

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE
(*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP
Shigella dysenteriae ATCC 9361**



Oleh :

**Brelian Odra Faulinda
20144209A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE
(*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP
Shigella dysenteriae ATCC 9361**

SKRIPSI

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



Oleh :

**Brelian Odra Faulinda
20144209A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE
(*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP
Shigella dysenteriae ATCC 9361**

Oleh :
Brelian Odra Faulinda
20144209A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 28 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,

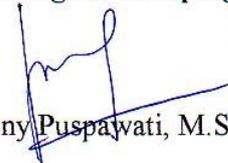


Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt

Pembimbing Utama,



Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt
Pembimbing Pendamping,



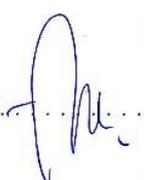
Dra. Nony Puspawati, M.Si

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si.
2. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
3. Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm., Apt.
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

1. 

2. 

3. 

4. 

PERSEMBAHAN

“Wahai orang-orang yang beriman ! Apabila dikatakan kepadamu,” Berilah kelapangan didalam majelis, maka lapangkanlah, niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan berdirilah kamu, maka berdirilah, niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang berilmu beberapa derajat. Dan Allah maha teliti terhadap apa yang kamu kerjakan”. (Q.S Al-Mujaadila ayat 11)

“Carilah ilmu walau sampai ke negeri cina, karena sesungguhnya menuntut ilmu itu wajib bagi setiap muslim. Sesungguhnya Malaikat akan meletakkan sayapnya bagi penuntut ilmu karena rela atas apa yang dia tuntut “(hadist riwayat Ibnu Abdil Bar).

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

Ayah, Mama, keluargaku tercinta yang tak hentinya memberikan dukungan serta do'a disetiap langkahku. Sahabat-sahabatku yang selalu menemani dan memotivasi, serta teman-teman seperjuangan angkatan 2014 dan almamater.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2018

Tanda tangan



Brelian Odra Faulinda

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE (*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361**”.

Penyusunan Skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai derajat S-1 dalam Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Dalam penyusunan Skripsi tidak lepas berkat bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta
2. Prof. Dr. R. A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan Skripsi ini.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si., selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan Skripsi ini.
5. Tim penguji skripsi yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada peneliti untuk penyempurnaan Skripsi ini.
6. Staff laboratorium dan Staff perpustakaan Universitas Setia Budi yang banyak membantu dalam pelaksanaan praktek Skripsi ini.
7. Ayah Purwanto Putro, Mama Lilik Ernawati, keluarga besarku dan Helmy azhuri yang selalu ada saat suka maupun duka dan selalu memberikan semangat, motivasi, dan doa yang tiada hentinya untuk masa depan dan kesuksesanku.
8. Keluarga Cemara, Devi Nawang, Anita roks, Bety kurnia, Ayu zakiyah Darojat, Ulfa, Ayya, Lutfiana, Lia Nur Hastuti, Grace, yang selalu memberikan motivasi, membantu dalam segala aspek.

9. Semua sahabat dan teman yang tidak dapat saya sebutkan semua yang selalu memberikan semangat dan membuat tawa dan canda untuk jangan menyerah.
10. Terimakasih jas laboratorium yang sangat berjasa menemani perjuangan.
11. Semua teman angkatan 2014 S-1 Farmasi Universitas Setia Budi.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu maka penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kelengkapan Skripsi ini. Penulis berharap Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca serta untuk perkembangan ilmu kesehatan.

Surakarta, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L.).....	5
1. Klasifikasi tanaman	5
2. Nama daerah	5
3. Deskripsi tanaman	5
4. Khasiat tanaman.....	6
5. Kandungan kimia	6
5.1 Saponin.....	6
5.2 Alkaloid.....	6
5.3 Flavonoid.....	7
5.4 Tanin.....	7
5.5 Steroid.....	7
B. Simplisia	8
1. Pengertian simplisia	8

2.	Pencucian dan pengeringan	8
C.	Metode Penyarian	9
1.	Ekstraksi	9
2.	Maserasi.....	9
3.	Fraksinasi.....	10
4.	Cairan penyari untuk ekstraksi.....	10
4.1	Etanol.....	10
4.2	<i>n</i> -heksana.....	10
4.3	Etil asetat.....	11
4.4	Air.....	11
D.	<i>Shigella dysenteriae</i>	11
1.	Sistematika bakteri.....	11
2.	Morfologi dan klasifikasi.....	11
3.	Patogenitas.....	12
4.	Toksin.....	12
5.	Pengobatan.....	13
6.	Epidemiologi, pencegahan, dan pengendalian.....	13
E.	Antibakteri.....	14
1.	Definisi	14
2.	Mekanisme kerja antimikroba.....	14
2.1	Menghambat metabolisme sel mikroba.....	14
2.2	Menghambat sintesis dinding sel mikroba	14
2.3	Mengganggu keutuhan membran sel mikroba.....	14
2.4	Menghambat sintesis protein sel mikroba	15
2.5	Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.....	15
3.	Metode uji antibakteri.....	15
3.1	Metode difusi	15
3.2	Metode dilusi	16
F.	Media.....	16
G.	Sterilisasi	16
H.	Kotrimoksazol.....	17
I.	Landasan Teori.....	18
J.	Hipotesis	20
BAB III METODE PENELITIAN		21
A.	Populasi dan Sampel	21
B.	Variabel Penelitian	21
1.	Identifikasi variabel utama	21
2.	Klasifikasi variabel utama	21
3.	Definisi operasional variabel utama	22
C.	Alat dan Bahan.....	23
1.	Alat.....	23
1.1	Alat untuk pembuatan dan analisis serbuk simplisia	23
1.2	Alat maserasi.....	23
1.3	Alat uji aktivitas antibakteri.....	23
1.4	Alat identifikasi kandungan senyawa.....	23

2.	Bahan.....	23
2.1	Bahan utama	23
2.2	Bahan kimia	23
2.3	Bakteri uji	24
2.4	Media.....	24
D.	Jalan Penelitian	24
1.	Determinasi tanaman	24
2.	Pembuatan serbuk simplisia.....	24
3.	Kadar air serbuk buah pare	24
4.	Pembuatan ekstrak buah pare.....	25
5.	Uji bebas etanol.....	25
6.	Fraksinasi	25
7.	Pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi buah pare.....	26
7.1.	Identifikasi flavonoid	26
7.2.	Identifikasi saponin	26
7.3.	Identifikasi alkaloid.....	26
7.4.	Identifikasi tanin	26
7.5.	Identifikasi steroid/triterpen.....	26
8.	Sterilisasi.....	27
9.	Identifikasi bakteri uji.....	27
9.1.	Isolasi bakteri	27
9.2.	Morfologi.....	27
9.3.	Fisiologi.....	27
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	28
11.	Pengujian daya antibakteri dengan metode difusi.....	29
12.	Pengujian daya antibakteri dengan metode dilusi	29
E.	Analisis Hasil.....	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		34
1.	Hasil determinasi tanaman pare	34
2.	Pembuatan serbuk buah pare	34
3.	Hasil penetapan kadar air serbuk buah pare	35
4.	Pembuatan ekstrak etanol buah pare	35
5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare	36
6.	Hasil fraksinasi.....	36
7.	Pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak, fraksi buah pare	38
8.	Identifikasi bakteri uji <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	39
8.1	Isolasi bakteri	39
8.2	Hasil identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 pewarnaan Gram	39
8.3	Hasil identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 secara biokimia	39
9.	Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air buah pare secara difusi	40

10. Pengujian daya antibakteri fraksi teraktif dengan metode dilusi	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	52

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Morfologi buah <i>Momordica charantia</i> L. (Sumber dokumen pribadi 2017)	5
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi buah pare (<i>Momordia charantia</i> L.)	31
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> dengan metode difusi	32
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak etanol buah pare terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> dengan metode dilusi.....	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah buah pare	35
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk buah pare	35
Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol buah pare	36
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol buah pare.....	36
Tabel 5. Rendemen hasil fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air.	37
Tabel 6. Hasil uji kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi dari buah pare.....	38
Tabel 7. Identifikasi uji biokimia <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	39
Tabel 8. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare metode difusi	41
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi air buah pare terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman pare	53
Lampiran 2. Gambar buah pare dan serbuk buah pare	54
Lampiran 3. Foto alat <i>sterling bidwell</i> dan alat evaporator.....	55
Lampiran 4. Foto alat corong buchner, vortex, inkubator, autoclav, uji bebas etanol	56
Lampiran 5. Foto alat <i>waterbath</i> dan proses fraksinasi	57
Lampiran 6. Gambar pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak, fraksi buah pare	58
Lampiran 7. Gambar hasil identifikasi <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361.....	60
Lampiran 8. Gambar uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 metode difusi	61
Lampiran 9. Gambar uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif buah pare terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361 metode dilusi	64
Lampiran 10. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah.....	65
Lampiran 11. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk buah pare.....	65
Lampiran 12. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol buah pare	66
Lampiran 13. Perhitungan persen rendemen fraksinasi buah pare	66
Lampiran 14. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi buah pare metode difusi.....	67
Lampiran 15. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi fraksi teraktif (fraksi air) buah pare metode dilusi	68
Lampiran 16. Formulasi dan pembuatan media	71
Lampiran 17. Uji statistika	75

INTISARI

FAULINDA, B.O., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH PARE (*Momordica charantia* Linn.) TERHADAP *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Buah pare (*Momordica charantia* Linn.) merupakan tanaman yang memiliki khasiat sebagai pengobatan tradisional. Kandungan kimia buah pare adalah flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare dan mengetahui nilai KHM KBM dari fraksi teraktif terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Ekstraksi buah pare dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Hasil ekstraksi dan fraksinasi dilakukan uji aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk mengetahui daya hambat dan fraksi teraktif terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dengan konsentrasi 50%; 25% dan 12,5%. Metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum dari fraksi teraktif dengan seri pengenceran konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; dan 0,390%. Analisis statistik menggunakan ANOVA oneway guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dan fraksi air memiliki daya hambat yang paling aktif dibandingkan fraksi *n*-heksana dan etil asetat yaitu pada konsentrasi 50% terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dengan diameter hambat 17,67 mm. Hasil uji dilusi menunjukkan aktivitas antibakteri dengan KBM 12,5%.

Kata kunci : antibakteri, fraksi, ekstrak buah pare (*Momordica charantia* Linn.), *Shigella dysenteriae*.

ABSTRACT

FAULINDA, B.O., 2018, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF FRACTION *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER OF ETHANOL EXTRACT FROM BITTER MELON (*Momordica charantia* Linn.) FRUIT AGAINST *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Bitter melon (*Momordica charantia* Linn.) is a plant that has a property as a traditional medicine. Chemical content of bitter melon is flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids. This study was conducted to determine the antibacterial activity of fraction of *n*-hexane, ethyl acetate, and water from ethanol extract of bitter melon and know MIC MBC from the most active fraction of *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Extraction of bitter melon is done by maseration method using ethanol 70% solvent, then fractionated using *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvent. The results of extraction and fractionation were tested for antibacterial activity of *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 using diffusion and dilution method. The diffusion method for knowing minimum inhibitory concentration and the most active fraction of *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 with concentration 50%; 25% and 12.5%. Dilution method for know minimum bactericidal concentration of active fraction with concentration dilution series; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.562%; 0.781%; and 0.391%. Statistical analysis using ANOVA oneway to determine whether there is significant difference between the test preparation.

The results showed that the extract of ethanol bitter melon has activity againts *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 and water fraction has the most active inhibition power compared to *n*-hexane and ethyl acetate fraction that is 50% concentration to *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 with 17,67 mm inhibitory. Dilution test results showed antibacterial activity with MBC 12,5%.

Keyword : antibacterial, fraction, extract of bitter melon fruit (*Momordica charantia* Linn.), *Shigella dysenteriae*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Disentri basiler merupakan suatu penyakit infeksi yang terjadi di kolon yang disebabkan oleh bakteri genus *Shigella*. Gejala klinis shigellosis ditandai dengan demam, nyeri perut, tenesmus, diare cair akut seperti, tinja bercampur darah, lendir, dan nanah. Laporan epidemiologi menunjukkan terdapat 600.000 dari 140 juta pasien shigellosis meninggal setiap tahun di seluruh dunia. Data di Indonesia memperlihatkan 29% kematian diare terjadi pada umur 1 sampai 4 tahun disebabkan oleh disentri basiler (Bangkele *et al.* 2015). Insiden penyakit diare di Indonesia dilaporkan mengalami peningkatan dari 301/1000 penduduk pada tahun 2000 naik menjadi 411/1000 penduduk pada tahun 2010. Kejadian Luar Biasa (KLB) diare juga masih sering terjadi, dengan *case fatality rate* (CFR) yang masih tinggi (Depkes RI 2011). *Case fatality rate* (CFR) diare yang terjadi di Sumatera Utara tahun 2013 mengalami kenaikan dibandingkan tahun 2012, yaitu dari 1,22% menjadi 11,76% (Depkes 2013).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri penyebab disentri. *Shigella dysenteriae* menghasilkan endotoxin sebagai penyebab iritasi dinding usus (Brooks *et al.* 2010). Kebanyakan penyakit ini terjadi pada umur 1-10 tahun dan menjadi suatu masalah kesehatan yang sangat penting untuk diperhatikan, karena pada penyakit ini penderita dapat mengalami diare yang hebat hingga 20-30 kali sehari yang dapat mengakibatkan penderita kehilangan cairan tubuh. *Shigella* dapat menular melalui makanan, jari-jari tangan, feses, dan lalat dari orang yang terinfeksi ke orang normal. Kasus disentri pada orang dewasa, demam dan diare berhenti secara spontan dalam 2 hingga 5 hari. Namun, pada anak-anak serta lansia kehilangan cairan dan elektrolit dapat menyebabkan dehidrasi, asidosis, serta menimbulkan terjadinya kematian (Brooks *et al.* 2010). Salah satu pengobatan penyakit disentri yaitu dengan pemberian antibiotik, tetapi telah banyak dilaporkan bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* resisten terhadap berbagai macam antibiotik.

Penelitian yang dilakukan di Calcuta, India tentang *multidrug-resistant Shigella dysenteriae* pada tahun 2002 hingga 2007 terjadi peningkatan resistensi ampisilin secara bertahap yaitu 46,7% sampai 68%. Resistensi kotrimoksazol menurun dari 100% pada tahun 2002 menjadi 72% di tahun 2007, namun resistensi masih cukup tinggi. Demikian pula resistensi kloramfenikol pada tahun 2002 dari 73,3% menurun menjadi 25% pada tahun 2003 dan secara bertahap meningkat menjadi 48% di tahun 2007. Ampisilin, kotrimoksazol, asam nalidiksat, dan kloramfenikol seharusnya tidak digunakan secara empiris sebagai lini pertama pada pengobatan shigellosis. Resistensi asam nalidiksat telah muncul pada tahun 2002 dan terus meningkat dari tahun 2003 sampai 2007 (Srinivasa *et al.* 2009). Hal ini membuktikan perlunya penggunaan antibakteri baru yang mengatasi infeksi tetapi tanpa memberikan efek resistensi yang lebih berat contohnya seperti daya antibakteri dari tanaman obat (Dewi *et al.* 2013).

Tanaman obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan salah satunya adalah pare (*Momordica charantia* Linn.). Buah pare berkhasiat sebagai obat untuk demam, disentri, diabetes, dan radang tenggorokan (Komala *et al.* 2012). Buah pare (*Momordica charantia* Linn.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan asam momordica (Rahayu 2016). Ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* variasi konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 25%, dan 50% dengan diameter rata-rata zona hambat 8,3 mm, 9,3 mm, dan 11,7 mm (Rahayu 2016). Penelitian lain menyatakan ekstrak etanol buah pare pada konsentrasi 30% diameter zona hambat 13 mm (Anibijuwon 2011). Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol buah pare semakin besar juga diameter zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas antibakteri buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat atau daya bunuh terhadap *Shigella dysenteriae*. Kategori daya hambat sangat kuat (zona jernih > 20 mm), kuat (zona jernih 10-20 mm), sedang (zona jernih 5-10 mm) dan lemah (zona jernih < 5 mm) (Kumesan *et al.* 2013).

Metode penyarian buah pare yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol dan difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada buah pare mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum, daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode dilusi merupakan metode yang digunakan mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) atau KBM (konsentrasi bunuh minimum) (Meirastuti *et al.* 2013).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

Pertama, apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

Kedua, manakah antara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, untuk mengetahui aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 antara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan khususnya tentang obat tradisional yang dapat digunakan sebagai masukan bagi masyarakat dalam upaya pemanfaatan buah pare untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 sehingga peranannya sebagai tanaman obat lebih berarti. Bagi peneliti diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat fraksi dari ekstrak etanol buah pare sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.)

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi lengkap tanaman pare sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Violales
Famili : Cucurbitaceae
Genus : *Momordica*
Spesies : *Momordica charantia* (Dalimartha & Setiawan 2008).



Gambar 1. Morfologi buah *Momordica charantia* Linn. (Sumber dokumen pribadi 2017)

2. Nama daerah

Tanaman pare memiliki beberapa nama daerah yaitu paria, pare, pare pahit, pepareh (Jawa); prieu, peria, foria, pepare, kambeh, paria (Sumatera); paya, paria, truwuk, paita, paliak, pania, pepule (Nusa Tenggara); poya, pudu, pentu, belenggede, palia (Sulawesi) (Haryanto 2012).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman setahun, merambat atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur berbentuk spiral, banyak bercabang, berbau tidak enak. Batang berusuk lima, panjang 2-5 m, yang muda berambut rapat. Daun tunggal, bertangkai yang

panjangnya 1,5-5,3 cm, letak berseling, bentuknya bulat panjang, dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, warnanya hijau tua. Tajuk bergigi kasar sampai berlekuk menyirip. Bunga tunggal, berkelamin dua dalam satu pohon, bertangkai panjang, berwarna kuning. Buah bulat memanjang dengan 8-10 rusuk memanjang. Berbintil-bintil tidak beraturan, panjangnya 8-30 cm, rasanya pahit. Warna buah hijau, bila masak menjadi oranye yang pecah dengan 3 katup. Biji banyak, coklat kekuningan, bentuknya pipih memanjang, keras (Herbie 2015).

4. Khasiat tanaman

Buah pare selama ini di Indonesia dikenal sebagai sayur-sayuran yang dikonsumsi sehari-hari. Buah pare secara tradisional berkhasiat sebagai obat untuk demam, disentri, diabetes, dan radang tenggorokan (Komala *et al.* 2017).

5. Kandungan kimia

Tanaman pare mengandung karbohidrat, alkaloid, flavonoid, phlobatins, saponin, tanin (Singh *et al.* 2012). Kandungan buah pare karantin, momordisin, vitamin A, vitamin B dan vitamin C (Herbie 2015).

Kandungan antibakteri yang dimiliki buah pare adalah saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, steroid (Rahayu 2016).

5.1 Saponin. Saponin adalah glikosida dalam tanaman dan terdiri atas gugus sapogenin, heksosa, pentosa, atau unsur asam uronat. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dalam air, dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel (Yunita *et al.* 2009). Saponin termasuk dalam fitokimia yang memiliki spektrum aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini didasarkan pada kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein dan rusaknya dinding sel yang berakibat sel menjadi lisis (Rachmawati & Nursyamsiah 2015).

5.2 Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Mekanisme alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan

menyebabkan kematian sel. Selain itu biasanya alkaloid diketahui sebagai garam organik pada tumbuhan dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal dan tidak berwarna (Cholifah *et al.* 2014).

5.3 Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Para peneliti lain juga menyatakan pendapat sehubungan dengan mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Kurniawan & Aryana 2015). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Ernawati & Sari 2015).

5.4 Tanin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri dengan memicu terjadinya denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malanggia *et al.* 2012).

5.5 Steroid. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Bontjura *et al.* 2015).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1995).

2. Pencucian dan pengeringan

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari semua mikroba karena air pencucian yang digunakan biasanya mengandung juga sejumlah mikroba. Pada simplisia akar, batang atau buah dapat pula dilakukan pengupasan kulit luarnya untuk mengurangi jumlah mikroba awal karena sebagian besar jumlah mikroba biasanya terdapat pada permukaan bahan simplisia.

Pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30°C-90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60°C. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30°C sampai 45°C. Reaksi enzimatik tidak akan berlangsung bila kadar airnya

kurang dari 10% dalam simplisia (Prasetyo & Inorah 2013). Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatis dalam sel bila kadar air buah pare dapat mencapai kurang dari 9,2% (Depkes RI 2010).

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses yang secara selektif memisahkan beberapa zat yang diinginkan dari campurannya dengan bantuan pelarut. Salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan ekstraksi dalam menggunakan pelarut adalah pemilihan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut tersebut akan mempengaruhi jenis senyawa bioaktif yang terekstrak karena masing-masing pelarut mempunyai efisiensi dan selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen bioaktif. Selain itu harus diperhatikan pula titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi. Proses perpindahan komponen bioaktif dari dalam bahan ke pelarut dapat dijelaskan dengan teori difusi. Proses difusi merupakan perubahan secara spontan dan tidak dapat kembali lagi dari fase yang memiliki konsentrasi lebih tinggi menuju konsentrasi lebih rendah (Sartika *et al.* 2013).

2. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula. Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang lain. Pemisahan jumlah dan jenis senyawa menjadi fraksi yang berbeda yang bergantung pada jenis simplisia. Senyawa-senyawa bersifat polar akan masuk dalam pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non-polar akan masuk kepelarut non-polar (Pratiwi *et al.* 2016).

4. Cairan penyari untuk ekstraksi

Penyarian ekstrak buah pare dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam buah pare mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dengan dilakukan fraksinasi dapat diketahui fraksi yang paling aktif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

4.1 Etanol. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid. Jenis pelarut pengestraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Arifianti *et al.* 2014). Etanol dengan konsentrasi 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengestraksi (Indraswari 2008). Selain daripada itu, etanol 70% mudah ditemukan dan memiliki harga yang lebih ekonomis (Aziz *et al.* 2014).

4.2 *n*-heksana. Heksana merupakan pelarut nonpolar yang bersifat stabil dan mudah menguap, selektif dalam menguapkan zat, mengekstrak zat pewangi dalam jumlah besar, *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar

misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Pratiwi *et al.* 2016).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah. Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon dari buah pare, misalnya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

4.4 Air. Air merupakan pelarut yang paling mudah didapat, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar. Pelarut ini bersifat netral dan tidak berbahaya sehingga aman bila digunakan dalam bahan pangan. Lebih baik untuk digunakan karena aquades atau air yang telah disuling memiliki kadar mineral sangat minim. Air melarutkan minyak menguap, glikosida, flavonoid, tanin, dan asam organik. Kelemahannya hanya pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya (Sibuea 2015).

D. *Shigella dysenteriae*

1. Sistematika bakteri

Sistematika bakteri *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Order : Enterobacteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : Shigella
 Species : *Shigella dysenteriae* (Lebofee *et al.* 2011).

2. Morfologi dan klasifikasi

Shigella dysenteriae adalah bakteri gram negatif berbentuk cocobacil, batang ramping, tidak berkapsul, tidak bergerak, tidak membentuk spora, tidak meragikan manitol. Habitat alami bakteri *Shigella dysenteriae* terbatas pada saluran cerna manusia dan binatang menyusui, dimana mereka memproduksi disenteri basilus. Secara umum mikroorganisme ini dapat menyebabkan penyakit

diare (disenteri basiler) yang mengakibatkan diare disertai darah dan nanah (Amanah & Cornelli 2017). *Shigella* merupakan bakteri anaerob fakultatif, tetapi tumbuh paling baik pada kondisi aerob. Koloni cembung, bundar, transparan, dan tepi berbatas tegas, mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam (Brooks *et al.* 2010). *Shigella* dapat tumbuh subur pada suhu optimum 37°C, diatas atau dibawah 37°C pertumbuhan kuman makin lambat. Semua shigella memfermentasi glukosa. *Shigella* tidak memfermentasi laktosa kecuali *Shigella sonnei*. Ketidakmampuan memfermentasi laktosa membedakan shigella pada media diferensial. *Shigella* membentuk asam karbohidrat, tetapi jarang menghasilkan gas. *Shigella* juga dapat dibagi berdasarkan kemampuannya untuk memfermentasi manitol. Klasifikasi shigella berdasarkan pada karakteristik biokimiawi dan antigennya (Brooks *et al.* 2010).

3. Patogenitas

Habitat alamiah bakteri disentri adalah usus besar manusia, dimana bakteri tersebut menyebabkan disentri. *Shigella* menghasilkan endotoxin yang seperti juga pada salmonella keadaan itu dihubungkan antigen somatik. *Shigella dysenteriae* tipe satu selain itu juga menghasilkan enterotoxin yang kuat. Infeksi shigella hampir selalu terbatas di saluran cerna, jarang terjadi invasi ke aliran darah. *Shigella* sangat mudah menular. Proses patologis yang penting adalah invasi ke sel epitel mukosa melalui fagositik, perbanyak diri dan penyebaran shigella di dalam sitoplasma sel epitel, dan masuknya bakteri tersebut ke sel yang berdekatan. Mikroabses pada dinding kolon dan ileum terminalis menyebabkan pada nekrosis membran mukosa, ulserasi superfisial, perdarahan, dan terbentuknya pseudomembran pada area yang mengalami ulserasi (Brooks *et al.* 2010).

4. Toksin

Shigella melepaskan lipopolisakarida toksik saat terjadi autolisis. Endotoksin ini mungkin berperan dalam menimbulkan iritasi dinding usus. *Shigella dysenteriae* tipe 1 (basilus shiga) menghasilkan eksotoksin labil-panas yang merusak usus sekaligus sistem saraf pusat. Eksotoksin tersebut merupakan suatu protein yang bersifat antigenik (menstimulasi pembentukan antitoksin) dan

letal bagi hewan percobaan. Sebagai enterotoksin, enterotoksin ini menyebabkan diare seperti halnya toksin mirip *E. Coli*, mungkin dengan mekanisme yang sama. Pada manusia, eksotoksin tadi juga menghambat penyerapan gula dan asam amino di usus halus. Neurotoksin, eksotoksin ini berperan dalam menyebabkan *Shigella dysenteriae* yang sangat berat dan fatal menimbulkan reaksi sistem saraf pusat yang ditemukan pada infeksi tersebut.

Pasien yang mengalami *Shigella flexneri* atau *Shigella sonnei* membentuk antitoksin yang dapat menetralkan eksotoksin *Shigella dysenteriae* secara in vitro. Aktivitas toksik ini berbeda dari sifat invasif shigella pada disentri. Keduanya dapat bekerja berurutan, pada awalnya toksin menyebabkan diare hebat dan tidak berdarah, kemudian invasi pada usus besar menyebabkan disentri lanjut yang disertai darah dan pus dalam feses (Brooks *et al.* 2010).

5. Pengobatan

Penderita disentri ringan sebaiknya tidak diberikan obat-obat antimikroba, pada penderita yang berat dapat diberikan obat-obat antimikroba. Siprofloksasin, ampicilin, doksisisiklin, dan trimetoprim-sulfametoksazol umumnya menghambat isolat shigella dan dapat menekan serangan klinis akut disentri serta memperpendek lamanya gejala. Obat tersebut tidak dapat memberantas organisme dari saluran cerna. Resistensi terhadap berbagai obat dapat ditransmisikan melalui plasmid, dan infeksi yang resisten ini telah tersebar luas (Brooks *et al.* 2010).

6. Epidemiologi, pencegahan, dan pengendalian

Shigella ditularkan melalui makanan, jari-jari tangan, feses, dan lalat dari orang ke orang. Sebagian besar kasus infeksi shigella terjadi pada anak berusia kurang dari 10 tahun. Shigellosis telah menjadi masalah yang penting pada tempat layanan penitipan anak di Amerika Serikat. *Shigella dysenteriae* dapat menyebar luas. Karena manusia merupakan pejamu utama bagi shigella patogenik, upaya pengendalian harus diarahkan pada eliminasi organisme dari reservoir melalui pengendalian sanitasi air, makanan, susu, pembuangan limbah, pengendalian lalat, isolasi pasien dan disinfeksi ekskreta, deteksi kasus subklinis dan karier, terutama mereka yang bekerja di industri boga, dan terapi antibiotik bagi individu yang terinfeksi (Brooks *et al.* 2010).

E. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri merupakan zat yang berfungsi membunuh atau menekan pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Berdasarkan aktivitas zat antibakteri bersifat bakterisidal yaitu membunuh bakteri, dan bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri (Sartika *et al.* 2013).

2. Mekanisme kerja antimikroba

Mekanisme kerja dari senyawa antimikroba diantaranya yaitu mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba (Gunawan *et al.* 2009).

2.1 Menghambat metabolisme sel mikroba. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu dan bakteri akan mati.

2.2 Menghambat sintesis dinding sel mikroba. Dinding sel bakteri, terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel dan menghambat reaksi terakhir (transpeptidasi) dalam rangkaian reaksi tersebut. Sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis.

2.3 Mengganggu keutuhan membran sel mikroba. Antimikroba dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Antimikroba yang mengubah tegangan permukaan, dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida.

2.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba. Sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Antimikroba bekerja dalam menyebabkan kode mRNA yang salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba.

2.5 Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Rifampisin, dan golongan kuinolon. Salah satu derivat rifampisin, berikatan dengan enzim polimerase RNA pada sub unit sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa memuat dalam kuman yang kecil sekalipun.

3. Metode uji antibakteri

Uji senyawa antibakteri adalah untuk mengetahui suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri penyebab infeksi pada manusia harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, bersifat sangat toksik untuk bakteri, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes.

3.1 Metode difusi. Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Metode *cup-plate technique* dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba konsentrasi tertentu yang akan diuji (Pratiwi 2008).

3.2 Metode dilusi. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi merupakan metode yang digunakan mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) atau KBM (konsentrasi bunuh minimum). Dibuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen mikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM. Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008).

F. Media

Media adalah suatu substansi yang komposisinya terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Komposisi nutrisi media yang komplit mengandung sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCl, dan air (Sutarma 2000). Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media harus steril sebelum digunakan untuk penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dengan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba (Dwidjoseputro 2005).

G. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan di dalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang dapat berkembang biak. Sterilisasi harus dapat membunuh jasad renik yang

paling tahan panas yaitu spora bakteri. Untuk membunuh jasad renik dapat digunakan beberapa perlakuan fisik, misalnya dengan pemanasan basah, pemanasan kering dan radiasi. Pemanasan basah yaitu dapat dengan cara perebusan di dalam air mendidih atau uap air pada suhu 100°C selama beberapa menit atau jam. Pemanasan basah dengan tekanan yaitu dilakukan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit spora yang paling tahan panas akan mati. Pemanasan kering kurang efektif untuk membunuh jasad renik dibandingkan pemanasan basah. Pemanasan basah menyebabkan denaturasi protein sedangkan pemanasan kering menyebabkan dehidrasi sel. Pemanasan kering sering digunakan dalam sterilisasi alat-alat gelas laboratorium, dimana digunakan oven dengan suhu 160°C-180°C selama 2-3 jam. Radiasi sinar ultraviolet yang dipancarkan dari lampu uap merkuri sering digunakan untuk menyinari ruangan sehingga mengurangi kontaminasi jasad renik di udara, radiasi ultraviolet menyebabkan kesalahan dalam replikasi DNA, dan mempunyai aktifitas mutagenik pada sel-sel yang masih hidup. Radiasi ionisasi adalah radiasi yang mengandung energi jauh lebih tinggi daripada sinar ultraviolet, oleh karena itu mempunyai daya disinfektan yang lebih kuat. Radiasi ionisasi misalnya sinar gamma yang dipancarkan dari kobalt-60, digunakan untuk mensterilkan alat-alat kedokteran dan laboratorium (Fardiaz 1989).

H. Kotrimoksazol

Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba, sehingga kombinasi kedua obat memberikan efek yang sinergis. Aktivitas antibakteri kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya pada dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfonamid menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidin) dan beberapa asam amino. Untuk mendapatkan efek sinergi diperlukan perbandingan kadar yang optimal dari kedua obat. Untuk

kebanyakan kuman, rasio kadar sulfametoksazol trimetoprim yang optimal adalah 20:1. Trimetoprim umumnya 20-100 kali lebih poten daripada sulfametoksazol. Sediaan kombinasi ini berguna untuk pengobatan shigellosis karena beberapa strain mikroba penyebabnya telah resisten terhadap ampisillin (Gunawan *et al.* 2009).

I. Landasan Teori

Disentri basiler merupakan suatu penyakit infeksi yang terjadi di kolon yang disebabkan oleh bakteri genus shigella. Gejala klinis shigellosis ditandai dengan diare cair akut seperti, tinja bercampur darah, lendir, nanah, demam, nyeri perut, dan tenesmus. Laporan epidemiologi menunjukkan terdapat 600.000 dari 140 juta pasien shigellosis meninggal setiap tahun di seluruh dunia. Data di Indonesia memperlihatkan 29% kematian diare terjadi pada umur 1 sampai 4 tahun disebabkan oleh disentri basiler (Bangkele *et al.* 2015). Salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan adalah pare (*Momordica charantia* L.). Buah pare berkhasiat sebagai obat untuk demam, disentri, kencing manis, dan radang tenggorokan (Komala *et al.* 2005). Buah pare (*Momordica charantia* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan asam momordica (Rahayu 2016). Mekanisme antibakteri saponin membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein dan rusaknya dinding sel yang berakibat sel menjadi lisis (Rachmawati & Nursyamsi 2015). Mekanisme alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selain itu biasanya alkaloid diketahui sebagai garam organik pada tumbuhan dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal dan tidak berwarna (Cholifah 2014). Flavonoid mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Kurniawan 2015).

Metode penyarian buah pare yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat dan air. Etanol dengan konsentrasi 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Indraswari 2008). Selain daripada itu, etanol 70% mudah ditemukan dan memiliki harga yang lebih ekonomis (Aziz *et al.* 2014). *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar yang bersifat stabil dan mudah menguap, selektif dalam menguapkan zat, mengekstrak zat pewangi dalam jumlah besar, *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Pratiwi *et al.* 2016a). Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon dari buah pare, misalnya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013). Air merupakan pelarut yang paling mudah didapat dan murah. Tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar. Air melarutkan minyak menguap, glikosida, flavonoid, tanin, dan asam organik. Kelemahannya hanya pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada buah pare mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi dan akan diketahui fraksi yang aktif terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 (Sibuea 2015).

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* variasi konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 25% dan 50% dengan diameter rata-rata zona hambat 8,3 mm, 9,3 mm dan 11,7 mm (Rahayu 2016). Penelitian lain menyatakan ekstrak etanol buah pare pada konsentrasi 30% diameter zona hambat 13 mm. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol buah pare semakin besar juga diameter zona hambat yang dihasilkan (Anibijuwon 2011).

Pengukuran aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui

konsentrasi hambat minimum, daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode dilusi merupakan metode yang digunakan mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) atau KBM (konsentrasi bunuh minimum) (Meirastuti *et al.* 2013).

J. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pare (*Momordica charantia* Linn.) yang diperoleh dari Sawit, Boyolali, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare yang diambil dari populasi secara acak. Tanaman pare yang diambil memiliki buah yang berwarna hijau, diambil dari tanaman yang masih segar, terbebas dari hama yang diperoleh di daerah Sawit, Boyolali, Jawa Tengah pada Januari 2018.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak buah pare.

Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah suatu variabel yang variasinya mempengaruhi variabel lain. variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah pare.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah pare.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian adalah kemurnian bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang harus steril, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi, media yang digunakan, waktu panen, metode ekstraksi dan kondisi fisik peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, buah pare adalah buah dari tanaman pare (*Momordica charantia* Linn.) yang diperoleh dari Sawit, Boyolali, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk buah pare adalah buah pare yang diambil kemudian dicuci pada air mengalir untuk membersihkan kotoran yang masih menempel setelah itu dipotong-potong dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol buah pare adalah serbuk buah pare yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak dari etanol 70% buah pare yang difraksinasi dengan air dan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar.

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

Keenam, fraksi air adalah fraksinasi dari fase etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar.

Ketujuh, bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah bakteri yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri adalah menggunakan metode difusi konsentrasi 50%; 25%; 12,5% dengan menggunakan kontrol positif adalah disc antibiotik kotrimoksazol dan kontrol negatif larutan DMSO 5% untuk menentukan diameter zona hambat atau daerah hambatan jernih yang mengelilingi cakram yang berisi bahan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri.

Kesembilan, uji aktivitas antibakteri adalah menggunakan metode dilusi konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781% ; 0,390% dengan kontrol positif adalah suspensi bakteri dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kontrol negatif adalah larutan fraksi buah pare teraktif untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1 Alat untuk pembuatan dan analisis serbuk simplisia. Alat yang digunakan pembuatan serbuk simplisia adalah timbangan, oven, blender, ayakan no. 40, dan *sterling-bidwell*.

1.2 Alat maserasi. Alat yang digunakan untuk maserasi adalah gelas ukur, kain flanel, kertas saring, *vaccum rotary evaporator*, corong buchner dan *waterbath*.

1.3 Alat uji aktivitas antibakteri. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah ose platina, cawan petri, inkas, tabung reaksi, pipet tetes, lampu spiritus, otoklaf, inkubator, kaca objek, mikroskop, dan penggaris.

1.4 Alat identifikasi kandungan senyawa. Alat yang digunakan untuk identifikasi senyawa adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, penjepit tabung, lampu spiritus, corong kaca, *beaker glass* dan gelas ukur.

2. Bahan

2.1 Bahan utama. Bahan utama yang digunakan adalah tanaman pare (*Momordica charantia* L.) yang diperoleh dari Sawit, Boyolali, Jawa Tengah. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

2.2 Bahan kimia. Bahan yang digunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, etanol 70%, aquadestilata, HCl 2N, FeCl₃ 1%, larutan Mayer, asam sulfat pekat, asam asetat pekat, serbuk Mg, reagen Ehrlich, NaCl, (Gram A) cat kristal violet, (Gram B) larutan lugol iodine, (Gram C) alkohol-aseton, (Gram D) safranin, larutan DMSO 5%, disc antibiotik kotrimoksazol, *Mc Farland* 0,5

2.3 Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

2.4 Media. Media yang digunakan adalah SSA (*Salmonella Shigella Agar*), KIA (*Kliger Iron Agar*), SIM (*Sulfida Indol Motilitas*), LIA (*Lysin Iron Agar*), Citrat, BHI (*Brain Heart Infusion*), dan MHA (*Mueller Hinton Agar*).

D. Jalan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah determinasi tanaman yang dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman pare sesuai kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

2. Pembuatan serbuk simplisia

Pembuatan serbuk buah pare dilakukan dengan cara pencucian buah pare terlebih dahulu dengan air mengalir untuk menghilangkan mikroba, kotoran dan debu. Buah pare yang sudah bersih dipotong-potong lalu diangin-anginkan kemudian ditimbang diperoleh 16 kg, setelah itu dikeringkan pada oven suhu 40°C. Buah pare yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 mesh, sehingga diperoleh serbuk buah pare yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sampai penyarian berlangsung secara efektif.

3. Kadar air serbuk buah pare

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menimbang 20 gram serbuk buah pare dimasukkan dalam labu destilasi yang sudah terisi batu didih dan ditambahkan pelarut xilen sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *sterling-bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil sampai mendidih. Pemanasan dihentikan ketika kadar air dari serbuk buah pare sudah tidak menetes kembali pada gelas ukur alat *sterling-bidwell*. Penetapan kadar air simplisia untuk mengetahui terpenuhinya ketentuan kadar air ekstrak dengan mutu yang baik. Kadar air ditentukan karena air yang tersisa dalam

ekstrak pada kadar air tertentu merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik. Pertumbuhan kapang dan mikroorganisme lain dapat menyebabkan perubahan kimia pada senyawa aktif dan dapat mengakibatkan kemunduran mutu ekstrak. Kadar air memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia buah pare ($\leq 9,2\%$) (Depkes RI 2010).

4. Pembuatan ekstrak buah pare

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk buah pare 800 gram dalam pelarut etanol 70% sebanyak 75 bagian, selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Pisahkan maserat dengan cara pengendapan. Ampas diperas kemudian sisa ampas dicuci dengan cairan penyari hingga diperoleh 100 bagian (Ramadhan *et al.* 2017). Hasil maserat dikumpulkan, kemudian diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI 2008). Rendemen yang diperoleh dihitung persentase bobot (b/b) dengan membandingkan berat ekstrak yang diperoleh dengan berat awal simplisia dikalikan 100%. Rendemen harus mencapai angka sekurang-kurangnya sebagaimana ditetapkan pada masing-masing monografi ekstrak. Pembuatan ekstrak buah pare rendemen tidak kurang dari 17% (Depkes RI 2010).

5. Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak buah pare. Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan ditunjukkan dengan tidak terbentuknya bau ester yang khas dari alkohol pada uji esterifikasi (Sayuti 2015).

6. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara ditimbang 10 gram ekstrak buah pare selanjutnya difraksinasi cair-cair dengan menggunakan 75 ml (aquades : etanol) dan 75 ml *n*-heksana sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah, fase *n*-heksana dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil fraksinasi ini disebut fraksi *n*-heksana. Fase air yang diperoleh difraksinasi kembali dengan 75 ml etil asetat sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah.

Fase etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga menjadi fraksi etil asetat. Fase air ditampung dalam wadah dan dipekatkan dengan *waterbath* sehingga menjadi fraksi air.

7. Pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi buah pare

Preparasi pembuatan larutan serbuk dengan cara serbuk dan akuadestilata dicampurkan kemudian dipanaskan dan disaring, hasil larutan kemudian dapat diujikan. Preparasi pembuatan larutan uji ekstrak dan fraksi dengan cara ekstrak dan atau hasil fraksi dilarutkan dengan etanol 70%, hasil larutan kemudian dapat diujikan. Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam buah pare. Identifikasi dilakukan terhadap senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, steroid/triterpenoid dan tanin.

7.1. Identifikasi flavonoid. Dilakukan dengan 2 mg cara bahan uji dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 ml HCl pekat dan amil alkohol. Senyawa flavonoid akan menunjukkan warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol (Lestari *et al.* 2014).

7.2. Identifikasi saponin. Dilakukan dengan cara 2 mg bahan uji ditambahkan aquades 5 ml. Kemudian dikocok vertikal selama 10 detik. Hasil uji positif jika timbul busa stabil selama 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Setyowati *et al.* 2014).

7.3. Identifikasi alkaloid. Dilakukan dengan cara 2 mg bahan uji ditambahkan dengan 1 ml HCl 2N dan 6 ml air suling, kemudian dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat diperiksa dengan ditambah 2-4 tetes pereaksi Mayer reaksi positif ditunjukkan adanya endapan putih kekuningan (Setyowati *et al.* 2014).

7.4. Identifikasi tanin. Sebanyak 2 mg ekstrak kental ditambah dengan 5 ml aquadest lalu dipanaskan di atas penangas air \pm 5 menit dan direaksikan dengan larutan FeCl₃ 1%. Bila terbentuk warna hijau kehitaman berarti positif adanya tanin (Setyowati *et al.* 2014).

7.5. Identifikasi steroid/triterpen. Dilakukan dengan dilarutkan ekstrak pekat dalam 0,5 ml kloroform, kemudian ditambahkan anhidrida asetat sebanyak 5 tetes dan asam sulfat pekat 5 tetes melalui dinding. Steroid memberikan warna

biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah jingga atau coklat kemerahan (Setyowati *et al.* 2014).

8. Sterilisasi

Peralatan yang digunakan harus dalam keadaan steril. Sterilisasi metode panas kering. Cawan petri, pipet tetes, tabung reaksi, labu erlenmeyer, vial, *beaker glass* dan gelas ukur disterilkan menggunakan oven pada suhu 160°C selama 2-3 jam. Ose platina disterilkan dengan pembakaran yaitu dengan membakarnya sampai merah membara dengan api bunsen. Medium disterilkan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15-30 menit.

9. Identifikasi bakteri uji

9.1. Isolasi bakteri. Bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 berdasarkan koloni dengan diinokulasikan 1 ose biakan bakteri pada media selektif *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dalam cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dilihat berdasarkan penampakan koloni yang terjadi kecil, halus, tidak berwarna, konvek, tepi, dan permukaan tidak rata.

9.2. Morfologi. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram. *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai pengintensif warna), Gram C (etanol : aseton = 1:1 sebagai peluntur warna), Gram D (cat safranin sebagai cat penutup). Bakteri dinyatakan Gram negatif apabila berwarna merah di bawah mikroskop (Bonang & Koeswardono 1982).

9.3. Fisiologi. Identifikasi berdasarkan uji biokimia, medium yang digunakan yaitu SIM, KIA, LIA dan Sitrat.

Uji pada media *Sulfida Indol Motility* (SIM), biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol dan motilitas bakteri. Uji pada *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditandai dengan uji sulfida maka media tidak berwarna hitam, uji indol terbentuk cincin indol warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich A dan B, uji motilitas terjadi pertumbuhan bakteri hanya pada bekas tusukan.

Uji pada media KIA (Kliger Iron Agar), biakan bakteri diinokulasikan dengan cara tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa), ada tidaknya gas dan sulfide. Uji positif pada *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditandai dengan bagian lereng akan berwarna merah maka (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), tidak terbentuk warna hitam pada medium maka ditulis S(-) dan adanya gas ditandai dengan pecahnya atau terperangkap medium keatas ditulis G(+).

Uji pada media LIA (Lysine Iron Agar), inokulasi bakteri dengan cara tusukan dan goresan, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji diaminasi lisin dan sulfide. Uji positif pada *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditandai dengan bagian lereng akan berwarna ungu maka ditulis K dan dasar berwarna kuning maka ditulis A, medium tidak berwarna hitam maka ditulis S(-).

Uji pada media Citrat, bakteri diinokulasikan dengan cara goresan kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji Citrat pada *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditandai dengan media berwarna hijau maka ditulis negatif (-).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dalam biakan murni diambil 2 ose steril bakteri uji pada biakan media agar miring kemudian ditanam secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang sudah berisi 10 ml *Brain Heart Infusion* (BHI). *Brain Heart Infusion* (BHI) digunakan untuk mengencerkan suspensi bakteri sampai diperoleh kekeruhan yang sama dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 dengan populasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dengan tujuan untuk mendapatkan bakteri yang lebih banyak. Pembuatan suspensi bakteri bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri (Bonang & Koeswardono 1982).

11. Pengujian daya antibakteri dengan metode difusi

Metode yang digunakan yaitu difusi. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan cawan petri steril yang diisi dengan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 25 ml dan meletakkan cakram yang sudah dijenuhkan dengan larutan stok. Pertama dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam medium MHA dengan metode perataan *Spread Plate Method* dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media secara merata. Pada media tersebut dibuat 6 bagian kertas cakram. Selanjutnya kertas cakram yang telah dijenuhkan dari semua konsentrasi diletakkan pada media MHA yang sudah diolesi bakteri dan diletakkan sesuai dengan bagian masing-masing, cakram 1 diisi ekstrak, cakram 2 diisi fraksi *n*-heksana, cakram 3 diisi fraksi etil asetat, cakram 4 diisi fraksi air, cakram 5 diisi larutan DMSO 5% sebagai kontrol negatif dan cakram 6 diisi disc antibiotik kotrimoksazol sebagai kontrol positif. Konsentrasi ekstrak dan fraksi masing-masing 50%, 25% dan 12,5%. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati diameter terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram menandakan adanya daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

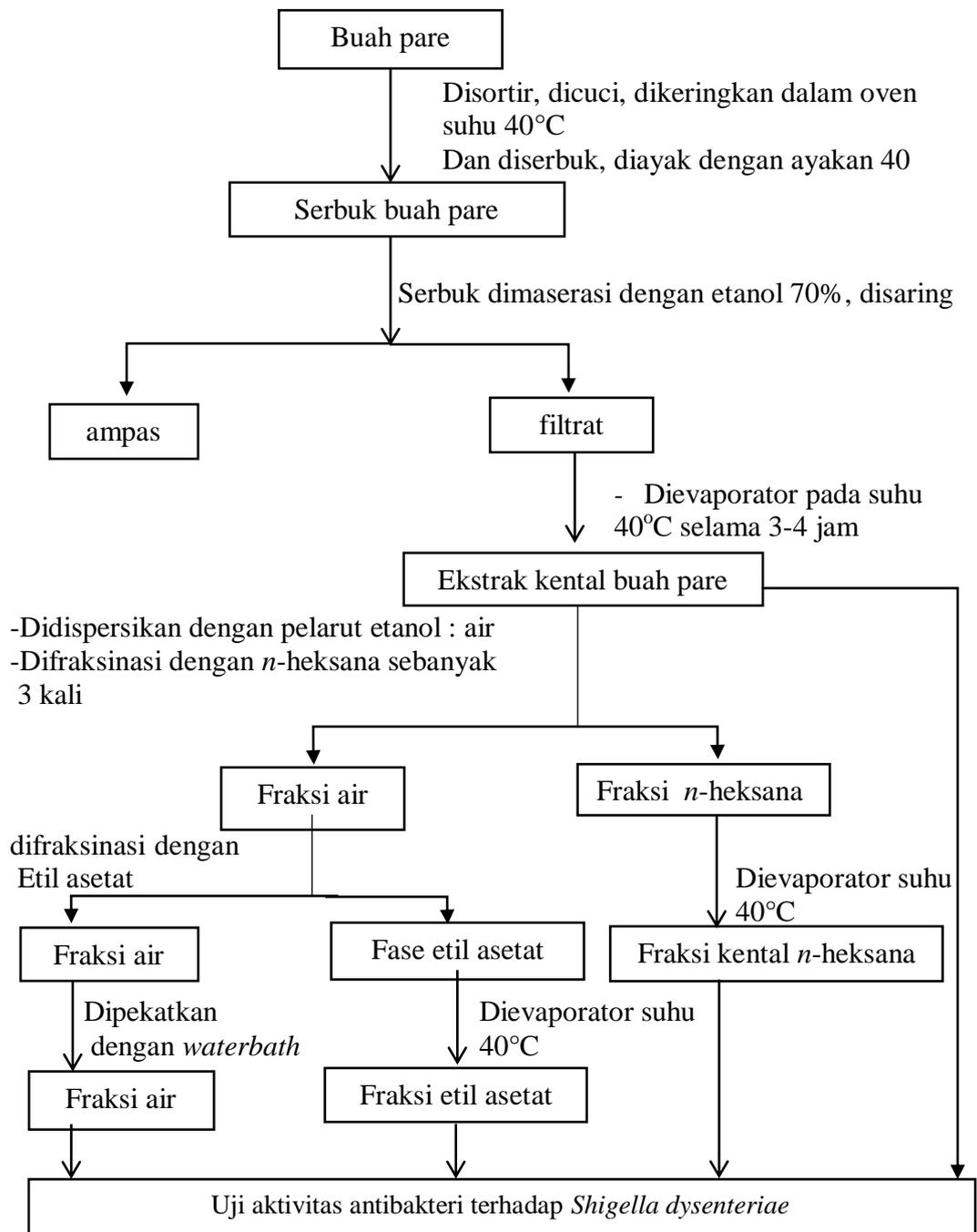
12. Pengujian daya antibakteri dengan metode dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan cara membuat seri konsentrasi hasil fraksi buah pare teraktif, percobaan yang terdiri 10 tabung reaksi dengan interval pengenceran dua kali. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah atau hasil fraksi buah pare teraktif terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu. Konsentrasi hambat minimum dapat ditentukan dengan prosedur dilusi. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 5%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,390%. Masing-masing tabung diisi 1 ml media BHI dari tabung ketiga sampai kesembilan secara aseptik, ke dalam tabung pertama

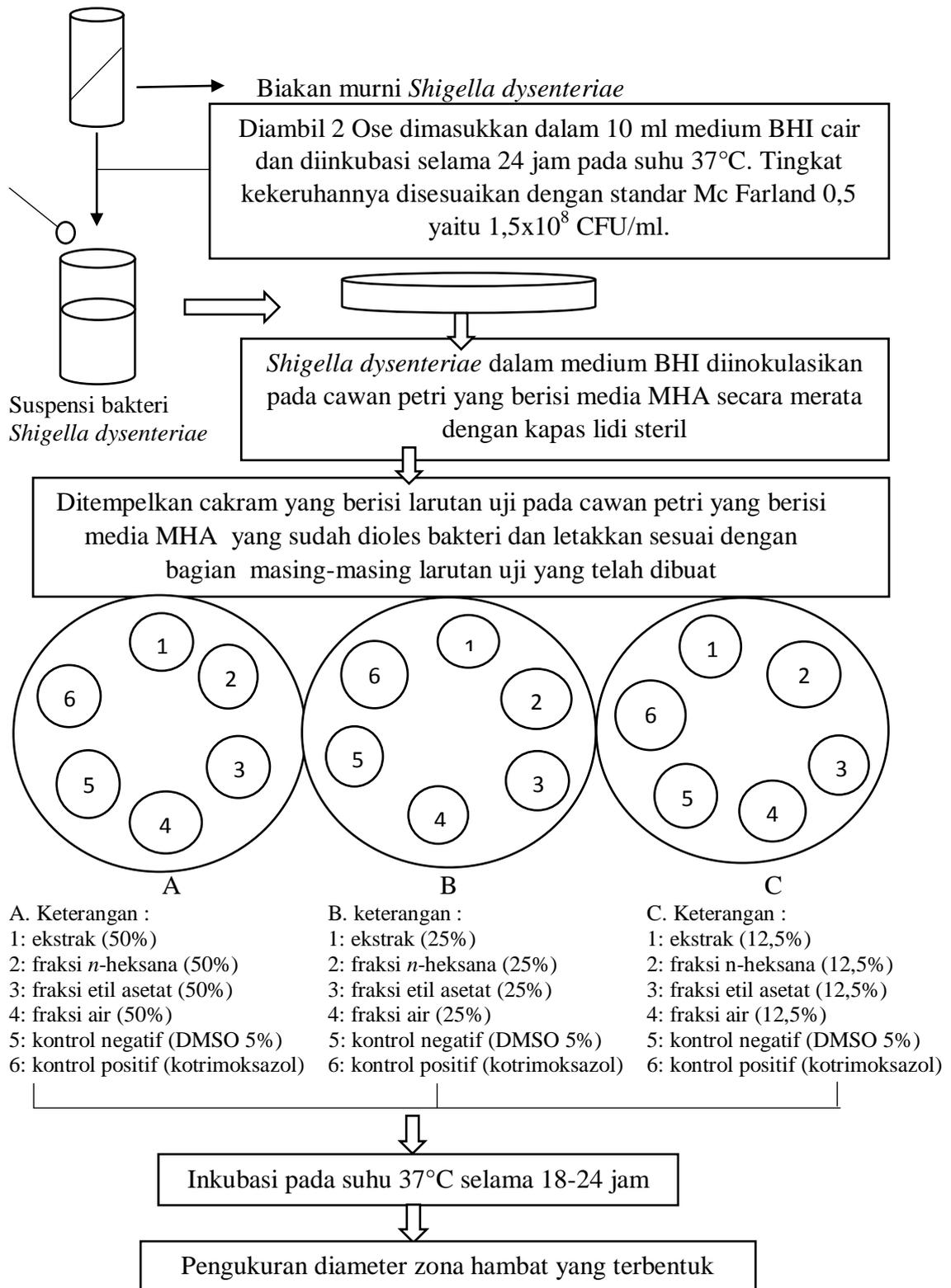
dan kedua masing-masing ditambahkan 2 ml larutan stok fraksi teraktif yang akan diperiksa, kemudian dari tabung kedua diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung ketiga, dan dari tabung ketiga diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung keempat dan begitu seterusnya sampai tabung kesembilan dan dari tabung kesembilan di ambil 1 ml lalu dibuang. Ditambahkan 1 ml suspensi bakteri yang akan diperiksa pada tabung kedua hingga kesembilan, tabung kesepuluh hanya berisi 2 ml suspensi bakteri. Tabung pertama berlaku sebagai kontrol negatif sedangkan tabung terakhir sebagai kontrol positif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan berdasarkan pangenceran tertinggi pada tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 18-24 jam. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan dengan 3 kali replikasi. Dari tabung yang jernih diinokulasi pada medium *Salmonella Shigella Agar* (SSA) diinkubasi selama 18-24 jam lalu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

E. Analisis Hasil

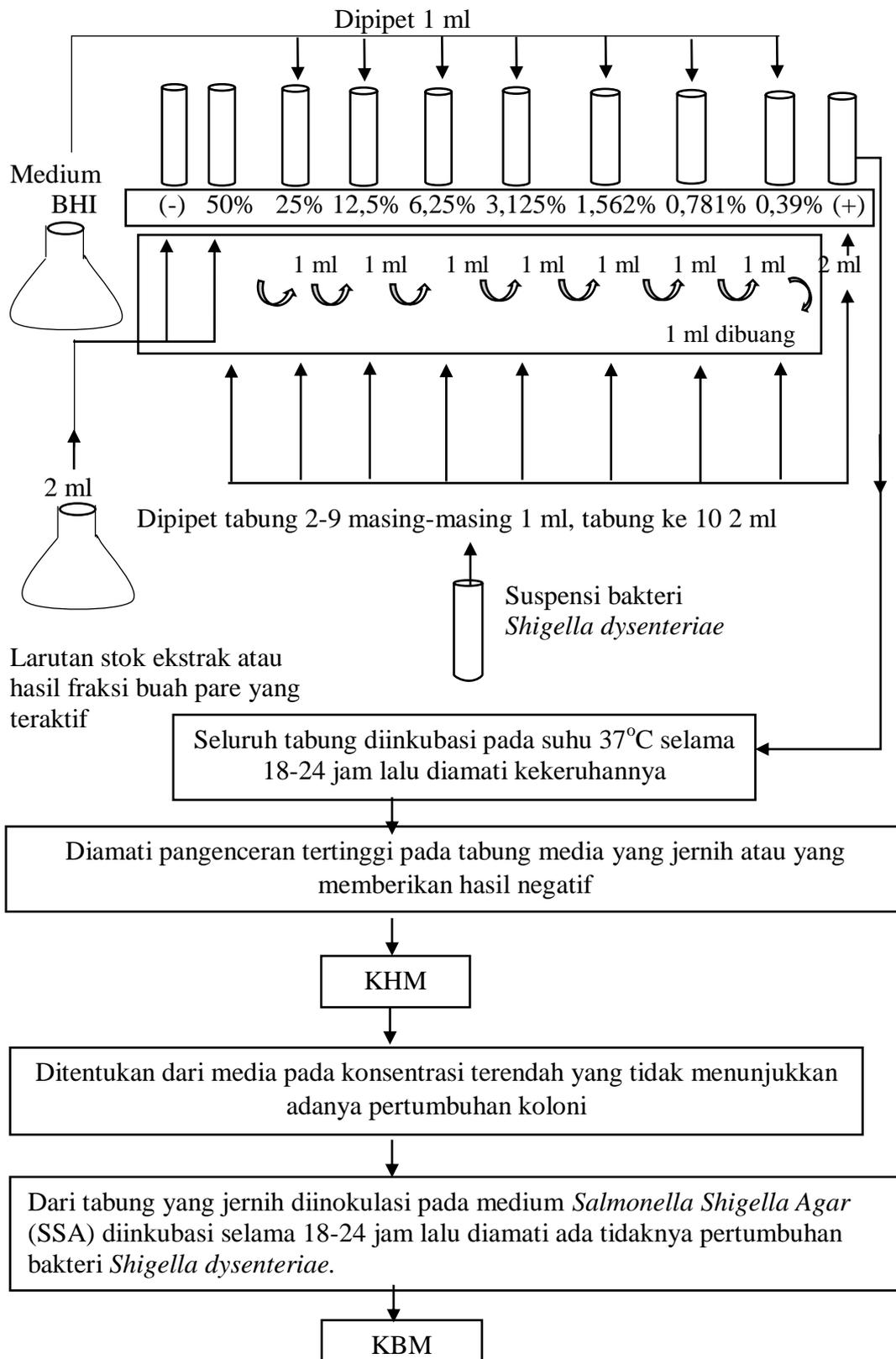
Data aktivitas antibakteri antar fraksi ekstrak etanol buah pare diuji secara statistik dengan Analisis of Varian (ANOVA) dengan menggunakan software SPSS pada konsentrasi yang sama untuk data hasil uji difusi. Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal (*Kolmogorov-Smirnov*), kemudian dilakukan uji Levene Statistic fungsi uji ini adalah mengetahui homogenitas data dengan kriteria $p > 0,05$. Dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA).



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi buah pare (*Momordia charantia* L.)



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak etanol buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman pare

Determinasi buah pare (*Momordica charantia* Linn.) dilakukan di Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar buah pare (*Momordica charantia* Linn.). Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan sebagai objek penelitian dengan cara mencocokkan ciri-ciri tanaman yang tercantum dalam literatur, untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

Hasil determinasi tanaman pare :

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32a - 33a - 34a - 35a - 36d - 37b - 38b - 39b - 41b - 42b - 44b - 45b - 46e - 50b - 51b - 53b - 54b - 57b - 58b - 59d - 72b - 73b - 74b - 631b - 632b - 633a - 634b - 635b - 636b - 637b - 638b - 639b - 640b - 652d - 653b. **74. Cucurbitaceae.** 1b - 2b - 4b - 6b - 7b - 9b - 11b - 12a - 13a - 14b. **7. Momordica** 1a. ***Momordica charantia* L.**

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah *Momordica charantia* Linn. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk buah pare

Buah pare yang telah dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari debu. Buah pare yang sudah bersih dipotong-potong tipis kemudian ditimbang dan diangin-anginkan lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Proses pengeringan mengurangi kadar air untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur dan bakteri, mencegah perubahan kimiawi yang dapat menurunkan mutu serbuk, serta mempermudah pembuatan serbuk.

Buah pare yang sudah dikeringkan kemudian dibuat serbuk dengan tujuan penarikan dapat berlangsung semaksimal mungkin. Semakin kecil partikel maka permukaan serbuk yang bersentuhan dengan cairan penyari akan semakin luas sehingga penyarian dapat berlangsung efektif. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah daun bayam merah dapat dilihat pada tabel 1. Buah pare yang sudah kering kemudian digiling lalu diayak dengan ayakan no 40 agar diperoleh derajat kehalusan yang sama sehingga ekstraksi dapat berjalan lebih optimal. Bobot basah sebanyak 16000 gram diperoleh bobot kering sebesar 1200 gram. Persentase rata-rata bobot kering terhadap bobot basah buah pare sebesar 7,5% b/b. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah buah pare

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
16000	1200	7,5

3. Hasil penetapan kadar air serbuk buah pare

Penetapan kadar air serbuk buah pare dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Persentase kadar air yang baik untuk buah pare adalah kurang dari 9,2% (Depkes RI 2010). Kadar air yang terlalu tinggi dapat mempermudah jamur dan mikroorganisme lainnya tumbuh serta dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang dapat merusak dan menurunkan mutu serbuk.

Hasil penetapan kadar air serbuk buah pare dapat dilihat pada tabel 2. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk buah pare dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk buah pare

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1.	20,151	1,5	7,44
2.	20,034	1,4	6,99
3.	20,076	1,5	7,47
	Rata-rata		7,30

Hasil rata-rata persentase penetapan kadar air serbuk buah pare adalah 7,303%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 9,2%.

4. Pembuatan ekstrak etanol buah pare

Metode pembuatan ekstrak pada penelitian ini dengan menggunakan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut

etanol 70% karena sifatnya yang mampu melarutkan senyawa polar maupun nonpolar.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol buah pare

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)
800	167	20,875

Berdasarkan Tabel 3, ekstraksi dengan menggunakan cara maserasi, ekstrak kental yang didapat dari 800 gram serbuk kering buah pare sebesar 167 gram dan diperoleh rendemen 20,875%. Rendemen pada penelitian ini artinya dalam 800 gram serbuk kering buah pare senyawa yang tertarik yaitu saponin, tanin, flavonoid, terpenoid dalam buah pare sebesar 20,875% dengan berat ekstrak yaitu 167 gram. Ekstrak berbentuk kental, berwarna coklat tua, bau khas. Perhitungan persen rendemen ekstrak etanol buah pare dapat dilihat pada lampiran 12.

5. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare

Uji bebas etanol dilakukan dengan tes esterifikasi ekstrak etanol buah pare. ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak etanol buah pare

Pustaka	Hasil
Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Kurniawati 2015).	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol

Hasil ekstraksi yang diperoleh dalam penelitian ini diuji bebas etanol. Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah pare menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak dapat digunakan untuk tahap selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

6. Hasil fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain, merupakan

suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan juga dengan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 1987). Fraksinasi ekstrak etanol buah pare dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan perbedaan polaritasnya. Pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana, etil asetat, dan air. *n*-Heksana adalah pelarut yang bersifat nonpolar, etil asetat adalah pelarut semipolar, sedangkan air adalah pelarut polar. Perhitungan persen rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare dapat dilihat di lampiran 13. Data hasil pembuatan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air buah pare dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rendemen hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air.

Ekstrak etanol (gram)	Fraksi (gram)			Rendemen (%)		
	<i>n</i> - heksana	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
90	3,56	16,11	31,7	3,95%	17,9%	35,22%

Fraksinasi dilakukan sebanyak 9 kali replikasi, dimana masing-masing proses ditimbang 10 gram ekstrak etanol buah pare sehingga total berat ekstrak yang digunakan yaitu 90 gram. Tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana total berat yang didapat sebanyak 3,56 gram dengan rendemen 3,95%, fraksi etil asetat total berat sebanyak 16,11 gram dengan rendemen 17,9%, dan fraksi air total berat yang didapat sebanyak 31,7 gram dengan rendemen 35,22% artinya dalam 90 gram ekstrak senyawa yang tertarik meliputi saponin, tanin, flavonoid dalam ekstrak buah pare sebesar 35,22%. Rendemen yang didapat pada setiap pelarut berbeda karena tergantung kemampuan dari pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol buah pare. Rendemen fraksi air lebih besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat. Pelarut air bersifat polar, sehingga akan menarik senyawa yang bersifat polar juga, maka dapat disimpulkan senyawa yang bersifat polar lebih banyak terkandung dalam buah pare. Perhitungan prosentase rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah pare dapat dilihat pada lampiran 12.

7. Pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak, fraksi buah pare

Hasil pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi buah pare dapat dilihat pada tabel 6. Foto pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi buah pare dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 6. Hasil uji kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi dari buah pare

Kandungan kimia	Pustaka	Interpretasi hasil				
		serbuk	ekstrak	fraksi		
				<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Flavonoid	Timbulnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Lestari <i>et al.</i> 2014)	+	+	-	+	+
Saponin	Terbentuk busa stabil (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	+	+	-	-	+
Alkaloid	Terbentuk endapan putih terhadap reagen Mayer (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	-	-	-	-	-
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	+	+	-	+	+
Steroid/triterpenoid	Steroid terbentuk warna hijau. Triterpenoid terbentuk warna coklat kemerahan (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	+	+	+	-	-

Keterangan :
 + : mengandung golongan senyawa
 - : tidak mengandung golongan senyawa

Identifikasi kandungan kimia terhadap serbuk, ekstrak, dan fraksi buah pare berdasarkan tabel 6 masing-masing menunjukkan hasil positif dan negatif. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol buah pare positif mengandung flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid. Hasil uji sedikit berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu kandungan dari buah pare mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, steroid (Rahayu 2016), hal tersebut diduga karena tanaman yang digunakan berbeda tempat tumbuh dan iklim sehingga kemungkinan adanya perbedaan kandungan kimia yang terdapat pada tanaman pare. Hasil identifikasi fraksi buah pare mengandung senyawa yang lebih sedikit jenisnya daripada serbuk dan ekstrak. Hal ini disebabkan fraksinasi akan memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Fraksi *n*-heksana buah pare mengandung senyawa triterpenoid, sedangkan fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Fraksi air mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

8. Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

8.1 Isolasi bakteri. Identifikasi *Shigella dysenteriae* yang diinokulasi pada medium *Salmonella Shigella Agar* (SSA) diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil goresan menunjukkan koloni kecil bundar transparan, cembung, tepi berbatas tegas, mencapai diameter sekitar 2 mm dalam 24 jam. Hasil identifikasi secara goresan *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dapat dilihat di lampiran 7.

8.2 Hasil identifikasi *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pewarnaan Gram. Identifikasi *Shigella dysenteriae* dengan metode pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran 100x nampak berbentuk batang, dan berwarna merah sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 merupakan bakteri Gram negatif. Pada pewarnaan Gram A (kristal violet) bakteri Gram negatif akan menyerap warna ungu kebiruan pada kristal violet. Selanjutnya pewarnaan Gram B (Iodine) akan mengintensifkan zat warna terhadap bakteri. Pewarnaan Gram C (alkohol aseton) sebagai pemucat, bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan kompleks warna kristal violet pada saat pembilasan, hal ini karena alkohol meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid lapisan luar. Sehingga kompleks kristal violet dapat lebih mudah dihilangkan dari lapisan peptidoglikan yang tidak terikat dengan kuat. Oleh sebab itu sel-sel menjadi kehilangan warna atau tidak berwarna. Kemudian terwarnai oleh pewarna tandingan berupa gram D (safranin) yang akan terserap pada dinding selnya dan menyebabkan sel berwarna merah. Hasil gambar dapat dilihat di lampiran 7.

8.3 Hasil identifikasi *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara biokimia. Identifikasi uji biokimia *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 berdasarkan pustaka dapat dilihat pada tabel 7.

Pengujian	Hasil	Pustaka (Bonang & Koeswardono 1982)
SIM	- - -	- -/+ -
KIA	K/A S(-)	K/A S(-)
LIA	K/A S(-)	K/A S(-)
CITRAT	-	-

Pengujian *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media SIM menunjukkan (---) yaitu *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak dapat mereduksi thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga tidak berwarna hitam, indol negatif karena pada saat indol bereaksi dengan *reagen erlich* tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah, artinya bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon, dan motilitas negatif karena pertumbuhan bakteri hanya dibekas tusukan.

Pengujian pada media KIA memberikan hasil bagian lereng berwarna merah, dasar berwarna kuning dan medium tidak berwarna hitam S(-). *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 menguraikan glukosa dan tidak menguraikan laktosa. Dasar terbentuk warna kuning, karena *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 memfermentasi glukosa yang bersifat asam. Medium tidak terbentuk warna hitam karena tidak memproduksi hydrogen sulfide.

Pengujian pada LIA diperoleh hasil bagian lereng berwarna ungu karena bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 mendekarboksilase lisin sehingga menyebabkan reaksi basa, dasar berwarna kuning karena bakteri mendeaminasi lisin, dan tidak membentuk warna hitam S (-) karena tidak memproduksi hydrogen sulfide.

Pengujian pada media citrat negatif berwarna hijau, yang berarti *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

9. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air buah pare secara difusi

Pengujian antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari buah pare untuk mengetahui fraksi yang teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Konsentrasi yang digunakan adalah 50%, 25%, dan 12,5%, menggunakan pembanding antibiotik kotrimoksazol dengan konsentrasi 25 μ g sebagai kontrol positif dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode disc cakram, sehingga sebelumnya disc direndam dalam larutan uji dan ditunggu hingga jenuh (\pm 4 jam). Masa inkubasi

pengujian aktivitas antibakteri selama 18-24 jam pada suhu 37°C, daya hambat yang terbentuk berupa warna jernih disekitar daerah disc dalam ukuran mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol 70% buah pare memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare metode difusi dapat dilihat pada tabel 8. Foto aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare metode difusi dapat dilihat pada lampiran 8. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi buah pare metode difusi pada lampiran 14.

Hasil penelitian fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak etanol buah pare dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan bahwa adanya diameter hambat yang berbeda pula. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa fraksi air mempunyai aktivitas paling aktif, pada konsentrasi 50% mempunyai zona hambat rata-rata $17,67 \text{ mm} \pm \text{SD } 0,57$ dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare metode difusi

Konsentrasi	Sampel	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata \pm SD
		1	2	3	
50%	Ekstrak	13	15	12	13,33 \pm 1,52
	Fraksi <i>n</i> -heksana	9	10	9	9,33 \pm 0,57
	Fraksi etil asetat	13	13	15	13,67 \pm 1,15
	Fraksi air	18	18	17	17,67 \pm 0,57
25%	Ekstrak	12	12	13	12,33 \pm 0,57
	Fraksi <i>n</i> -heksana	7	7	9	7,67 \pm 1,54
	Fraksi etil asetat	13	10	13	12 \pm 1,73
	Fraksi air	16	17	15	16 \pm 1
12,5%	Ekstrak	10	11	10	10,33 \pm 0,57
	Fraksi <i>n</i> -heksana	8	7	7	7,33 \pm 0,57
	Fraksi etil asetat	12	11	10	11 \pm 1
	Fraksi air	11	13	12	12 \pm 1
Antibiotik	kotrimoksazol	29	27	28	28 \pm 1
DMSO	5%	0	0	0	0 \pm 0

Fraksi air merupakan fraksi teraktif karena memiliki daya hambat lebih besar terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat. Fraksi air memiliki daya hambat paling besar terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, hal ini dikarenakan kemungkinan air

mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri yang bekerja secara optimum dibandingkan dengan fraksi yang lain. Senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam fraksi air adalah flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa tersebut mempunyai aktivitas masing-masing dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri lebih rendah daripada fraksi air, hal ini disebabkan karena fraksi etil asetat tidak dapat menarik senyawa saponin, tetapi hanya menarik senyawa flavonoid dan tanin dimana senyawa flavonoid dan tanin kemungkinan belum bekerja secara optimum sehingga aktivitas antibakterinya menghasilkan daya hambat yang lebih rendah daripada fraksi air. Ekstrak etanol buah pare mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam buah pare yaitu flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, akan tetapi senyawa-senyawa tersebut ternyata tidak mampu bekerja secara optimum sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil. Fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas penghambatan paling rendah, kemungkinan disebabkan karena senyawa yang terlarut dalam fraksi *n*-heksana yaitu terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri belum bisa bekerja secara optimum sehingga aktivitas antibakterinya rendah.

Senyawa saponin pada fraksi air bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri atau menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran oleh karena saponin yang berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga metabolisme sel bakteri terganggu, rusaknya membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat sehingga terjadi kematian sel (Hafizah *et al.* 2016). Senyawa flavonoid pada fraksi air terhadap bakteri menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Kurniawan & Aryana 2015). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Ernawati & Sari 2015). Senyawa tanin pada fraksi air mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri lisis

karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Ngajowa *et al.* 2013).

Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui apakah pelarut memiliki potensi menghambat atau membunuh bakteri. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO 5% yang tidak memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri uji karena tidak terbentuk zona bening di sekitar cakram maka zona hambat atau zona bunuh yang terbentuk tidak ada pengaruh dari pelarut. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kotrimoksazol. Antibiotik kotrimoksazol dipilih untuk pengujian daya antibakteri karena efek sinergis dari trimethoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba, sehingga kombinasi ini merupakan kemajuan penting dalam usaha meningkatkan efektivitas klinik antimikroba (Gunawan *et al.* 2009).

Perhitungan statistik yang digunakan adalah anova oneway untuk membandingkan kontrol positif (Kotrimoksazol), kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak etanol buah pare, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak buah pare setiap konsentrasi pada metode difusi. Pengujian statistika menggunakan uji One Way Anova dengan tingkat kemaknaan 95% atau $\alpha=0,05$. Sebelum uji Anova dilakukan uji Kolmogorov-smirnov, uji ini adalah menguji normalitas data dan mensyaratkan data penelitian tersebut terdistribusi normal jika akan menggunakan Anova. Kriteria uji Kolmogorov-Smirnov adalah bila Asymp. Sig. lebih dari 0,05 maka terdistribusi normal. Hasil data tabel uji Kolmogorov-Smirnov kontrol positif (Kotrimoksazol), kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak etanol buah pare, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak buah pare pada metode difusi didapatkan nilai Asymp. Sig. sebesar 0,111 berarti lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan data penelitian uji aktivitas antibakteri ini terdistribusi normal.

Setelah diketahui terdistribusi normal kemudian dilakukan uji Levene Statistic untuk mengetahui homogenitas data dengan kriteria $p>0,05$. Hasil data tabel uji Levene Statistic kontrol positif (Kotrimoksazol), kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak etanol buah pare, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak buah pare pada metode difusi didapatkan nilai Sig. sebesar 0,103. Nilai ini lebih

besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen atau memiliki variansi yang sama.

Selanjutnya dilakukan uji One Way Anova untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak etanol buah pare dan fraksi pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Kriteria ujinya adalah diameter zona hambat dalam berbagai konsentrasi yang dimiliki dinyatakan ada perbedaan yang nyata (signifikan) dengan tingkat kemaknaan $\alpha=0.05$, bila nilai signifikan (Sig.) lebih kecil dari 0.05, namun sebaliknya jika tidak ada perbedaan yang nyata (signifikan) bila nilai Signifikansi (Sig.) lebih besar dari 0.05. Dalam tabel didapatkan nilai signifikansinya sebesar 0.000. nilai ini lebih kecil dari 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan diameter zona hambatan dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%. Selanjutnya hasil uji anova terdapat perbedaan diameter daerah hambat maka dilakukan uji post hoc Student Neuman Keuls-tukey untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda dan konsentrasi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling baik. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui perbedaan antara kelompok yang satu dengan kelompok yang lainnya dengan melihat nilai sig. (p). Perbedaan kelompok yang signifikan diperoleh nilai sig<0.05, hasil menunjukkan bahwa ekstrak buah pare dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% memiliki nilai sig >0,05, dengan diameter zona hambat konsentrasi 50% memiliki nilai rata-rata terbesar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Tabel uji statistik dapat dilihat pada lampiran 17.

10. Pengujian daya antibakteri fraksi teraktif dengan metode dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan dengan metode dilusi untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 18-24 jam. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

Seri konsentrasi yang digunakan dari fraksi air buah pare yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,039%, kontrol (+) dan kontrol (-). Kontrol negatif berisi fraksi air dan kontrol positif berisi suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi fraksi teraktif buah pare metode dilusi dapat dilihat pada lampiran 15. Foto uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 metode dilusi dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi air buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

No.	Konsentrasi (%)	Fraksi Air		
		Replikasi		
		1	2	3
1	K (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	-	-	-
5	6,25	+	+	+
6	3,125	+	+	+
7	1,562	+	+	+
8	0,781	+	+	+
9	0,390	+	+	+
10	K(+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

K (-) : Larutan stok (fraksi air)

K (+) : Suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Tabel 9 menunjukkan bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dilakukan tiga kali replikasi dengan konsentrasi fraksi air yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,039%. Nilai KHM pada penelitian ini tidak dapat ditentukan karena sampel uji yang digunakan berwarna gelap sehingga mempersulit pengamatan. Penentuan nilai KBM dilakukan inokulasi dari tabung pada cawan petri yang berisi medium *Salmonella Shigella Agar* (SSA) untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yang tidak berwarna atau transparan. Setelah dilakukan penggosokan pada medium selektif *Salmonella Shigella Agar* diketahui bakteri dapat tumbuh pada konsentrasi 6,25% sehingga diketahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah 12,5%. Hasil uji dilusi menunjukkan bahwa konsentrasi 12,5% tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada replikasi yang pertama, kedua, dan ketiga.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kedua, berdasarkan fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 adalah fraksi air pada konsentrasi 50% dengan diameter hambat sebesar 17,67 mm.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air dari ekstrak etanol buah pare sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yaitu pada konsentrasi 12,5%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut isolasi senyawa aktif dari fraksi air sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Kedua, perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap buah pare dengan menggunakan metode penyarian dan penggunaan pelarut yang berbeda.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri tiap fraksi buah pare lebih lanjut terhadap bakteri patogen lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanah, Cornelli DL. 2017. Keefektifan Konsentrasi Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale* Roscoe) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*. Fakultas Kedokteran.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada* 2:1.
- Anibijuwon II, Abioye JA, Onifade AK. 2011. Comparative antimicrobial activities of some plant extracts and commercial antibiotics against some selected pathogens of food origin. *Department of Microbiology, Public Health Laboratory Unit, University of Ilorin, P. M. B. 1515, Ilorin, Kwara State, Nigeria.*
- Azis T, Febrizky S, Mario AD. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Alkaloid Dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia* 2:20.
- Bangkele EY, Nursyamsil, Greis S. 2015. Efek Anti Bakteri Dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [L] Swartz) Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Kesehatan Tadulako* 2:1-78.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Editor. 2010. *Jawetz, Melnick, & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-25. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Bontjura S, Waworuntu OA, Siagian KV. 2015. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Ilmiah Farmasi* ISSN 2302-2493
- Bonang G, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk laboratorium dan klinik*. Jakarta : Penerbit PT Gramedia
- Cholifah S, Arsyad, Salni. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia*, L) Terhadap Struktur Histologi Testis dan Epididimis Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) Sprague Dawley. *MKS*, 46, (2)
- Dalimarta S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 2. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan: Jakarta.

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2011. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. Tim Redaksi Triwulan II
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 10-11
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 174
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia Suplemen I*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hal 75-76
- Dewi IK, Joharman, Budiarti LY. 2013. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol Dengan Sediaan Sirup Herbal Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* In Vitro. Banjarmasin : Universitas Lampung
- Dwidjoseputro D. 2005. *Dasar Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan
- Ernawati, Sari K. 2015. Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*
- Ferdiaz S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi . Institut Pertanian Bogor : Hal 109-111
- Gunawan SG. 2009. *Farmakologi Dan Terapi* Edisi 5. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran
- Hafizah I, Muliati FF, Sulastrianah. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Porifera (*Spongia Officinalis*) terhadap *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. Universitas Halu Oleo
- Harbone. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, penerjemah: Bandung : ITB Press. Terjemahan dari : *Phytochemical Methods*.
- Haryanto S. 2012. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: PALMALL. Hal 377
- Herbie T. 2015. Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit Dan Kebugaran Tubuh. Yogyakarta : *OCTOPUS Publishing House*. hal 602

- Indraswari A. 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik Dan Flavonoid. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Komala O, Sari BL, Sakinah N. 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhi*. Bogor : Universitas Pakuan. Hal 36-41
- Kumesan YAN, Yamlean PVY, Supriati HS. 2013. *Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (Crinum asiaticum L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Manado : Universitas Sam Ratulangi. Vol 2. No 02
- Kurniawan B, Aryana WF. 2015. *Binahong (Cassia Alata L.) As Inhibitor Of Escherichiacoli Growth*. Universitas Lampung. Vol 4 No 4
- Kurniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Surabaya : Analisa Farmasi Universitas Airlangga
- Leboffe MJ, Pierce BE. 2011. *A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory*. Ed ke-4. USA: Morton Publishing Company. Hlm 2-6, 13, 64, 80-81, 94-96.
- Lestari PP, Kusriani D, Anam K. 2014. Anthocyanin Identification of Methanol-HCL Extract Active Fraction in Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) an Its Potential as Xanthine Oxidase Inhibitor. Universitas Diponegoro Semarang : Jurnal Sains dan Matematika
- Malangngia LP, Sangia MS, Paendonga JJE. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>
- Meirastuti DP, Leviana F, Samsumaharto RA. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-heksana, Eter dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Jambu Mede (*Anacardium occidentale L.*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 Dengan Metode Difusi. Surakarta : Universitas Setia Budi
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makasar : UIN Allaudin
- Ngajowa M, Abidjulua J, Kamua VS. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. Manado: Jurusan Kimia, FMIPA, Unsrat, Manado

- Prasetyo, Inorah E. 2013. Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Siplisia). Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB
- Pratiwi L, Rachman MS, Hidayati N. 2016. Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Bunga Cengkeh Dengan Pelarut Etanol Dan N-Heksana. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, Pramono S. 2016a. Ekstrak etanol, Ekstrak etil asetat, Fraksi etil asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01, 71 – 82
- Pratiwi ST, Editor. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga : PT Gelora Aksara Pratama
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Bali : Universitas Udayana.
- Rachmawati dan Nursyamsi. 2015. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Pembenihan *Difusi*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* : Vol. 2 No.1
- Rahayu S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro. Banjarmasin : Universitas Muhammadiyah Banjarmasin. 1(2):203-210.
- Sartika R, Melki, Purwiyanto AIS. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma cottoni* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella typhosa*. *Universitas Sriwijaya. Maspari Journal*, 5 (2), 98-103
- Sayuti NA. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). Surakarta : Politeknik Kesehatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* Vol.5 No.2
- Setyowati WAE, Ariani SRD, Ashadi, Mulyani B, Rahmawati CP. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Surakarta : FKIP UNS Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI
- Sibuea FSY. 2015. Ekstraksi Tanin Dari Kluwak (*Pangium edule* R.) Menggunakan Pelarut Etanol Dan Aquades Dan Aplikasinya Sebagai Pewarna Makanan. [Skripsi]. Fakultas Teknik. Universitas Negeri Semarang.

- Singh R, Kumar A, Giri DD, Bhuvaneshwari K, Pandey KD. 2012. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and Phytochemical Screening of Methanolic Fruit Extract of *Momordica charantia*. India : Banaras Hindu University. 1(4): 122-127
- Srinivasa H, Baijayanti M, Raksha Y. 2009. Magnitude of drug resistant shigellosis. Bangalore : Department of Microbiology . (27):358-360
- Sutarma. 2000. *Kultur Media Bakteri*. Balai Penelitian dan Veteriner JL RE Martadinata 30 Bogor 16114
- Yunita, Irwan A, Nurmasari R. 2009. Skrining Fitokimia Daun Tumbuhan Katimaha (*Kleinhovia hospita* L.). *Sains dan Terapan Kimia*, 2:112–12

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman pare



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

Nomor : 212/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Brelia Odra Faulinda
NIM : 20144209A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

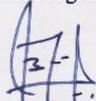
Nama Sampel : *Momordica charantia* L.
Familia : Cucurbitaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631b-632b-633a-634b-635b-636b-637b-638b-639b-640b-652d-653a-654b _____ **74. Cucurbitaceae**
1b-2b-4b-6b-7b-9b-11b-12a-13a-14b _____ **7. Momordica**
1a _____ ***Momordica charantia* L.**

Deskripsi Tumbuhan :
Habitus : terna semusim, merambat atau memanjat dengan sulur berbentuk spiral, beraroma langu/tidak enak. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau kuning keputihan. Batang : tidak berkayu, panjang 2-5 m, berusuk lima, masih muda berambut cukup rapat, setelah tua permukaan gundul, permukaan berwarna hijau. Daun : tunggal, letaknya berseling, bulat telur, panjang 3.5-8.5 cm, lebar 4-17 cm, permukaan berbulu, tepi daun berlekuk, berbagi menjari 5-9, pangkalnya berlekuk bentuk jantung, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda; tangkai daun bulat, panjang 7-15 cm, warna hijau tua. Bunga : tunggal, berkelamin satu; kelopak bunga bentuk lonceng, dengan banyak rusuk atau tulang membujur, warna hijau; mahkota bunga bentuk bulat telur, panjang 1.5-2 cm, lebar 1-1.3 cm, warna kuning; daun pelindung bunga berbentuk jantung hingga ginjal, warna hijau. Bunga jantan : benang sari 3, kepala sari lepas, warna oranye, ruang sari bentuk huruf S; panjang tangkai bunga 2-5.5 cm. Bunga betina : staminodia 3, bentuk sisik; putik 3, berlekuk, warna putih; bakal buah berparuh panjang, berduri tempel yang halus, berambut halus; panjang tangkai bunga 1-10 cm. Buah : buni, bulat memanjang, panjang 7-30 cm, berusuk 8-10, berbintil-bintil tidak beraturan, warna hijau ketika muda dan jingga setelah masak, runcing pada ujungnya serta permukaan bergerigi, rasanya pahit, pecah dengan 3 katup. Biji : pipih memanjang, keras, dengan alur tidak beraturan, warna coklat kekuningan pucat ketika masak, jika buah masih mentah maka biji berwarna putih.

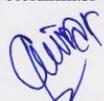
Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi



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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan



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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



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



Lampiran 2. Gambar buah pare dan serbuk buah pare



Buah pare (*Momordica charantia* L.)



Serbuk buah pare (*Momordica charantia* L.)

Lampiran 3. Foto alat *sterling bidwell* dan alat evaporator



Sterling bidwell



Evaporator

Lampiran 4. Foto alat corong buchner, vortex, inkubator, autoclav, uji bebas etanol



corong buchner



vortex



Uji bebas etanol



inkubator



Autoclav

Lampiran 5. Foto alat *waterbath* dan proses fraksinasi



Waterbath

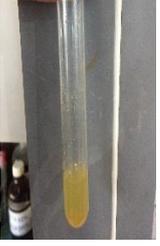


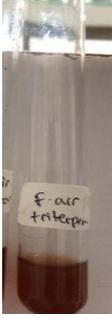
Proses fraksi *n*-heksana



Proses fraksi etil asetat dan air

Lampiran 6. Gambar pengujian kandungan kimia serbuk, ekstrak, fraksi buah pare

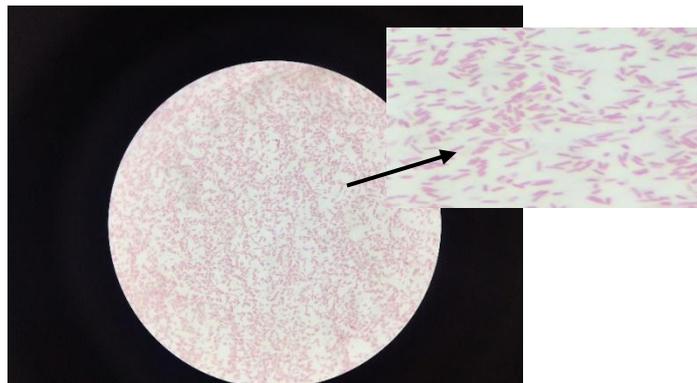
Senyawa	Bahan uji				
	Serbuk	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etilasetat	Fraksi air
Flavonoid					
Alkaloid					
Saponin					
Tanin					

Senyawa	Bahan uji				
	Serbuk	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etilasetat	Fraksi air
Triterpenoid					

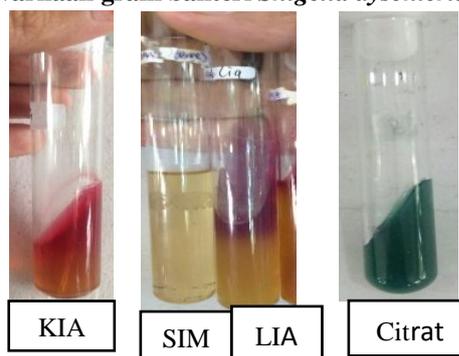
Lampiran 7. Gambar hasil identifikasi *Shigella dysenteriae* ATCC 9361



Koloni bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media SSA



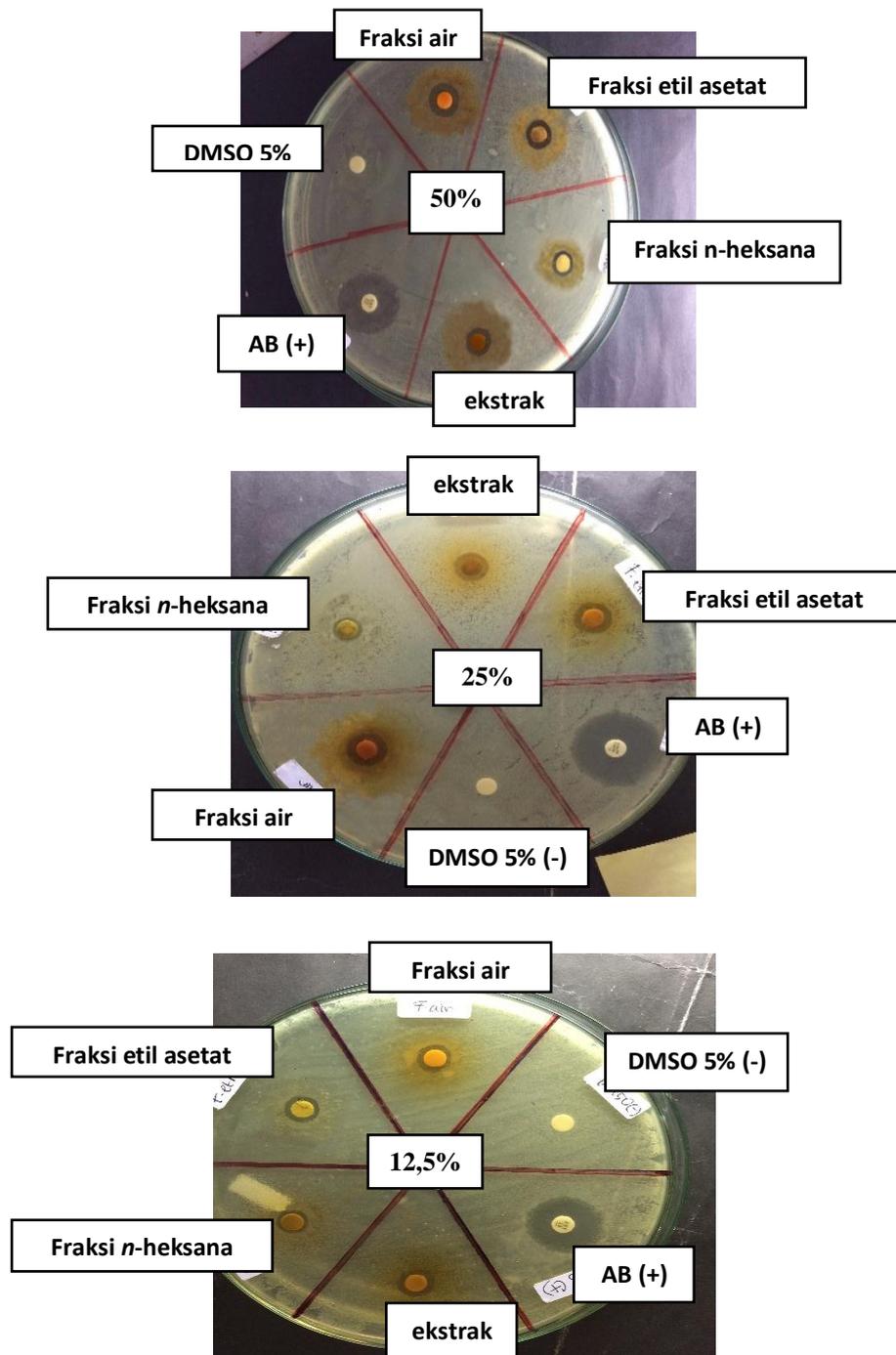
Hasil pewarnaan gram bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361



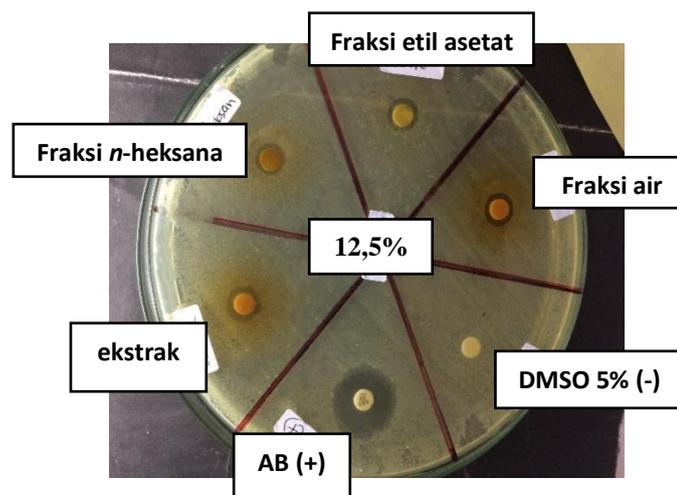
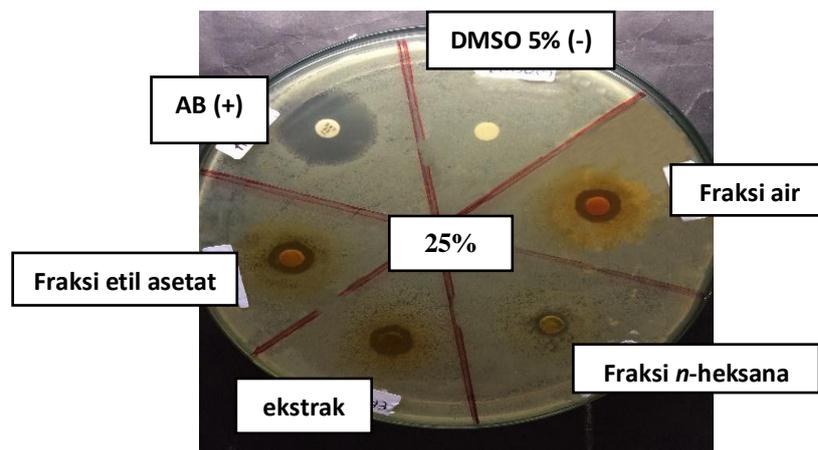
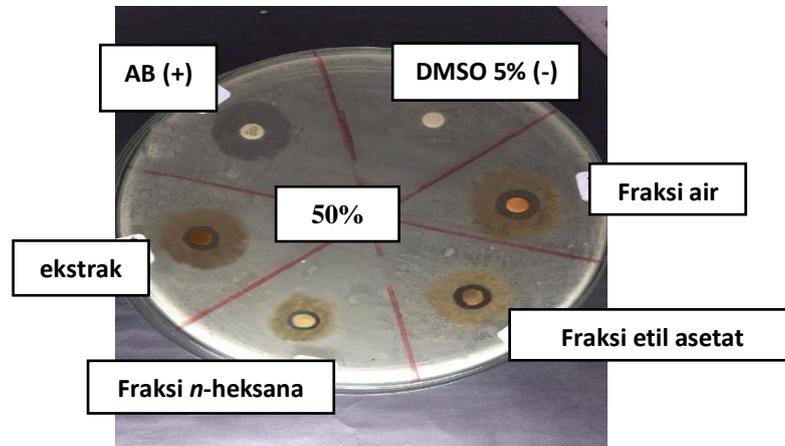
Hasil uji biokimia bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada media SIM, KIA, LIA, Citrat

Lampiran 8. Gambar uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 metode difusi menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

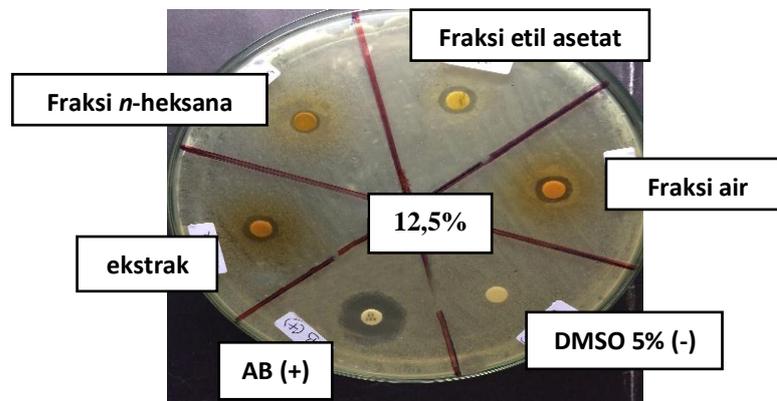
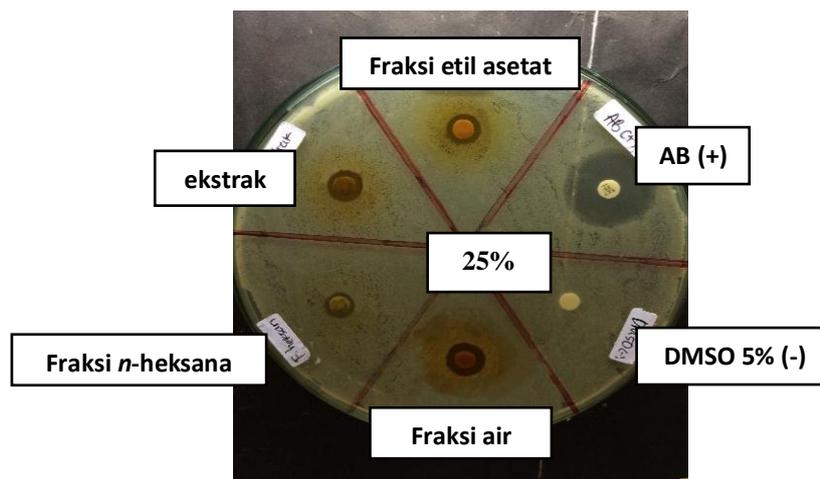
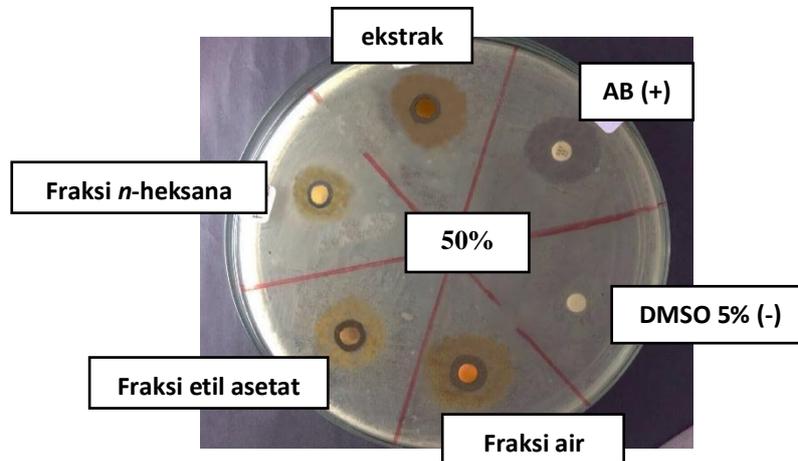
Replikasi 1



Replikasi 2

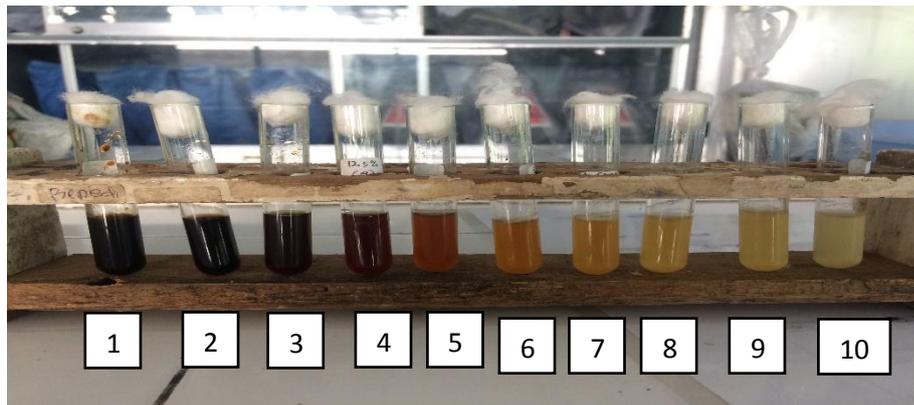


Replikasi 3

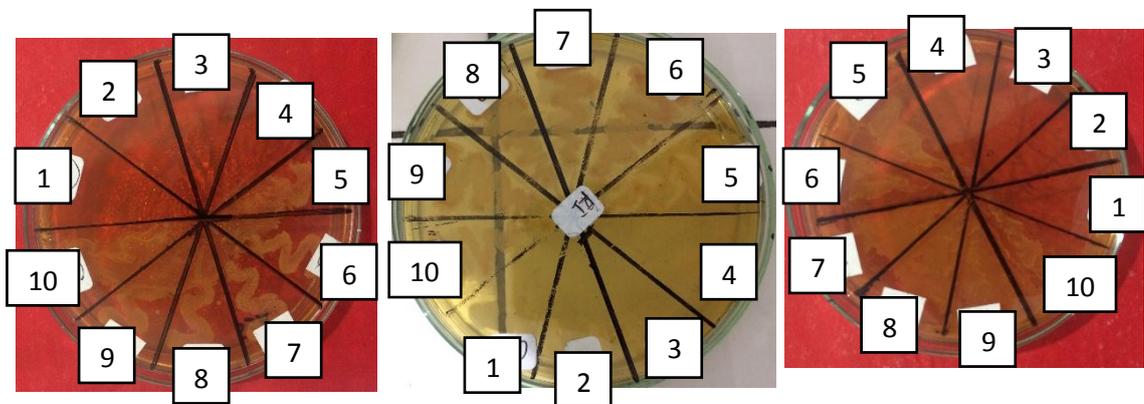


Lampiran 9. Gambar uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif buah pare terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 metode dilusi

Uji dilusi fraksi air terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361



Hasil inokulasi fraksi air buah pare



Keterangan :

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1. kontrol negatif (-) | 6. konsentrasi 3,125% |
| 2. konsentrasi 50% | 7. konsentrasi 1,562% |
| 3. konsentrasi 25% | 8. konsentrasi 0,781% |
| 4. konsentrasi 12,5% | 9. Konsentrasti 0,390% |
| 5. konsentrasi 6,25% | 10. Kontrol positif (+) |

Lampiran 10. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
16000	1200	7,5

$$\begin{aligned} \text{Rendemen serbuk} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1200}{16000} \times 100\% = 7,5\% \end{aligned}$$

Lampiran 11. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk buah pare

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1.	20,151	1,5	7,44
2.	20,034	1,4	6,99
3.	20,076	1,5	7,47
Rata-rata			7,301

$$\text{Perhitungan persentase penetapan kadar air} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air I} &= \frac{1,5}{20,151} \times 100\% \\ &= 7,44\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air II} &= \frac{1,4}{20,034} \times 100\% \\ &= 6,99\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air III} &= \frac{1,5}{20,076} \times 100\% \\ &= 7,47\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata prosentase kadar air} = \frac{7,44\% + 6,99\% + 7,47\%}{3} = 7,301\%$$

Lampiran 12. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol buah pare

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)
800	167	20,875

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen ekstrak etanol} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{167}{800} \times 100\% \\
 &= 20,875\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan persen rendemen fraksinasi buah pare

Ekstrak etanol (gram)	Fraksi (gram)			Rendemen (%)		
	<i>n</i> - heksana	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
90	3,56	16,11	31,7	3,95%	17,9%	35,22%

Perhitungan masing-masing rendemen fraksinasi *n*-heksana, etil asetat dan air dari fraksinasi sebanyak 9 kali replikasi dimana total ekstrak etanol yang digunakan yaitu 90 gram.

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

1. Hasil total rendemen fraksi *n*-heksana

- % Rendemen fraksi = $\frac{3,56}{90} \times 100\%$
= 3,95%

2. Hasil total rendemen fraksi etil asetat

- % Rendemen fraksi = $\frac{16,11}{90} \times 100\%$
= 17,9%

3. Hasil total fraksi air

- % Rendemen fraksi = $\frac{31,7}{90} \times 100\%$
= 35,22%

Lampiran 14. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi buah pare metode difusi

Larutan stok 50% : 50 % ^{b/v} sebanyak 2 ml

$$\text{gram ekstrak} = \frac{50}{100} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ gram}$$

Konsentrasi 50% : 1 gram/2 ml

Menimbang 1 gram ekstrak atau fraksi, kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% sampai 2 ml

Konsentrasi 25% : $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$V_1 \cdot 50\% = 2 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 25\%}{50\%}$$

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

Diambil 1ml dari sediaan awal (50%), kemudian ditambah DMSO 5% sampai 2ml

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

$$V_1 \cdot 25\% = 2 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 12,5\%}{50\%}$$

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

Diambil 1ml dari sediaan kedua (25%), kemudian ditambah DMSO 5% sampai 2ml

Lampiran 15. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi fraksi teraktif (fraksi air) buah pare metode dilusi

Fraksi air 50% = 50% b/v = 50 mg/100ml = 1 gram/2 ml

Menimbang 1 gram fraksi air, kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% sampai 2 ml

Tabung 1 = kontrol (-) diisi fraksi air 2 ml konsentrasi 50%

Tabung 2 = 2 ml fraksi air konsentrasi 50%

Tabung 3 = pembuatan konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 50\% &= 2 \text{ ml} \cdot 25\% \\ V_1 &= \frac{2 \text{ ml} \cdot 25\%}{50\%} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Diambil 1 ml dari dari tabung 2 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 4 = pembuatan konsentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 25\% &= 2 \text{ ml} \cdot 12,5\% \\ V_1 &= \frac{2 \text{ ml} \cdot 12,5\%}{25\%} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Diambil 1 ml dari dari tabung 3 kemudian ditambah BHI sampai 1ml

Tabung 5 = pembuatan konsentrasi 6,25%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ V_1 \cdot 12,5\% &= 2 \text{ ml} \cdot 6,25\% \\ V_1 &= \frac{2 \text{ ml} \cdot 6,25\%}{12,5\%} \end{aligned}$$

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

Diambil 1 ml dari dari tabung 4 kemudian ditambah BHI sampai 1ml

Tabung 6 = pembuatan konsentrasi 3,125%

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

$$V_1 \cdot 6,25\% = 2 \text{ ml} \cdot 3,125\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 3,125\%}{6,25\%}$$

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

Diambil 1 ml dari dari tabung 5 kemudian ditambah BHI sampai 1ml

Tabung 7 = pembuatan konsentrasi 1,562%

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

$$V_1 \cdot 3,125\% = 2 \text{ ml} \cdot 1,562\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 1,562\%}{3,125\%}$$

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

Diambil 1 ml dari dari tabung 6 kemudian ditambah BHI sampai 1ml

Tabung 8 = pembuatan konsentrasi 0,781%

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

$$V_1 \cdot 1,562\% = 2 \text{ ml} \cdot 0,781\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 0,781\%}{1,562\%}$$

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

Diambil 1 ml dari dari tabung 7 kemudian ditambah BHI sampai 1ml,

Tabung 9 = pembuatan konsentrasi 0,390%

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

$$V_1 \cdot 0,781\% = 2 \text{ ml} \cdot 0,390\%$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ml} \cdot 0,390\%}{0,781\%}$$

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

Diambil 1 ml dari dari tabung 8 kemudian ditambah BHI sampai 1ml, kemudian diambil 1 ml dan dibuang.

Tabung 10 = kontrol positif diisi suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* 2 ml

Keterangan :

Tabung 2 sampai 9 ditambahkan suspensi bakteri 1 ml

Lampiran 16. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan Pembuatan Media *Muller Hinton Agar* (MHA)

- | | |
|---------------------|-----------|
| – Meat Infusion | 1,0 gram |
| – Casein hydroysate | 1,0 gram |
| – Starch | 5.0 gram |
| – Agar-agar | 12,0 gram |
| – pH | 7,4 ± 0,2 |

Cara pembuatan : Suspensikan 38 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan ke dalam cawan petri simpan dalam kulkas.

2. Formulasi dan pembuatan Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

- | | |
|------------------------|------------|
| – Infus dari otak sapi | 200,0 gram |
| – Infus dari hati sapi | 250,0 gram |
| – Protease peptone | 10,0 gram |
| – Dekstrosa | 2,0 gram |
| – NaCl | 5,0 gram |
| – Dinatrium Fosfat | 5,0 gram |
| – Aquadest | ad 1000 ml |
| – pH | 7,4 ± 0,2 |

Cara Pembuatan : Suspensikan 37 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan ke dalam cawan petri simpan dalam kulkas.

3. Formulasi dan Pembuatan Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

- | | |
|-----------------------|-----------|
| – Lab lemco powder | 5,0 gram |
| – Peprone | 5,0 gram |
| – Lactoce | 10,0 gram |
| – Bile salts | 8,5 gram |
| – Sodium citrate | 10,0 gram |
| – Sodium thiosulphate | 8,5 gram |
| – - Ferric citrate | 1,0 gram |

- Brilliant green 0,00033 gram
- Neutral red 0,0025 gram
- Agar 15,0 gram
- pH 7,0
- Aquadest 1000 ml

Cara pembuatan : Suspensikan 60 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, kemudian media diukur pH 7,0 dan masukkan ke dalam cawan petri simpan dalam kulkas.

4. Formulasi dan Pembuatan *Kliger Iron Agar* (KIA)

- Peptone from Casein 15,0 gram
- Peptone from meat 5,0 gram
- Meat extract 3,0 gram
- Yeast extract 3,0 gram
- Sodium choride 5,0 gram
- Laktosa 10,0 gram
- Glukosa 1,0 gram
- Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram
- Sodium thiosulfate 0,5 gram
- Phenol red 0,024 gram
- Agar-agar 12,0 gram
- pH $7,4 \pm 0,2$

Cara pembuatan : Suspensikan 55 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan dituangkan dalam tabung.tabung diletakkan pada posisi miring sampai mengeras dan disimpan dikulkas.

5. Formulasi dan Pembuatan *Sulfida Indol Motility* (SIM)

- Peptone from casein 20,0 gram
- Peptone from meat 6,0 gram
- Ammonium iron (III) citrate 0,2 gram
- Sodium thiosulfate 0,2 gram

- Agar-agar 3,0 gram
- pH 7,3 ± 0,2

Cara pembuatan : Suspensikan 30 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan dituangkan dalam tabung. Tabung posisi tegak hingga media semipadat, disimpan dalam kulkas.

6. Formulasi dan Pembuatan Citrate Agar

- Ammonium hydrogen fosfat 1,0 gram
- Di-potassium hydrogen fosfat 1,0 gram
- Sodium chloride 5,0 gram
- Sodium citrate 2,0 gram
- Magnesium sulfate 0,2 gram
- Bromo thymol blue 0,08 gram
- Agar-agar 12,5 gram
- pH 7,0 ± 0,2

Cara pembuatan : Suspensikan 23 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan dituangkan dalam tabung. Tabung diletakkan posisi miring hingga media padat, kemudian diisimpan dalam kulkas.

7. Formulasi dan Pembuatan *Lysine Iron Agar* (LIA)

- peptone from meat 5,0 gram
- Yeast extract 3,0 gram
- D(+)- Glucosa 1,0 gram
- L-Lysine monohydrochloride 10,0 gram
- Sodium thiosulfate 0,04 gram
- Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram
- Bromocresol purple 0,02 gram
- Agar-agar 12,5 gram

Cara pembuatan : Suspensikan 32 gram bahan di atas dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian media diukur pH 7,4 dan dituangkan dalam tabung. Tabung diletakkan posisi miring hingga media padat kemudian disimpan didalam kulkas

Lampiran 17. Uji statistika

Perhitungan statistik yang digunakan adalah anova oneway untuk membandingkan kontrol positif (Kotrimoksazol), kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare setiap konsentrasi pada metode difusi.

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameterhambat	42	12.1905	6.12567	.00	29.00

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameterhambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	12.1905
	Std. Deviation	6.12567
Most Extreme Differences	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		1.202
Asymp. Sig. (2-tailed)		.111

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

diameterhambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak 50%	3	13.3333	1.52753	.88192	9.5388	17.1279	12.00	15.00
ekstrak 25%	3	12.3333	.57735	.33333	10.8991	13.7676	12.00	13.00
ekstrak 12,5%	3	10.3333	.57735	.33333	8.8991	11.7676	10.00	11.00
fraksi n-heksana 50%	3	9.3333	.57735	.33333	7.8991	10.7676	9.00	10.00
fraksi n-heksana 25%	3	7.6667	1.15470	.66667	4.7982	10.5351	7.00	9.00
fraksi n-heksana 12,5%	3	7.3333	.57735	.33333	5.8991	8.7676	7.00	8.00
fraksi etil asetat 50%	3	13.6667	1.15470	.66667	10.7982	16.5351	13.00	15.00
fraksi etil asetat 25%	3	12.0000	1.73205	1.00000	7.6973	16.3027	10.00	13.00
fraksi etil asetat 12,5%	3	11.0000	1.00000	.57735	8.5159	13.4841	10.00	12.00
fraksi air 50%	3	17.6667	.57735	.33333	16.2324	19.1009	17.00	18.00
fraksi air 25%	3	16.0000	1.00000	.57735	13.5159	18.4841	15.00	17.00
fraksi air 12,5%	3	12.0000	1.00000	.57735	9.5159	14.4841	11.00	13.00
kotrimoksazol	3	28.0000	1.00000	.57735	25.5159	30.4841	27.00	29.00
DMSO 5%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	42	12.1905	6.12567	.94521	10.2816	14.0994	.00	29.00

Uji homogenitas dan hasil uji ANOVA dengan kontrol positif (Kotrimoksazol), kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol buah pare setiap konsentrasi pada metode difusi.

Test of Homogeneity of Variances

diameterhambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.755	13	28	.103

ANOVA

diameterhambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1511.143	13	116.242	119.077	.000
Within Groups	27.333	28	.976		
Total	1538.476	41			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	ekstrak 25%	1.00000	.80672	.990	-1.9529	3.9529
	ekstrak 12,5%	3.00000*	.80672	.044	.0471	5.9529
	fraksi n-heksana 50%	4.00000*	.80672	.002	1.0471	6.9529
	fraksi n-heksana 25%	5.66667*	.80672	.000	2.7138	8.6196
	fraksi n-heksana 12,5%	6.00000*	.80672	.000	3.0471	8.9529
	fraksi etil asetat 50%	-.33333	.80672	1.000	-3.2862	2.6196
	fraksi etil asetat 25%	1.33333	.80672	.916	-1.6196	4.2862
	fraksi etil asetat 12,5%	2.33333	.80672	.239	-.6196	5.2862
	fraksi air 50%	-4.33333*	.80672	.001	-7.2862	-1.3804
	fraksi air 25%	-2.66667	.80672	.108	-5.6196	.2862
	fraksi air 12,5%	1.33333	.80672	.916	-1.6196	4.2862
	kotrimoksazol	-14.66667*	.80672	.000	-17.6196	-11.7138
	DMSO 5%	13.33333*	.80672	.000	10.3804	16.2862
ekstrak 25%	ekstrak 50%	-1.00000	.80672	.990	-3.9529	1.9529
	ekstrak 12,5%	2.00000	.80672	.455	-.9529	4.9529
	fraksi n-heksana 50%	3.00000*	.80672	.044	.0471	5.9529
	fraksi n-heksana 25%	4.66667*	.80672	.000	1.7138	7.6196
	fraksi n-heksana 12,5%	5.00000*	.80672	.000	2.0471	7.9529
	fraksi etil asetat 50%	-1.33333	.80672	.916	-4.2862	1.6196
	fraksi etil asetat 25%	.33333	.80672	1.000	-2.6196	3.2862
	fraksi etil asetat 12,5%	1.33333	.80672	.916	-1.6196	4.2862
	fraksi air 50%	-5.33333*	.80672	.000	-8.2862	-2.3804
	fraksi air 25%	-3.66667*	.80672	.006	-6.6196	-.7138
	fraksi air 12,5%	.33333	.80672	1.000	-2.6196	3.2862

	kotrimoksazol	-15.66667*	.80672	.000	-18.6196	-12.7138	
	DMSO 5%	12.33333*	.80672	.000	9.3804	15.2862	
ekstrak 12,5%	ekstrak 50%	-3.00000*	.80672	.044	-5.9529	-.0471	
	ekstrak 25%	-2.00000	.80672	.455	-4.9529	.9529	
	fraksi n-heksana 50%	1.00000	.80672	.990	-1.9529	3.9529	
	fraksi n-heksana 25%	2.66667	.80672	.108	-.2862	5.6196	
	fraksi n-heksana 12,5%	3.00000*	.80672	.044	.0471	5.9529	
	fraksi etil asetat 50%	-3.33333*	.80672	.016	-6.2862	-.3804	
	fraksi etil asetat 25%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862	
	fraksi etil asetat 12,5%	-.66667	.80672	1.000	-3.6196	2.2862	
	fraksi air 50%	-7.33333*	.80672	.000	-10.2862	-4.3804	
	fraksi air 25%	-5.66667*	.80672	.000	-8.6196	-2.7138	
	fraksi air 12,5%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862	
		kotrimoksazol	-17.66667*	.80672	.000	-20.6196	-14.7138
		DMSO 5%	10.33333*	.80672	.000	7.3804	13.2862
fraksi n-heksana 50%	ekstrak 50%	-4.00000*	.80672	.002	-6.9529	-1.0471	
	ekstrak 25%	-3.00000*	.80672	.044	-5.9529	-.0471	
	ekstrak 12,5%	-1.00000	.80672	.990	-3.9529	1.9529	
	fraksi n-heksana 25%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196	
	fraksi n-heksana 12,5%	2.00000	.80672	.455	-.9529	4.9529	
	fraksi etil asetat 50%	-4.33333*	.80672	.001	-7.2862	-1.3804	
	fraksi etil asetat 25%	-2.66667	.80672	.108	-5.6196	.2862	
	fraksi etil asetat 12,5%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862	
	fraksi air 50%	-8.33333*	.80672	.000	-11.2862	-5.3804	
	fraksi air 25%	-6.66667*	.80672	.000	-9.6196	-3.7138	
	fraksi air 12,5%	-2.66667	.80672	.108	-5.6196	.2862	
		kotrimoksazol	-18.66667*	.80672	.000	-21.6196	-15.7138
		DMSO 5%	9.33333*	.80672	.000	6.3804	12.2862
fraksi n-heksana 25%	ekstrak 50%	-5.66667*	.80672	.000	-8.6196	-2.7138	
	ekstrak 25%	-4.66667*	.80672	.000	-7.6196	-1.7138	
	ekstrak 12,5%	-2.66667	.80672	.108	-5.6196	.2862	
	fraksi n-heksana 50%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862	

	fraksi n-heksana 12,5%	.33333	.80672	1.000	-2.6196	3.2862
	fraksi etil asetat 50%	-6.00000*	.80672	.000	-8.9529	-3.0471
	fraksi etil asetat 25%	-4.33333*	.80672	.001	-7.2862	-1.3804
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.33333*	.80672	.016	-6.2862	-.3804
	fraksi air 50%	-10.00000*	.80672	.000	-12.9529	-7.0471
	fraksi air 25%	-8.33333*	.80672	.000	-11.2862	-5.3804
	fraksi air 12,5%	-4.33333*	.80672	.001	-7.2862	-1.3804
	kotrimoksazol	-20.33333*	.80672	.000	-23.2862	-17.3804
	DMSO 5%	7.66667*	.80672	.000	4.7138	10.6196
fraksi n-heksana 12,5%	ekstrak 50%	-6.00000*	.80672	.000	-8.9529	-3.0471
	ekstrak 25%	-5.00000*	.80672	.000	-7.9529	-2.0471
	ekstrak 12,5%	-3.00000*	.80672	.044	-5.9529	-.0471
	fraksi n-heksana 50%	-2.00000	.80672	.455	-4.9529	.9529
	fraksi n-heksana 25%	-.33333	.80672	1.000	-3.2862	2.6196
	fraksi etil asetat 50%	-6.33333*	.80672	.000	-9.2862	-3.3804
	fraksi etil asetat 25%	-4.66667*	.80672	.000	-7.6196	-1.7138
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.66667*	.80672	.006	-6.6196	-.7138
	fraksi air 50%	-10.33333*	.80672	.000	-13.2862	-7.3804
	fraksi air 25%	-8.66667*	.80672	.000	-11.6196	-5.7138
	fraksi air 12,5%	-4.66667*	.80672	.000	-7.6196	-1.7138
	kotrimoksazol	-20.66667*	.80672	.000	-23.6196	-17.7138
	DMSO 5%	7.33333*	.80672	.000	4.3804	10.2862
fraksi etil asetat 50%	ekstrak 50%	.33333	.80672	1.000	-2.6196	3.2862
	ekstrak 25%	1.33333	.80672	.916	-1.6196	4.2862
	ekstrak 12,5%	3.33333*	.80672	.016	.3804	6.2862
	fraksi n-heksana 50%	4.33333*	.80672	.001	1.3804	7.2862
	fraksi n-heksana 25%	6.00000*	.80672	.000	3.0471	8.9529
	fraksi n-heksana 12,5%	6.33333*	.80672	.000	3.3804	9.2862
	fraksi etil asetat 25%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
	fraksi etil asetat 12,5%	2.66667	.80672	.108	-.2862	5.6196
	fraksi air 50%	-4.00000*	.80672	.002	-6.9529	-1.0471

	fraksi air 25%	-2.33333	.80672	.239	-5.2862	.6196
	fraksi air 12,5%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
	kotrimoksazol	-14.33333*	.80672	.000	-17.2862	-11.3804
	DMSO 5%	13.66667*	.80672	.000	10.7138	16.6196
fraksi etil asetat 25%	ekstrak 50%	-1.33333	.80672	.916	-4.2862	1.6196
	ekstrak 25%	-.33333	.80672	1.000	-3.2862	2.6196
	ekstrak 12,5%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
	fraksi n-heksana 50%	2.66667	.80672	.108	-.2862	5.6196
	fraksi n-heksana 25%	4.33333*	.80672	.001	1.3804	7.2862
	fraksi n-heksana 12,5%	4.66667*	.80672	.000	1.7138	7.6196
	fraksi etil asetat 50%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862
	fraksi etil asetat 12,5%	1.00000	.80672	.990	-1.9529	3.9529
	fraksi air 50%	-5.66667*	.80672	.000	-8.6196	-2.7138
	fraksi air 25%	-4.00000*	.80672	.002	-6.9529	-1.0471
	fraksi air 12,5%	.00000	.80672	1.000	-2.9529	2.9529
	kotrimoksazol	-16.00000*	.80672	.000	-18.9529	-13.0471
	DMSO 5%	12.00000*	.80672	.000	9.0471	14.9529
	fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak 50%	-2.33333	.80672	.239	-5.2862
ekstrak 25%		-1.33333	.80672	.916	-4.2862	1.6196
ekstrak 12,5%		.66667	.80672	1.000	-2.2862	3.6196
fraksi n-heksana 50%		1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
fraksi n-heksana 25%		3.33333*	.80672	.016	.3804	6.2862
fraksi n-heksana 12,5%		3.66667*	.80672	.006	.7138	6.6196
fraksi etil asetat 50%		-2.66667	.80672	.108	-5.6196	.2862
fraksi etil asetat 25%		-1.00000	.80672	.990	-3.9529	1.9529
fraksi air 50%		-6.66667*	.80672	.000	-9.6196	-3.7138
fraksi air 25%		-5.00000*	.80672	.000	-7.9529	-2.0471
fraksi air 12,5%		-1.00000	.80672	.990	-3.9529	1.9529
kotrimoksazol		-17.00000*	.80672	.000	-19.9529	-14.0471
DMSO 5%		11.00000*	.80672	.000	8.0471	13.9529
fraksi air 50%		ekstrak 50%	4.33333*	.80672	.001	1.3804
	ekstrak 25%	5.33333*	.80672	.000	2.3804	8.2862
	ekstrak 12,5%	7.33333*	.80672	.000	4.3804	10.2862

	fraksi n-heksana 50%	8.33333*	.80672	.000	5.3804	11.2862
	fraksi n-heksana 25%	10.00000*	.80672	.000	7.0471	12.9529
	fraksi n-heksana 12,5%	10.33333*	.80672	.000	7.3804	13.2862
	fraksi etil asetat 50%	4.00000*	.80672	.002	1.0471	6.9529
	fraksi etil asetat 25%	5.66667*	.80672	.000	2.7138	8.6196
	fraksi etil asetat 12,5%	6.66667*	.80672	.000	3.7138	9.6196
	fraksi air 25%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
	fraksi air 12,5%	5.66667*	.80672	.000	2.7138	8.6196
	kotrimoksazol	-10.33333*	.80672	.000	-13.2862	-7.3804
	DMSO 5%	17.66667*	.80672	.000	14.7138	20.6196
fraksi air 25%	ekstrak 50%	2.66667	.80672	.108	-.2862	5.6196
	ekstrak 25%	3.66667*	.80672	.006	.7138	6.6196
	ekstrak 12,5%	5.66667*	.80672	.000	2.7138	8.6196
	fraksi n-heksana 50%	6.66667*	.80672	.000	3.7138	9.6196
	fraksi n-heksana 25%	8.33333*	.80672	.000	5.3804	11.2862
	fraksi n-heksana 12,5%	8.66667*	.80672	.000	5.7138	11.6196
	fraksi etil asetat 50%	2.33333	.80672	.239	-.6196	5.2862
	fraksi etil asetat 25%	4.00000*	.80672	.002	1.0471	6.9529
	fraksi etil asetat 12,5%	5.00000*	.80672	.000	2.0471	7.9529
	fraksi air 50%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862
	fraksi air 12,5%	4.00000*	.80672	.002	1.0471	6.9529
	kotrimoksazol	-12.00000*	.80672	.000	-14.9529	-9.0471
	DMSO 5%	16.00000*	.80672	.000	13.0471	18.9529
fraksi air 12,5%	ekstrak 50%	-1.33333	.80672	.916	-4.2862	1.6196
	ekstrak 25%	-.33333	.80672	1.000	-3.2862	2.6196
	ekstrak 12,5%	1.66667	.80672	.716	-1.2862	4.6196
	fraksi n-heksana 50%	2.66667	.80672	.108	-.2862	5.6196
	fraksi n-heksana 25%	4.33333*	.80672	.001	1.3804	7.2862
	fraksi n-heksana 12,5%	4.66667*	.80672	.000	1.7138	7.6196

	fraksi etil asetat 50%	-1.66667	.80672	.716	-4.6196	1.2862
	fraksi etil asetat 25%	.00000	.80672	1.000	-2.9529	2.9529
	fraksi etil asetat 12,5%	1.00000	.80672	.990	-1.9529	3.9529
	fraksi air 50%	-5.66667*	.80672	.000	-8.6196	-2.7138
	fraksi air 25%	-4.00000*	.80672	.002	-6.9529	-1.0471
	kotrimoksazol	-16.00000*	.80672	.000	-18.9529	-13.0471
	DMSO 5%	12.00000*	.80672	.000	9.0471	14.9529
kotrimoksazol	ekstrak 50%	14.66667*	.80672	.000	11.7138	17.6196
	ekstrak 25%	15.66667*	.80672	.000	12.7138	18.6196
	ekstrak 12,5%	17.66667*	.80672	.000	14.7138	20.6196
	fraksi n-heksana 50%	18.66667*	.80672	.000	15.7138	21.6196
	fraksi n-heksana 25%	20.33333*	.80672	.000	17.3804	23.2862
	fraksi n-heksana 12,5%	20.66667*	.80672	.000	17.7138	23.6196
	fraksi etil asetat 50%	14.33333*	.80672	.000	11.3804	17.2862
	fraksi etil asetat 25%	16.00000*	.80672	.000	13.0471	18.9529
	fraksi etil asetat 12,5%	17.00000*	.80672	.000	14.0471	19.9529
	fraksi air 50%	10.33333*	.80672	.000	7.3804	13.2862
	fraksi air 25%	12.00000*	.80672	.000	9.0471	14.9529
	fraksi air 12,5%	16.00000*	.80672	.000	13.0471	18.9529
	DMSO 5%	28.00000*	.80672	.000	25.0471	30.9529
DMSO 5%	ekstrak 50%	-13.33333*	.80672	.000	-16.2862	-10.3804
	ekstrak 25%	-12.33333*	.80672	.000	-15.2862	-9.3804
	ekstrak 12,5%	-10.33333*	.80672	.000	-13.2862	-7.3804
	fraksi n-heksana 50%	-9.33333*	.80672	.000	-12.2862	-6.3804
	fraksi n-heksana 25%	-7.66667*	.80672	.000	-10.6196	-4.7138
	fraksi n-heksana 12,5%	-7.33333*	.80672	.000	-10.2862	-4.3804
	fraksi etil asetat 50%	-13.66667*	.80672	.000	-16.6196	-10.7138
	fraksi etil asetat 25%	-12.00000*	.80672	.000	-14.9529	-9.0471
	fraksi etil asetat 12,5%	-11.00000*	.80672	.000	-13.9529	-8.0471
	fraksi air 50%	-17.66667*	.80672	.000	-20.6196	-14.7138

fraksi air 25%	-16.0000*	.80672	.000	-18.9529	-13.0471
fraksi air 12,5%	-12.0000*	.80672	.000	-14.9529	-9.0471
kotrimoksazol	-28.0000*	.80672	.000	-30.9529	-25.0471

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

Homogeneous Subsets

diameterhambat

Tukey HSD^a

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
DMSO 5%	3	.0000								
fraksi n-heksana 12,5%	3		7.3333							
fraksi n-heksana 25%	3		7.6667	7.6667						
fraksi n-heksana 50%	3		9.3333	9.3333	9.3333					
ekstrak 12,5%	3			10.3333	10.3333	10.3333				
fraksi etil asetat 12,5%	3				11.0000	11.0000	11.0000			
fraksi etil asetat 25%	3				12.0000	12.0000	12.0000			
fraksi air 12,5%	3				12.0000	12.0000	12.0000			
ekstrak 25%	3					12.3333	12.3333			
ekstrak 50%	3						13.3333	13.3333		
fraksi etil asetat 50%	3						13.6667	13.6667		
fraksi air 25%	3							16.0000	16.0000	
fraksi air 50%	3								17.6667	
kotrimoksazol	3									28.0000
Sig.		1.000	.455	.108	.108	.455	.108	.108	.716	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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