

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

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

Replikasi	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,88	6,0
2	2,00	1,88	6,0
3	2,00	1,87	6,5
Rata-rata			6,2

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit diperoleh rata – rata susut sebesar 6,2% sehingga susut pengeringan serbuk daun cabe rawit memenuhi syarat dimana susut pengeringan suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

E. Pembuatan ekstrak remaserasi daun cabe rawit

Tabel 3 menunjukkan hasil rendemen ekstrak etanol daun cabe rawit.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun cabe rawit

Bahan Sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%b/v)
2200	438,8867	19,95

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

F. Penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit

Tabel 4 menunjukkan hasil penentuan kadar air ekstrak daun cabe rawit.

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

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air (mL)	Kadar air (%v/b)
1	20,00	1,8	9,0
2	20,00	1,8	9,0
3	20,00	1,7	8,5
Rata-rata			8,83

Hasil penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit dilakukan sebanyak satu kali. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit diperoleh rata-rata kadar sebesar 8,83 %v/b sehingga kadar air ekstrak daun cabe rawit memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

G. Uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

Tabel 5. Uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

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

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun cabe rawit telah bebas dari etanol 70% yaitu ditandai dengan tidak tercium bau ester yang khas dari etanol pada ekstrak.

H. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit

Ekstrak daun cabe rawit yang diperoleh dari remaserasi kemudian ditimbang sebanyak 10 gram untuk dilakukan fraksinasi sebanyak 20 kali pengulangan. Tabel 6 menunjukkan hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun cabe rawit sebanyak 107,697 gram.

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

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

Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil rendemen yang didapat setiap fraksi berbeda-beda, dimana fraksi air lebih besar dibanding fraksi etil dan fraksi *n*-heksana, sedangkan fraksi etil lebih besar dari pada fraksi *n*-heksana. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%, kemungkinan dapat disebabkan karena pada saat proses fraksinasi *n*-heksana terbentuk emulsi yang menyebabkan hasil yang diperoleh sangat sedikit, dan hasil yang menempel pada wadah.

I. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat daun cabe rawit

Identifikasi kandungan dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun cabe rawit. Tabel 7 menunjukkan hasil identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat daun cabe rawit.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat daun cabe rawit

Kandungan Kimia	Serbuk	Hasil Ekstrak	Fraksi Etil Asetat	Pustaka	Interpretasi Data		
					Serbuk	Ekstrak	Fraksi Etil Asetat
Saponin	Terbentuknya buih	Terbentuknya buih	Tidak terbentuknya buih	Terbentuknya buih tetap selama tidak kurang 10 menit (Depkes 1989)	+	+	-
Flavonoid	Adanya warna jingga pada lapisan amil alkohol	Adanya warna jingga pada lapisan amil alkohol	Adanya warna jingga pada lapisan amil alkohol	Warna merah / kuning / jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995)	+	+	+
Alkaloid	Endapan berwarna coklat sampai hitam	Endapan berwarna coklat sampai hitam	Endapan berwarna coklat sampai hitam	Endapan berwarna coklat sampai hitam dengan Dragendrof (Depkes 1989)	+	+	+
Tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	Hitam pekat	Biru kehitaman atau hijau kehitaman (Robinson 1995)	+	+	-

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa daun cabe rawit mengandung senyawa kimia saponin, flavonoid, dan alkaloid. Uji flavonoid dinyatakan positif dengan terjadinya perubahan warna jingga pada sampel ketika ditambahkan asam sulfat pekat. Uji saponin dinyatakan positif pada serbuk dan ekstrak setelah terbentuk busa lalu ditambahkan beberapa tetes larutan HCl 2N dikocok kuat busa tetap stabil. Uji alkaloid dinyatakan positif setelah terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam. Uji tanin dinyatakan positif pada serbuk dan ekstrak dengan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman pada sampel ketika ditambahkan FeCl₃ 1%. Fraksi etil asetat tidak terdapat tanin dan saponin, karena fraksi etil asetat bersifat semipolar, sedangkan tanin dan saponin dapat atau mudah terikat pada senyawa yang bersifat polar. Lampiran 6 menunjukkan hasil pengamatan kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat daun cabe rawit.

J. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

1. Identifikasi bakteri pada media *Endo Agar*. Hasil yang diperoleh yaitu positif dengan penampakan koloni dan kilap logam, hal ini dapat dipastikan bahwa bakteri uji termasuk bakteri *Escherichia coli*. Lampiran 5 menunjukkan hasil identifikasi bakteri uji dengan makroskopis.

2. Pengamatan mikroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 tersebut termasuk golongan Gram negatif. Bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 diperoleh hasil dengan sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli. Kristal violet (Gram A) ditetaskan sehingga menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Mordant (lugol iodine/Gram B) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh sel bakteri, seluruh bakteri akan berwarna biru. Gram C (alkohol) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks Kristal violet-iodine tidak menempel pada dinding sel bakteri, hal ini menyebabkan sel Gram negatif akan kehilangan warna birunya. Pewarna safranin (Gram D) ditetaskan sehingga sel Gram negatif yang awalnya kehilangan warna akan memiliki warna yang kontras yaitu merah. Lampiran 5 menunjukkan identifikasi mikroskopis *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pengecatan Gram.

3. Uji biokimia *Escherichia coli* ATCC 25922. Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil inokulasi melalui sifat-sifat fisiologisnya. Identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan medium yang terdiri dari, *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kliger's Iron Agar* (KIA), *Lysin Iron Agar* (LIA), dan Sitrat. Tabel 8 menunjukkan hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabel 8. Identifikasi uji biokimia pada *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	-++	-++
KIA	A/AG S(-)	A/AG S(-)
LIA	K/K S(-)	K/K S(-)
CITRAT	-	-

Keterangan:

- SIM : Sulfida Indol Motilitas
 KIA : Kliger Iron Agar
 LIA : Lysine Iron Agar
 A : Reaksi Asam
 K : Reaksi Basa
 G : Terbentuk gas
 S : Terbentuk Sulfida (warna hitam)

Medium *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian SIM menunjukkan hasil uji sulfida negatif, artinya *Escherichia coli* tidak dapat mendesulfurasi asam amino dan methio yang akan menghasilkan H₂S, sehingga H₂S tidak dapat bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media. Uji indol positif disebabkan bakteri *Escherichia coli* membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon. Uji indol menunjukkan hasil positif setelah ditambahkan tiga tetes reagen Erlich A dan B. Reagen Erlich A dan B mengandung dimetilaminobenzaldehid dan akan menghasilkan cincin merah pada permukaan media karena indol akan bereaksi dengan dimetilaminobenzaldehid sehingga membentuk rosindol yang berwarna merah. Uji motilitas diperoleh hasil positif, ditunjukkan dengan adanya penyebaran pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media SIM.

Medium *Kliger Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Hasil yang diperoleh yaitu A/AGS(-), A/A artinya pada lereng dan dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. Medium *Kliger Iron Agar* (KIA) mengandung laktosa 1% dan glukosa 0,1% dan *phenol red* (dalam suasana asam). *Kliger Iron Agar* (KIA) juga mengandung sodium thiosulfate yaitu suatu substrat penghasil H₂S. G artinya terdapat gas dikarenakan gas yang dihasilkan oleh fermentasi karbohidrat akan muncul sebagai celah di media atau akan mengangkat agar-agar dari bagian bawah tabung. S(-) artinya uji hydrogen sulfide negative ditunjukkan dengan tidak

adanya warna hitam pada media KIA, endapan hitam ini terbentuk dari hydrogen sulfida yang akan bereaksi Fe^{++} . Hidrogen sulfida terbentuk karena bakteri mampu mendesulfurasi asam amino dan methion.

Medium *Lysin Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA menunjukkan hasil K/KS(-), K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media, S(-) artinya uji H_2S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media *Lysin Iron Agar* (LIA)

Medium Sitrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrate sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian citrat menunjukkan hasil negatif. Hal ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal, dalam medium Citrat terdapat indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan citrat menyebabkan suasana basa sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922. Lampiran 5 menunjukkan hasil uji biokimia terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

K. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diambil dari suatu biakan murni pada media Nutrient Agar (NA) diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam dalam tabung yang berisi 1 ml BHI kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan *Mc Farland* 0,5 yang dianggap dengan jumlah koloni $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi mempunyai perbandingan pengenceran 1:1000 (Bonang & Koeswardono 1982).

L. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara difusi

Hasil dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat, dan air daun cabe rawit dilakukan pengujian aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan metode difusi dengan konsentrasi masing-masing 50%;

25%; dan 12,5%, sebagai kontrol positif amoxicillin dan kontrol negatif DMSO 5%. Tujuan uji ini untuk membandingkan mana yang paling efektif menghambat atau membunuh bakteri antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit .

Tabel 9 menunjukkan hasil diameter daya hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun cabe rawit secara difusi.

Tabel 9. Hasil diameter daya hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi

Sediaan Uji	Konsentrasi	Diameter daya hambat			Rata-rata (mm)
		Replikasi (mm)			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	10,0	9,0	9,0	9,3
	25%	8,0	8,0	8,0	8,0
	12,5%	7,0	8,0	8,0	7,7
<i>n</i> -Heksana	50%	0,0	0,0	0,0	0,0
	25%	0,0	0,0	0,0	0,0
	12,5%	0,0	0,0	0,0	0,0
Etil Asetat	50%	11,0	12,0	14,0	12,3
	25%	11,0	11,0	12,0	11,3
	12,5%	9,0	8,0	8,0	8,3
Air	50%	10,0	10,0	9,0	9,7
	25%	8,0	9,0	9,0	8,7
	12,5%	7,0	8,0	7,0	7,3
Amoxicillin	2,5%	27,0	28,0	28,0	27,7
DMSO	5%	0,0	0,0	0,0	0,0

Data diatas menunjukkan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit konsentrasi 50% memiliki zona hambat yang paling tinggi 12,3 mm dari pada sampel yang lain. Berdasarkan hasil yang diperoleh data dianalisis menggunakan uji ANOVA terhadap hasil pengamatan diameter zona hambat dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit, serta amoxicillin dan DMSO menunjukkan perbedaan yang signifikan. Data diameter zona hambat dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, kontrol positif, dan kontrol negatif diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis data diameter zona hambat menunjukkan nilai sig 0,073 > 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Uji ANOVA

dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, kontrol positif, dan kontrol negatif. Berdasarkan hasil test homogenitas data diameter zona hambat dinyatakan homogen dengan nilai sig $0,101 < 0,05$. Lampiran 16 menunjukkan hasil ANOVA pada diameter zona hambat diperoleh probabilitas $0,000 < 0,05$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan nyata aktivitas antibakteri.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat 50% terbukti paling aktif terhadap aktivitas antibakteri, karena dapat dilihat pada (Lampiran 16.) mempunyai daya hambat yang paling besar diantara ekstrak dan fraksi lain. Meskipun demikian fraksi etil asetat 50% tidak ada beda signifikan dengan fraksi etil asetat 25%, karena berada dalam subset yang sama, sehingga dapat dikatakan walaupun fraksi etil asetat 50% merupakan fraksi teraktif tetapi fraksi etil asetat 25% lebih efektif. Dalam penelitian ini amoxicillin masih lebih efektif digunakan di masyarakat dibanding dengan fraksi etil asetat.

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

Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri (Istiana 2005). Tanin terkondensasi mempunyai aktivitas antibakteri karena dapat mengikat dinding sel bakteri, menghambat pertumbuhan dan aktivitas protease (Cowan 1999).

M. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi.

Hasil dari uji aktivitas dengan metode difusi dilanjutkan dengan menggunakan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabe rawit yang memiliki diameter zona hambat paling besar, dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan metode dilusi untuk menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui mana yang mempunyai daya hambat yang paling baik terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian aktivitas fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan seri pengenceran konsentrasi masing-masing 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,7813%; 0,3906%; 0,1959%; 0,0977%. Lampiran 16 menunjukkan perhitungan pembuatan larutan stok secara dilusi. Tabel 10 menunjukkan hasil inokulasi fraksi etil asetat daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari daun cabe rawit terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi

Konsentrasi (%)	Hasil Inokulasi Fraksi Etil Asetat		
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
Kontrol (-)	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	-	-	-
6,25	-	-	+
3,13	+	+	+
1,56	+	+	+
0,78	+	+	+
0,39	+	+	+
0,19	+	+	+
0,09	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan:

(-) : tidak ada pertumbuhan koloni

(+) : ada pertumbuhan koloni

KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) adalah konsentrasi terendah dari fraksi etil asetat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. KHM diketahui dengan melihat kekeruhan pada tabung uji. Penelitian ini kekeruhan tabung uji

tidak dapat ditentukan, karena fraksi etil asetat berwarna gelap dan kekeruhannya tinggi.

KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dalam penelitian ini dapat diketahui dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media setelah bakteri hasil uji digoreskan pada media *Endo Agar*. Pembuktian secara goresan pada media selektif EA, hasil positif yang tampak pada media terlihat adanya pertumbuhan koloni *Escherichia coli* ATCC 25922 yang bercirikan koloni berwarna merah metalik karena EA mengandung fuchsin dan natrium sulfat. Warna koloni merah disebabkan bakteri *Escherichia coli* dan koliform memetabolisme laktosa menjadi aldehid dan asam, sehingga aldehid bereaksi dengan fuchsin. Koloni kilap disebabkan *Escherichia coli* bereaksi dengan fuchsin kristal sehingga fuchsin tersebut diserap.

Replikasi I dan II dari fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabe rawit konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25% diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada replikasi III konsentrasi 50%; 25%; 12,5% diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Hasil KBM yang diperoleh dari fraksi etil asetat karena adanya senyawa aktif semi polar yang dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 12,5%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi etil asetat tidak dapat ditentukan, serta Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat adalah 12,5%;

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian kombinasi antara daun cabe rawit dengan tanaman lain terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan menggunakan metode difusi dan dilusi.

Kedua, perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* terhadap fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.).

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti uji farmakologi, uji toksikologi dll terhadap fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.).

DAFTAR PUSTAKA


- Abdurrahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafindo Media Pratama.
- Akhyar. 2010. uji daya hambat dan analisis klt bioautografi ekstrak akar dan buah bakau (*rhizopora stylosa griff.*) terhadap *vibrio harveyii* [Skripsi]. Makasar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Hasanudin Makasar.
- Anonim. 2008. *The Biologi of Musa L*. Departement of Health and Ageing Office of The Gen Technology Regulator. <http://www.ogtr.gov.au>. [1 Februari 2012, pukul 20.02].
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Bridson, E.Y. 1998. *The Oxoid Manual*. Edisi 8. England: Oxoid Limited.
- Brooks, GF, Butel JS, Morse SA. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Hartanto H *et al*, penerjemah; Elferia RN, editor. New York. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Chusie TP dan Lamb AJ. 2005. *Antimicrobial Activity Of Flavoids International Jurnal Of Antimicrobial Agen School Of Pharmacy*. The Robert Gordon Universitas, Schoolhill, Aberdeen.
- Cowan MM. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*, Clinical Microbiology Reviews, Volume 12, No. 4, hlm 564-582.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial : Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Defrin DP, Santun BR, Lelly Y. 2010. Efek antidiare ekstrak air umbi sarang semut (*Mymecodia pendens*) pada mencit putih (*Mus musculus*). *Prosiding SnaPP* edisi Eksakta 2: 54-71.
- Denyer SP, Norman AH, Sean PG. 2004. *Pharmacheutical Mikrobiologi*. 7th. Victoria. Australia : Blackwell. Science. hlm 346-363.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika*. Jilid VI. Jakarta: Depkes RI.
- Goodman & Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Musadad A *et al*, penerjemah; Hardman JC, Limbird LE, editor. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeuties, 10th ed*.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia. hlm 42-44.

- Harbone JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Bandung : ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. hlm 155-157.
- Harminta RM. 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta : Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Haryani Y, Chainulfiffah, Rustiana, 2012. fermentasi karbohidrat oleh isolate salmonella spp. dari jajaran pinggir jalan. *Jurnal Indonesia Che. Acta* 3: 23-25.
- Istiana S. 2005. Perbandingan Daya Antibakteri Perasan Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb.) dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Jawetz, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Nugroho AW *et al.* penerjemah; Adiyaputri A *et.al.* editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jones SB, Luchsinger AE. 1987. *Plant Systematics* 2nd edition. Singapore: McGraw-Hill Book.
- Juliantina FR. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. JKKI-*Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kairupan PC, Fatimawati, Widya AL. 2014. Uji daya hambat ekstrak etanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 3: 93-98.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan. hlm 100-101.
- Korompis F, Tjltrosantoso H, Goenawi L. 2013. Studi penggunaan obat pada penderita diare akut di instalasi rawat inap Blu RSUP prof. Dr.R.D Kandou Manado periode Januari-Juni 2012. *Jurnal Farmasi-UNSRAT* 2: 42-50.
- Kusmayati, Agustini NWR. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentinum*). *Biodiversitas* 8: 48-53.
- Odiantri GT. 2010. uji aktivitas antibakteri alfa mangostin kulit buah manggis [Skripsi]. Surakarta; Fakultas Farmasi, Universitas Muhamadiyah.

- Paramita GW, Mutiara Soprima, Budi Haryanto. 2010. Perilaku Ibu Pengguna Botol Susu Dengan Kejadian Diare Pada Balita. *Mutiara Kesehatan* 14: 46-50.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Pelczar MM F. 1986. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*; Jilid I. Hadioetomo RS *et al*, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. hlm 107-173.
- Perucka I, Materska M. 2001. Phenylalanine ammonia-lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh pepper fruits *Capsicum annum* L. *Journal of Innovative Food Science & Emenging Technologies* 2: 189-192.
- Praeparandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kulitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl: 9.
- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mahasiswa Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahim A *et al*. 2014. efektivitas antibakteri ekstrak etanolik daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi: uji pendahuluan potensi tanaman obat tradisional sebagai alternatif pengobatan infeksi saluran pernafasan [Skripsi]. Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Raihana N. 2011. profil kultur dan uji sensitivitas bakteri aerob dari infeksi luka operasi liparatomi di bangsal bedah RSUP dr. Djamil Padang [Artikel]. Padang: Universitas Andalas Padang.
- Risa N, Zumaidar. 2010. potensi antibakteri tumbuhan obat tradisional (Antibacterial potential of some medicinal plants). Banda Aceh: Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah Darusalam.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Consituents of Higher Plants*. hlm 71-75.
- Sarson MRR, Jane Wuisan, Henoch Awaloei. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal e-Biomedik* 2: 1-3.
- Supardi. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit: Alumni Bandung. hlm 137-139.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Gramedia. hlm 42-44.
- Tiwari P, Bimleshk, Mandeep K, GurpreetK, Harleen K. 2011. Skrinning Fitokimia dan Ekstraksi. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1: 113-116.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, penerjemah. Yogyakarta. UGM Press. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*. hlm 557-578.
- Volk WA. dan Wheeler MF. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi 5. Markham, penerjemah; Adisoemarto S, editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Basic Microbiology*. hlm 331-335.
- Wagner H, Bladt S, Zgalnski EM. 1984. *Plant Drug Analysis*. New York: Springer-Verlag, 54, 164, 226.
- Yunita. 2012. uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak daun cabe rawit (*Capsicum frutescens L.*) dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi teraktif. [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

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


UPT- LABORATORIUM

No : 144/DET/UPT-LAB/11/1/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan


Menerangkan bahwa :

Nama : Yasri Lukito N
NIM : 19133741 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.)**
Hasil determinasi berdasarkan: Steenis : Flora.
1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179b – 187b – 189b – 190b – 191a. familia 111. Solanaceae. 1b – 3b – 5b – 6b – 7a. 7. Capsicum. 1b. *Capsicum frutescens* L.

Deskripsi :

Habitus : Herba menahun, tegak, bercabang lebar, tinggi 0,5 – 1,5 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Percabangan monopodial, berkayu.
Daun : Tunggal, tersebar, tangkai 0,8 – 2 cm, helaian daun bulat telur memanjang atau bulat telur sampai lanset, pangkal runcing, ujung menyempit, panjang 5,5 – 8 cm, lebar 2,5 – 3,8 cm.
Bunga : Di ujung atau di ketiak; berdiri sendiri atau 2 lebih bersama-sama, tangkai tegak dengan ujung menggantung. Kelopak bentuk lonceng dengan 5 gigi kecil. dibawah buah membesar. Mahkota bentuk roda, berbagi 5 dalam, taju runcing, putih kehijauan. Kepala sari ungu.
Buah : Buah bumi, bulat telur memanjang, tegak, waktu muda hijau, setelah tua merah, rasanya sangat pedas.
Biji : Bulat, pipih, kuning muda.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Fyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.


Lina Wiryosoendjoko, SU.

Jl. Letjen Sutuyo, Mojojongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Daun cabe rawit dan serbuk daun cabe rawit



Daun cabe rawit



Serbuk daun cabe rawit

Lampiran 3. Gambar alat fraksinasi, inkas, *Moisture Balance*, dan Vacuum

Rotary Evaporator



Inkas



Moisture Balance



Alat fraksinasi



Vacuum Rotary Evaporator

Lampiran 4. Gambar oven, inkubator, timbangan analitik, ayakan mess 40 dan *Sterling Bidwell*



Oven



Inkubator



Timbangan analitik

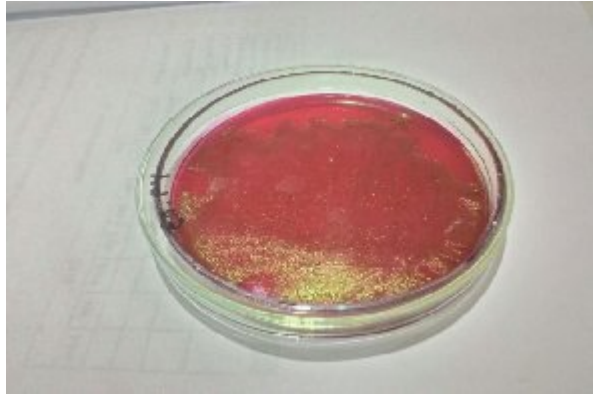


Ayakan no 40



Sterling Bidwell

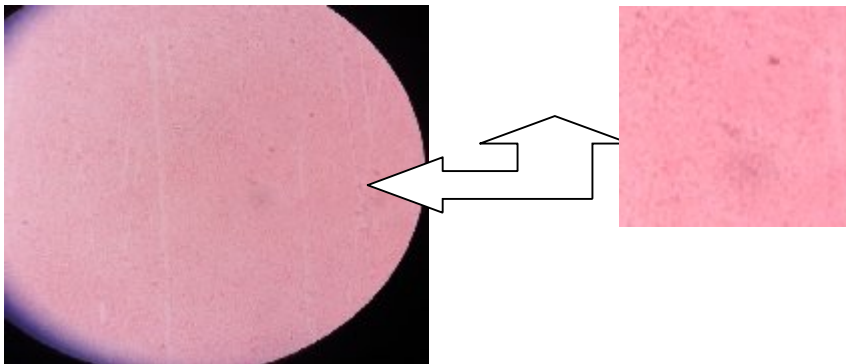
Lampiran 5. Gambar hasil identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922



Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media *Endo Agar*







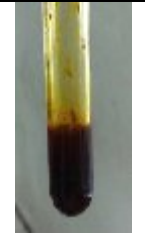







Uji *Escherichia coli* ATCC 25922 secara biokimia



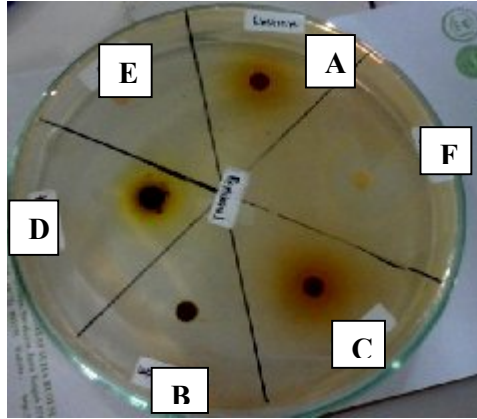
Pengamatan *Escherichia coli* ATCC 25922 secara mikroskopis

Lampiran 6. Identifikasi kandungan kimia daun cabe rawit

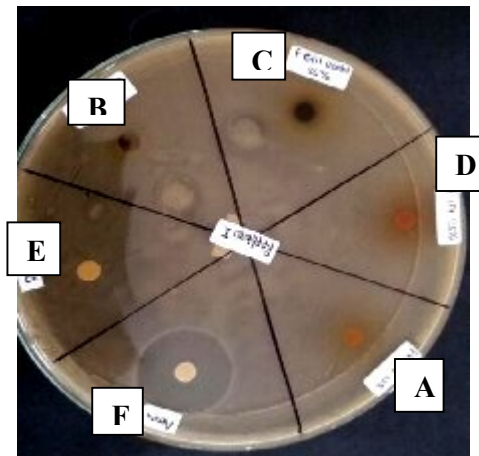
	Flavonoid	Saponin	Alkaloid	Tanin
Serbuk	 +	 +	 +	 +
Ekstrak	 +	 +	 +	 +
Fraksi Etil Asetat	 +	 -	 +	 -

Lampiran 7. Diameter hambat uji aktivitas antibakteri daun cabe rawit secara difusi

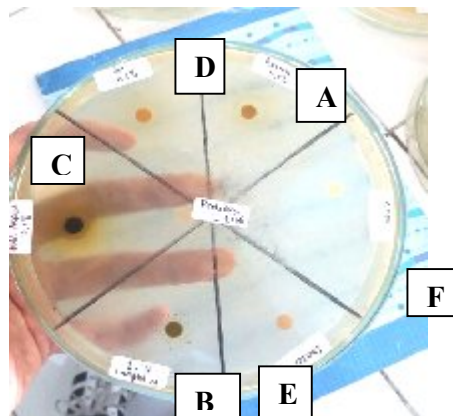
A. Replikasi I



Konsentrasi 50%



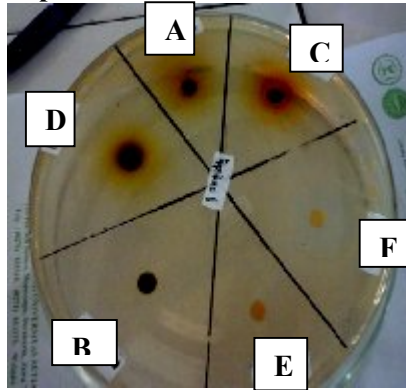
Konsentrasi 25%



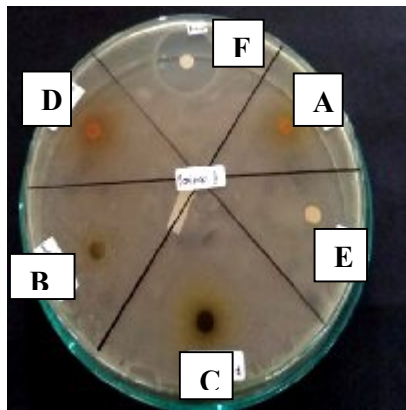
Konsentrasi 12,5%

Keterangan: A = Ekstrak Etanol 70%; B = Fraksi *n*-Heksana; C = Fraksi Etil Asetat; D = Fraksi Air; E = DMSO 5%; F = Amoxicillin

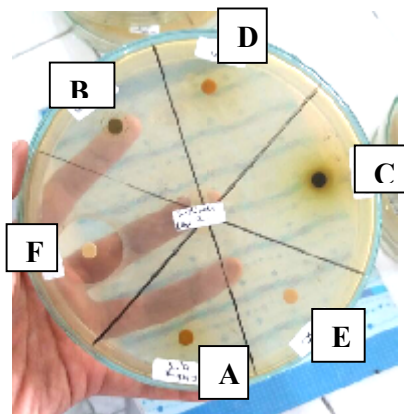
B. Replikasi II



Konsentrasi 50%



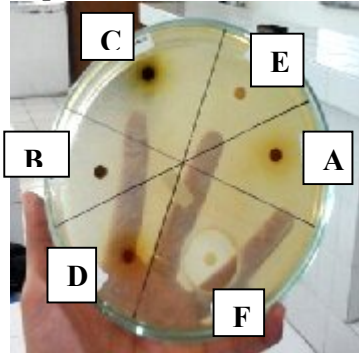
Konsentrasi 25%



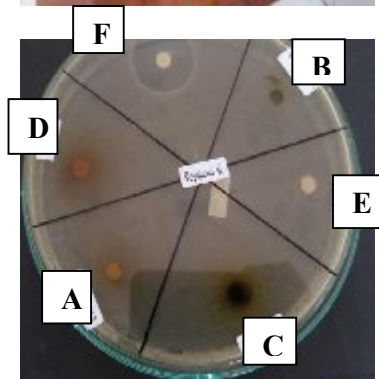
Konsentrasi 12,5%

Keterangan: A = Ekstrak Etanol 70%; B = Fraksi *n*-Heksana; C = Fraksi Etil Asetat; D = Fraksi Air; E = DMSO 5%; F = Amoxicillin

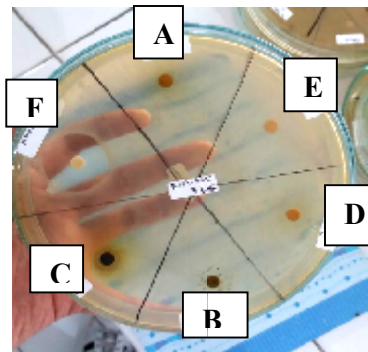
C. Replikasi III



Konsentrasi 50%



Konsentrasi 25%



Konsentrasi 12,5%

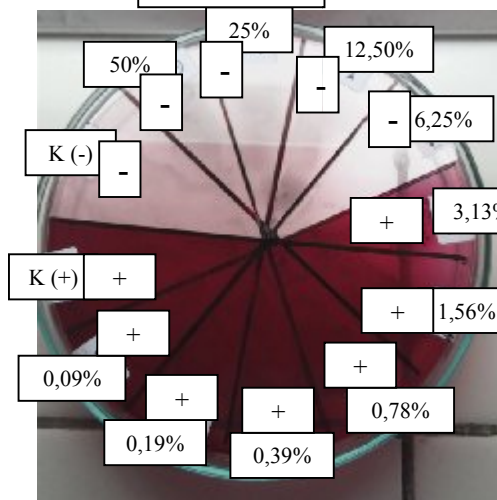
Keterangan:

- A = Ekstrak Etanol 70%
- B = Fraksi *n*-Heksana
- C = Fraksi Etil Asetat
- D = Fraksi Air
- E = DMSO 5%
- F = Amoxicillin

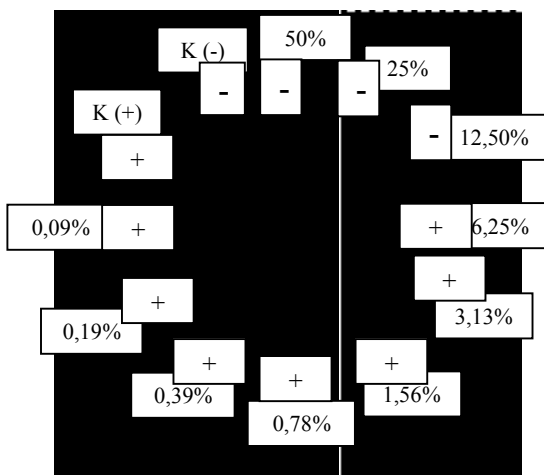
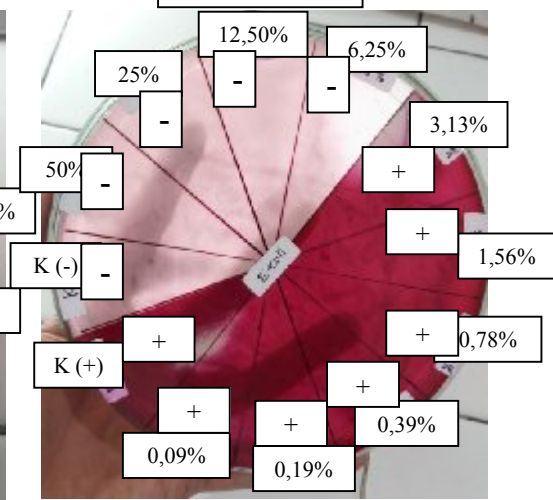
Lampiran 8. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol daun cabe rawit secara dilusi



Replikasi I



Replikasi II



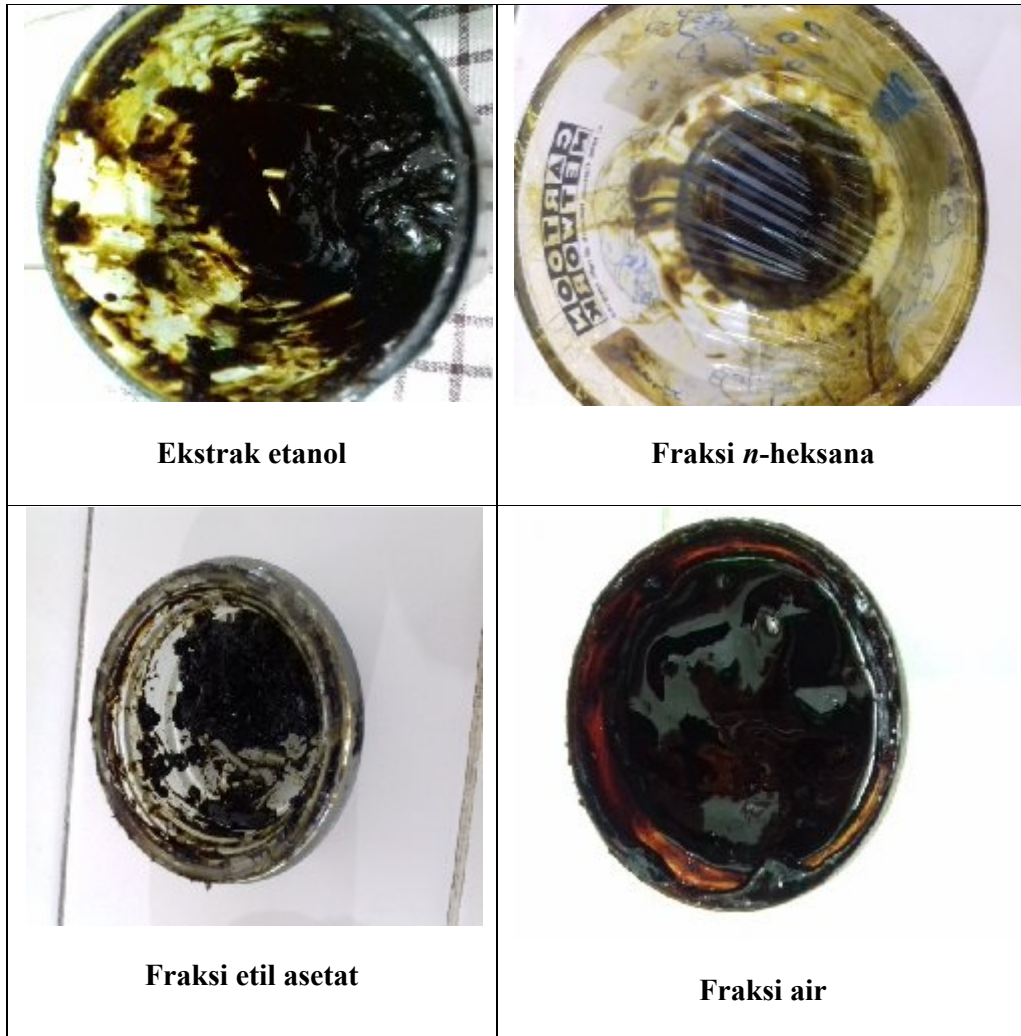
Replikasi III

Keterangan:

(-) : tidak ada pertumbuhan koloni

(+) : ada pertumbuhan koloni

Lampiran 9. Hasil ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan air



Lampiran 10. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabe rawit.

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

Rendemen serbuk daun cabe rawit yang diperoleh sebanyak 19,69%

Perhitungan rendemen serbuk daun cabe rawit

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Kering}}{\text{Bobot Basah}} \left(\times 100\% \right) \\ &= \frac{3150}{16000} \times 100\% = 19,69\% \end{aligned}$$

Kesimpulan : Prosentase rata-rata rendemen serbuk daun cabe rawit adalah 19,69%.

Lampiran 11. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit

Bahan Sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%b/v)
2200	438,8867	19,95

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

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun cabe rawit

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{438,8867}{2200} \times 100\% = 19,95\% \end{aligned}$$

Kesimpulan : Prosentase rata-rata rendemen ekstrak etanol adalah 19,95 %b/v.

Lampiran 12. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

Replikasi	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,88	6,0
2	2,00	1,88	6,0
3	2,00	1,88	6,5
Rata-rata			6,2

Rata-rata susut pengeringan daun cabe rawit = $\frac{0,12}{2,00} = 6,2\%$

Kesimpulan : Prosentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun cabe rawit adalah 6,2%.

Lampiran 13. Perhitungan penetapan kadar air ekstrak daun cabe rawit

Replikasi	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,8	9,0
3	20	1,7	8,5
Rata-rata			8,83

Rata-rata kadar air daun cabe rawit = $\frac{8,83}{100} = 8,83\%$

Kesimpulan : Prosentase rata-rata kadar air ekstrak daun cabe rawit adalah 8,83%.

Lampiran 14. Hasil fraksinasi

Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun cabe rawit

No	Fraksi	Bobot Fraksi (gram)	Rendemen (%)
1.	n-Heksana	5,2	2,6
2.	Etil asetat	8,438	4,219
3.	Air	94,059	47,0295

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Fraksi}}{\text{Bobot Ekstrak}} \left(\times 100\% \right)$$

- Rendemen n-Heksana $= \frac{5,2}{99,487} \times 100\% = 2,6\%$
- Rendemen etil asetat $= \frac{8,438}{99,487} \times 100\% = 4,219\%$
- Rendemen air $= \frac{94,059}{99,487} \times 100\% = 47,0295\%$

Kesimpulan :

- Prosentase rata-rata fraksi n-Heksana dari ekstrak daun cabe rawit adalah 2,6%.
- Prosentase rata-rata fraksi etil asetat dari ekstrak daun cabe rawit adalah 4,219%.
- Prosentase rata-rata fraksi air dari ekstrak daun cabe rawit adalah 47,0295%.

Lampiran 15. Perhitungan pembuatan larutan stok difusi

1. Pembuatan larutan stok konsentrasi 50% sebanyak 4 mL

$$50\% = \text{—————}$$

$$= 0,5 \text{ gram/mL}$$

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

Ditimbang 2 gram fraksi atau ekstrak, dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 4 mL

2. Pembuatan larutan uji hasil fraksi konsentrasi 25%

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

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

$$V_2 = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL fraksi atau ekstrak, dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 1 mL

3. Pembuatan larutan uji hasil fraksi konsentrasi 12,5%

$$\text{Konsentrasi } 12,5\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

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

$$V_2 = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL fraksi atau ekstrak, dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 1 mL

Lampiran 16. Perhitungan Konsentrasi Amoxicillin dan DMSO 5%

Dosis amoxicillin: _____

$$= \text{_____}$$

$$= \frac{\text{_____}}{\text{_____}}$$

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

$$= 0,025 \text{ mG/mL}$$

Konsentrasi DMSO 5%:

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

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

$$V_1 = \frac{\text{_____}}{\%} \cdot \%$$

$$= \text{_____}$$

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

Diambil 5 mL DMSO murni kemudian dilarutkan sampai 100 mL aquadest.

Lampiran 17. Perhitungan pembuatan larutan stok dilusi

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabe rawit konsentrasi 50% ditimbang 1 gram dalam vial, dilarutkan dengan 2 mL DMSO 5%.

No	Konsentrasi (%)	V ₁	C ₁	V ₂	C ₂	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 mL larutan stok
2	50	-	-	-	--	0,5 mL larutan stok
3	25	0,5	50	1	25	0,5 mL tabung 3 + BHI ad 1 mL
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 mL tabung 4 + BHI ad 1 mL
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 mL tabung 5 + BHI ad 1 mL
6	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 mL tabung 6 + BHI ad 1 mL
7	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 mL tabung 7 + BHI ad 1 mL
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 mL tabung 8 + BHI ad 1 mL
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 mL tabung 9 + BHI ad 1 mL
10	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 mL tabung 10 + BHI ad 1 mL
11	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 mL tabung 11 + BHI ad 1 mL
12	-	-	-	-	-	0,5 mL suspensi bakteri + BHI ad 1 mL

Keterangan:

Tabung 1 = Kontrol negatif fraksi etil asetat konsentrasi 50 gram/100 mL

Tabung 2 = 0,5 ml fraksi eti asetat konsentrasi 50 gram/100 mL

Larutan stok 50% = %b/v = 50gram/100 mL

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/ mL

Tabung 3 = Konsentrasi 25 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 50\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 25\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 2 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 4 = Konsentrasi 12,5 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 25\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 12,5 \%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 3 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 5 = Konsentrasi 6,25 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 12,5\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 6,25\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 4 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 6 = Konsentrasi 3,125 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 6,25\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 3,125\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 5 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 7 = Konsentrasi 1,563 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 3,125\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 1,563\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 6 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 8 = Konsentrasi 0,7813 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 1,563\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,7813\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 7 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 9 = Konsentrasi 0,3906 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 0,7813\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,3906\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 8 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 10 = Konsentrasi 0,1953 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 0,3906\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,1953\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 9 kemudian ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 11 = Konsentrasi 0,0977 % = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,05 \cdot 0,1953\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,0977\%$$

Dipipet 0,5 mL dari tabung 10 kemudian ditambah BHI ad 1 mL, dihomogenkan lalu dibuang 0,5 mL

Tabung 12 = Kontrol positif suspensi bakteri 0,5 mL ditambah BHI ad 1 mL

Tabung 2-11 ditambah 0,5 mL suspensi bakteri

Lampiran 18. Hasil uji statistik

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter zona hambat	42	8,0952	7,09795	,00	28,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter zona hambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8,0952
	Std. Deviation	7,09795
	Absolute	,198
Most Extreme Differences	Positive	,198
	Negative	-,161
Kolmogorov-Smirnov Z		1,285
Asymp. Sig. (2-tailed)		,073

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan: dari data diatas diperoleh nilai signifikansi = $0,073 > 0,05$ (H_0 diterima) sehingga data tersebut terdistribusi secara normal.

Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,767	13	28	,101

Kesimpulan: dari data diatas diperoleh nilai signifikansi = $0,101 > 0,05$ (H_0 diterima) sehingga data tersebut homogen.

ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2049,619	13	157,663	275,910	,000
Within Groups	16,000	28	,571		
Total	2065,619	41			

Kesimpulan = dari analisis data ANOVA diperoleh nilai signifikansi = $0,000 > 0,05$ sehingga terdapat perbedaan yang nyata pada sediaan uji tersebut terhadap penghambatan aktivitas antibakteri *Escherichia coli*.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	ekstrak 25%	1,33333	,61721	,658	-,9259	3,5926
	ekstrak 12,5%	1,66667	,61721	,329	-,5926	3,9259
	fraksi n-heksana 50%	9,33333*	,61721	,000	7,0741	11,5926
	fraksi n-heksana 25%	9,33333*	,61721	,000	7,0741	11,5926
	fraksi n-heksana 12,5%	9,33333*	,61721	,000	7,0741	11,5926
	fraksi etil asetat 50%	-3,00000*	,61721	,003	-5,2592	-,7408
	fraksi etil asetat 25%	-2,00000	,61721	,123	-4,2592	,2592
	fraksi etil asetat 12,5%	,66667	,61721	,997	-1,5926	2,9259
	fraksi air 50%	-1,00000	,61721	,926	-3,2592	1,2592
	fraksi air 25%	-,33333	,61721	1,000	-2,5926	1,9259
	fraksi air 12,5%	1,00000	,61721	,926	-1,2592	3,2592
	amoxicillin	-18,33333*	,61721	,000	-20,5926	-16,0741
	DMSO 5%	9,33333*	,61721	,000	7,0741	11,5926
	ekstrak 25%	-1,33333	,61721	,658	-3,5926	,9259
ekstrak 25%	ekstrak 12,5%	,33333	,61721	1,000	-1,9259	2,5926
	fraksi n-heksana 50%	8,00000*	,61721	,000	5,7408	10,2592
	fraksi n-heksana 25%	8,00000*	,61721	,000	5,7408	10,2592
	fraksi n-heksana 12,5%	8,00000*	,61721	,000	5,7408	10,2592
	fraksi etil asetat 50%	-4,33333*	,61721	,000	-6,5926	-2,0741
	fraksi etil asetat 25%	-3,33333*	,61721	,001	-5,5926	-1,0741
	fraksi etil asetat 12,5%	-,66667	,61721	,997	-2,9259	1,5926
	fraksi air 50%	-2,33333*	,61721	,038	-4,5926	-,0741
	fraksi air 25%	-1,66667	,61721	,329	-3,9259	,5926
	fraksi air 12,5%	-,33333	,61721	1,000	-2,5926	1,9259
	amoxicillin	-19,66667*	,61721	,000	-21,9259	-17,4074
	DMSO 5%	8,00000*	,61721	,000	5,7408	10,2592

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 12,5%	ekstrak 50%	-1,66667	,61721	,329	-3,9259	,5926
	ekstrak 25%	-,33333	,61721	1,000	-2,5926	1,9259
	fraksi n-heksana 50%	7,66667*	,61721	,000	5,4074	9,9259
	fraksi n-heksana 25%	7,66667*	,61721	,000	5,4074	9,9259
	fraksi n-heksana 12,5%	7,66667*	,61721	,000	5,4074	9,9259
	fraksi etil asetat 50%	-4,66667*	,61721	,000	-6,9259	-2,4074
	fraksi etil asetat 25%	-3,66667*	,61721	,000	-5,9259	-1,4074
	fraksi etil asetat 12,5%	-1,00000	,61721	,926	-3,2592	1,2592
	fraksi air 50%	-2,66667*	,61721	,010	-4,9259	-,4074
	fraksi air 25%	-2,00000	,61721	,123	-4,2592	,2592
	fraksi air 12,5%	-,66667	,61721	,997	-2,9259	1,5926
	amoxicillin	-20,00000*	,61721	,000	-22,2592	-17,7408
	DMSO 5%	7,66667*	,61721	,000	5,4074	9,9259
	fraksi n-heksana 50%	ekstrak 50%	-9,33333*	,61721	,000	-11,5926
ekstrak 25%		-8,00000*	,61721	,000	-10,2592	-5,7408
ekstrak 12,5%		-7,66667*	,61721	,000	-9,9259	-5,4074
fraksi n-heksana 25%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
fraksi n-heksana 12,5%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
fraksi etil asetat 50%		-12,33333*	,61721	,000	-14,5926	-10,0741
fraksi etil asetat 25%		-11,33333*	,61721	,000	-13,5926	-9,0741
fraksi etil asetat 12,5%		-8,66667*	,61721	,000	-10,9259	-6,4074
fraksi air 50%		-10,33333*	,61721	,000	-12,5926	-8,0741
fraksi air 25%		-9,66667*	,61721	,000	-11,9259	-7,4074
fraksi air 12,5%		-8,33333*	,61721	,000	-10,5926	-6,0741
amoxicillin		-27,66667*	,61721	,000	-29,9259	-25,4074
DMSO 5%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi n-heksana 25%	ekstrak 50%	-9,33333*	,61721	,000	-11,5926	-7,0741
	ekstrak 25%	-8,00000*	,61721	,000	-10,2592	-5,7408
	ekstrak 12,5%	-7,66667*	,61721	,000	-9,9259	-5,4074
	fraksi n-heksana 50%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi n-heksana 12,5%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi etil asetat 50%	-12,33333*	,61721	,000	-14,5926	-10,0741
	fraksi etil asetat 25%	-11,33333*	,61721	,000	-13,5926	-9,0741
	fraksi etil asetat 12,5%	-8,66667*	,61721	,000	-10,9259	-6,4074
	fraksi air 50%	-10,33333*	,61721	,000	-12,5926	-8,0741
	fraksi air 25%	-9,66667*	,61721	,000	-11,9259	-7,4074
	fraksi air 12,5%	-8,33333*	,61721	,000	-10,5926	-6,0741
	amoxicillin	-27,66667*	,61721	,000	-29,9259	-25,4074
	DMSO 5%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi n-heksana 12,5%	ekstrak 50%	-9,33333*	,61721	,000	-11,5926
ekstrak 25%		-8,00000*	,61721	,000	-10,2592	-5,7408
ekstrak 12,5%		-7,66667*	,61721	,000	-9,9259	-5,4074
fraksi n-heksana 50%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
fraksi n-heksana 25%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
fraksi etil asetat 50%		-12,33333*	,61721	,000	-14,5926	-10,0741
fraksi etil asetat 25%		-11,33333*	,61721	,000	-13,5926	-9,0741
fraksi etil asetat 12,5%		-8,66667*	,61721	,000	-10,9259	-6,4074
fraksi air 50%		-10,33333*	,61721	,000	-12,5926	-8,0741
fraksi air 25%		-9,66667*	,61721	,000	-11,9259	-7,4074
fraksi air 12,5%		-8,33333*	,61721	,000	-10,5926	-6,0741
amoxicillin		-27,66667*	,61721	,000	-29,9259	-25,4074
DMSO 5%		,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi etil asetat 50%	ekstrak 50%	3,00000*	,61721	,003	,7408	5,2592
	ekstrak 25%	4,33333*	,61721	,000	2,0741	6,5926
	ekstrak 12,5%	4,66667*	,61721	,000	2,4074	6,9259
	fraksi n-heksana 50%	12,33333*	,61721	,000	10,0741	14,5926
	fraksi n-heksana 25%	12,33333*	,61721	,000	10,0741	14,5926
	fraksi n-heksana 12,5%	12,33333*	,61721	,000	10,0741	14,5926
	fraksi etil asetat 25%	1,00000	,61721	,926	-1,2592	3,2592
	fraksi etil asetat 12,5%	3,66667*	,61721	,000	1,4074	5,9259
	fraksi air 50%	2,00000	,61721	,123	-,2592	4,2592
	fraksi air 25%	2,66667*	,61721	,010	,4074	4,9259
	fraksi air 12,5%	4,00000*	,61721	,000	1,7408	6,2592
	amoxicillin	-15,33333*	,61721	,000	-17,5926	-13,0741
	DMSO 5%	12,33333*	,61721	,000	10,0741	14,5926
	fraksi etil asetat 25%	ekstrak 50%	2,00000	,61721	,123	-,2592
ekstrak 25%		3,33333*	,61721	,001	1,0741	5,5926
ekstrak 12,5%		3,66667*	,61721	,000	1,4074	5,9259
fraksi n-heksana 50%		11,33333*	,61721	,000	9,0741	13,5926
fraksi n-heksana 25%		11,33333*	,61721	,000	9,0741	13,5926
fraksi n-heksana 12,5%		11,33333*	,61721	,000	9,0741	13,5926
fraksi etil asetat 50%		-1,00000	,61721	,926	-3,2592	1,2592
fraksi etil asetat 12,5%		2,66667*	,61721	,010	,4074	4,9259
fraksi air 50%		1,00000	,61721	,926	-1,2592	3,2592
fraksi air 25%		1,66667	,61721	,329	-,5926	3,9259
fraksi air 12,5%		3,00000*	,61721	,003	,7408	5,2592
amoxicillin		-16,33333*	,61721	,000	-18,5926	-14,0741
DMSO 5%		11,33333*	,61721	,000	9,0741	13,5926

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak 50%	-,66667	,61721	,997	-2,9259	1,5926
	ekstrak 25%	,66667	,61721	,997	-1,5926	2,9259
	ekstrak 12,5%	1,00000	,61721	,926	-1,2592	3,2592
	fraksi n-heksana 50%	8,66667*	,61721	,000	6,4074	10,9259
	fraksi n-heksana 25%	8,66667*	,61721	,000	6,4074	10,9259
	fraksi n-heksana 12,5%	8,66667*	,61721	,000	6,4074	10,9259
	fraksi etil asetat 50%	-3,66667*	,61721	,000	-5,9259	-1,4074
	fraksi etil asetat 25%	-2,66667*	,61721	,010	-4,9259	-,4074
	fraksi air 50%	-1,66667	,61721	,329	-3,9259	,5926
	fraksi air 25%	-1,00000	,61721	,926	-3,2592	1,2592
	fraksi air 12,5%	,33333	,61721	1,000	-1,9259	2,5926
	amoxicillin	-19,00000*	,61721	,000	-21,2592	-16,7408
	DMSO 5%	8,66667*	,61721	,000	6,4074	10,9259
	fraksi air 50%	ekstrak 50%	1,00000	,61721	,926	-1,2592
ekstrak 25%		2,33333*	,61721	,038	,0741	4,5926
ekstrak 12,5%		2,66667*	,61721	,010	,4074	4,9259
fraksi n-heksana 50%		10,33333*	,61721	,000	8,0741	12,5926
fraksi n-heksana 25%		10,33333*	,61721	,000	8,0741	12,5926
fraksi n-heksana 12,5%		10,33333*	,61721	,000	8,0741	12,5926
fraksi etil asetat 50%		-2,00000	,61721	,123	-4,2592	,2592
fraksi etil asetat 25%		-1,00000	,61721	,926	-3,2592	1,2592
fraksi etil asetat 12,5%		1,66667	,61721	,329	-,5926	3,9259
fraksi air 25%		,66667	,61721	,997	-1,5926	2,9259
fraksi air 12,5%		2,00000	,61721	,123	-,2592	4,2592
amoxicillin		-17,33333*	,61721	,000	-19,5926	-15,0741
DMSO 5%		10,33333*	,61721	,000	8,0741	12,5926

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi air 25%	ekstrak 50%	,33333	,61721	1,000	-1,9259	2,5926
	ekstrak 25%	1,66667	,61721	,329	-,5926	3,9259
	ekstrak 12,5%	2,00000	,61721	,123	-,2592	4,2592
	fraksi n-heksana 50%	9,66667*	,61721	,000	7,4074	11,9259
	fraksi n-heksana 25%	9,66667*	,61721	,000	7,4074	11,9259
	fraksi n-heksana 12,5%	9,66667*	,61721	,000	7,4074	11,9259
	fraksi etil asetat 50%	-2,66667*	,61721	,010	-4,9259	-,4074
	fraksi etil asetat 25%	-1,66667	,61721	,329	-3,9259	,5926
	fraksi etil asetat 12,5%	1,00000	,61721	,926	-1,2592	3,2592
	fraksi air 50%	-,66667	,61721	,997	-2,9259	1,5926
	fraksi air 12,5%	1,33333	,61721	,658	-,9259	3,5926
	amoxicillin	-18,00000*	,61721	,000	-20,2592	-15,7408
	DMSO 5%	9,66667*	,61721	,000	7,4074	11,9259
	fraksi air 12,5%	ekstrak 50%	-1,00000	,61721	,926	-3,2592
ekstrak 25%		,33333	,61721	1,000	-1,9259	2,5926
ekstrak 12,5%		,66667	,61721	,997	-1,5926	2,9259
fraksi n-heksana 50%		8,33333*	,61721	,000	6,0741	10,5926
fraksi n-heksana 25%		8,33333*	,61721	,000	6,0741	10,5926
fraksi n-heksana 12,5%		8,33333*	,61721	,000	6,0741	10,5926
fraksi etil asetat 50%		-4,00000*	,61721	,000	-6,2592	-1,7408
fraksi etil asetat 25%		-3,00000*	,61721	,003	-5,2592	-,7408
fraksi etil asetat 12,5%		-,33333	,61721	1,000	-2,5926	1,9259
fraksi air 50%		-2,00000	,61721	,123	-4,2592	,2592
fraksi air 25%		-1,33333	,61721	,658	-3,5926	,9259
amoxicillin		-19,33333*	,61721	,000	-21,5926	-17,0741
DMSO 5%		8,33333*	,61721	,000	6,0741	10,5926

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
amoxicillin	ekstrak 50%	18,33333*	,61721	,000	16,0741	20,5926
	ekstrak 25%	19,66667*	,61721	,000	17,4074	21,9259
	ekstrak 12,5%	20,00000*	,61721	,000	17,7408	22,2592
	fraksi n-heksana 50%	27,66667*	,61721	,000	25,4074	29,9259
	fraksi n-heksana 25%	27,66667*	,61721	,000	25,4074	29,9259
	fraksi n-heksana 12,5%	27,66667*	,61721	,000	25,4074	29,9259
	fraksi etil asetat 50%	15,33333*	,61721	,000	13,0741	17,5926
	fraksi etil asetat 25%	16,33333*	,61721	,000	14,0741	18,5926
	fraksi etil asetat 12,5%	19,00000*	,61721	,000	16,7408	21,2592
	fraksi air 50%	17,33333*	,61721	,000	15,0741	19,5926
	fraksi air 25%	18,00000*	,61721	,000	15,7408	20,2592
	fraksi air 12,5%	19,33333*	,61721	,000	17,0741	21,5926
	DMSO 5%	27,66667*	,61721	,000	25,4074	29,9259
	ekstrak 50%	-9,33333*	,61721	,000	-11,5926	-7,0741
ekstrak 25%	-8,00000*	,61721	,000	-10,2592	-5,7408	
ekstrak 12,5%	-7,66667*	,61721	,000	-9,9259	-5,4074	
DMSO 5%	fraksi n-heksana 50%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi n-heksana 25%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi n-heksana 12,5%	,00000	,61721	1,000	-2,2592	2,2592
	fraksi etil asetat 50%	-12,33333*	,61721	,000	-14,5926	-10,0741
	fraksi etil asetat 25%	-11,33333*	,61721	,000	-13,5926	-9,0741
	fraksi etil asetat 12,5%	-8,66667*	,61721	,000	-10,9259	-6,4074
	fraksi air 50%	-10,33333*	,61721	,000	-12,5926	-8,0741
	fraksi air 25%	-9,66667*	,61721	,000	-11,9259	-7,4074
	fraksi air 12,5%	-8,33333*	,61721	,000	-10,5926	-6,0741
	amoxicillin	-27,66667*	,61721	,000	-29,9259	-25,4074

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

Homogeneous Subset**diameter zona hambat**Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
fraksi n-heksana 50%	3	,0000					
fraksi n-heksana 25%	3	,0000					
fraksi n-heksana 12,5%	3	,0000					
DMSO 5%	3	,0000					
fraksi air 12,5%	3		7,3333				
ekstrak 12,5%	3		7,6667	7,6667			
ekstrak 25%	3		8,0000	8,0000			
fraksi etil asetat 12,5%	3		8,3333	8,3333			
fraksi air 25%	3		8,6667	8,6667			
ekstrak 50%	3		9,3333	9,3333	9,3333		
fraksi air 50%	3			9,6667	9,6667		
fraksi etil asetat 25%	3				11,3333	11,3333	
fraksi etil asetat 50%	3					12,3333	
amoxicillin	3						27,6667
Sig.		1,000	,123	,123	,123	,926	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media

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

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

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

b. Formulasi dan pembuatan Endo Agar

Pepton for meat	10,0	gram
Di potassium hydrogen fosfat	3,5	gram
Laktosa	10,0	gram
Sodium sulfit	2,5	gram
Fuchsin	0,4	gram
Agar-agar	12,5	gram pH 7,4

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

c. Sulfida Indol Motility (SIM)

Pepton from casein	20	gram
Pepton from meat	6	gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2	gram
Sodium thiosulfate	0,2	gram

Agar-agar	0,2 gram
Aquadest	ad 1000 mL, pH 7,4

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 pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

d. Klinger Iron Agar (KIA)

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

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 pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

e. Lysine Iron Agar (LIA)

Pepton from casein	5	gram
Yeast extract	3	gram
Glukosa	1	gram
Lysin monohydrochloride	10	gram
Sodium thiosulfate	0,04	gram

Ammonium Iron (II) citrate	0,05	gram
Bromo cresol purple	0,02	gram
Agar-agar	12,5	gram
Aquadest	ad 1000	mL, pH 7,4

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 pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

f. Citrat Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1	gram
di-potassium hydrogen fosfate	1	gram
Sodium chloride	5	gram
Magnesium sulfat	0,2	gram
Bromo thymol blue	0,08	gram
Agar-agar	12,5	gram
Aquadest	ad 1000	mL, pH 7,4

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 pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

g. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion.....	500	gram
Casein hydrolyate.....	17,5	gram
Strach.....	1,5	gram
Agar-agar.....	17	gram

Suspensi 38 gram bahan diatas dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna, sterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, pH 7.4 (Depkes 1994).