

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum* Alst.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



Oleh:

**Clarista Apriani Ujan
20144163A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum* Alst.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Clarista Apriani Ujan
20144163A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum* Aist.) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Oleh :
Clarista Apriani Ujan
20144163 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 14 Agustus 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing,

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Kartinah WS, Dra., SU

Penguji

1. Mamik Ponco Rahayu, S. Si, M. Si, Apt
2. Dra. Nony Puspawati, M. Sc
3. Drs. Mardiyono, M. Si
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

*"Percayalah, di keadaan yang mustahil sekalipun,
Tuhan Yesus selalu besertamu dan mujizat-Nya pasti
terjadi bagiMu"*

*Tuhan adalah kekuatanku dan perisaiku; kepada-Nya
hatiku percaya. Aku tertolong sebab itu beria-ria hatiku,
dan dengan nyanyianku aku bersyukur kepada-Nya
(Mazmur 28:7)*

*"Tetapi carilah dahulu Kerajaan Allah dan
kebenarannya, maka semuanya itu akan ditambahkan
kepadamu."
Matius 6:33*

Kupersembahkan kepada:

- Agamaku, Tuhanku, Yesus Kristus*
- Kedua orang tuaku dan Yuda yang selalu mendoakanku*
- Semua keluarga yang kusayangi dan teman-teman seperjuangan*
- Almamater, bangsa dan Negar*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacuan 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, 14 Agustus 2018



Clarista Apriani Ujan

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU AIR (*Syzygium aqueum* Alst.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana Farmasi dalam Ilmu Farmasi pada Universitas Setia Budi.

Penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari segala bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A., Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk dan bimbingannya kepada penulis.
4. Kartinah WS, Dra., SU, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat dan bimbingan kepada penulis.
5. Tim Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi

7. Bapak, Mama, dan Yuda serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Keluarga besar Wakanda Forever (Antoni, Jemmy, Mario, Melly, Ezra, Asalia, Nani, Jesika, Ayu, kak Anggi), penghuni kost putri Blue Ocean dan Seluruh teman-temanku angkatan 2014, makasih atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.
9. Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Demikian skripsi ini penulis susun, semoga bermanfaat bagi semuanya. Penulis menyadari dalam skripsi ini masih ada kekurangan, hal ini dikarenakan keterbatasan penulis. Saran dan kritik yang bersifat membangun penulis harapkan demi kebaikan skripsi ini.

Surakarta, 14 agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN.....	ii
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 Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Jambu Air	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Nama daerah	4
3. Morfologi tumbuhan	5
4. Kandungan Kimia.....	6
4.1. Flavonoid.....	6
4.2. Fenolik.....	7
4.3. Tanin.....	7
B. Simplisia.....	7
1. Pengertian Simplisia.....	7
2. Pengeringan simplisia	7
C. Penyarian	8
1. Ekstraksi.....	8
2. Ekstrak.....	8

3.	Maserasi.....	9
4.	Fraksinasi	9
5.	Cairan penyari untuk ekstraksi.....	9
5.1.	Etanol.....	10
5.2.	<i>n</i> -heksana.	11
5.3.	Etil asetat.	11
5.4.	Air.....	11
D.	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.	Defenisi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.	Morfologi bakteri.....	12
3.	Patogenesis dan patologi	13
E.	Antibakteri.....	13
1.	Menghambat metabolisme dinding sel bakteri.	13
2.	Menghambat sintesis dinding sel.....	14
3.	Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri	14
4.	Menghambat sintesis protein sel bakteri.....	14
5.	Menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) sel bakteri..	14
F.	Kotrimoksazol	15
G.	Uji Aktivitas Antibakteri	15
1.	Metode difusi	15
2.	Metode dilusi	16
H.	Kromatografi Lapis Tipis	16
I.	Landasan Teori	17
J.	Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		20
A.	Populasi dan Sampel.....	20
B.	Variabel Penelitian	20
1.	Identifikasi variabel utama	20
2.	Klasifikasi variabel utama	20
3.	Definisi operasional variabel utama	21
C.	Bahan dan Alat	22
1.	Bahan	22
1.1.	Bahan sampel.....	22
1.2.	Bahan kimia.....	22
1.3.	Bakteri uji.	22
1.4.	Medium.....	22
2.	Alat.....	22
D.	Jalannya Penelitian	22
1.	Identifikasi tumbuhan	22
2.	Penyiapan dan pengeringan bahan	23
3.	Pembuatan serbuk daun jambu air.....	23
4.	Penetapan kadar lembab	23
5.	Pembuatan ekstrak daun jambu air secara maserasi	23
6.	Uji bebas etanol	24

7.	Pengujian kandungan kimia ekstrak daun jambu air.....	24
7.1.	Identifikasi flavonoid.....	25
7.2.	Identifikasi fenolik.....	25
7.3.	Identifikasi tanin.....	25
8.	Fraksinasi	25
9.	Pembuatan suspensi bakteri uji.....	26
10.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	26
10.1.	Identifikasi bakteri dengan cawan gores.	26
10.2.	Pewarnaan.....	27
10.3.	Identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	27
11.	Pengujian antibakteri daun jambu air secara difusi	27
12.	Pengujian antibakteri daun jambu air secara dilusi.	28
13.	Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT	31
13.1.	Identifikasi Flavonoid.....	31
13.2.	Identifikasi Fenol.....	31
14.	Analisis Data.....	31

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 32

A.	Hasil Penelitian.....	32
1.	Hasil identifikasi tanaman jambu air (<i>Syzygium aqueum</i> Alst.)	32
1.1.	Determinasi Tanaman.....	32
1.2.	Deskripsi Tanaman.....	32
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu air.	33
3.	Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun jambu air	33
4.	Hasil pembuatan ekstrak daun jambu air	34
5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air	34
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air ...	34
7.	Hasil fraksinasi ekstrak daun jambu air	36
7.1.	Fraksi n-heksan.....	36
7.2.	Fraksi etil asetat.....	36
7.3.	Fraksi air.....	37
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji.....	37
9.	Hasil identifikasi bakteri uji	38
9.1.	Identifikasi bakteri secara goresan.	38
9.2.	Pewarnaan.....	38
9.3.	Identifikasi bakteri uji secara biokimia.	38
10.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi daun jambu air secara difusi.....	39
11.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi teraktif daun jambu air secara dilusi.	40
12.	Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT	42

12.1. Identifikasi senyawa flavonoid secara KLT.....	42
12.2. Identifikasi senyawa fenolik secara KLT.....	44
13. Hasil Analisis Data.....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
A. Kesimpulan.....	47
B. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu air	24
Gambar 2. Skema diagram kerja pembuatan fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun jambu air.	26
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode difusi.	28
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun jambu air terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2592	30
Gambar 5. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat daun jambu air pada fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil kloroform:metanol (2:3)	43
Gambar 6. Hasil identifikasi fenolik fraksi etil asetat daun jambu air pada fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat:metanol (1:1)	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air	33
Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab daun jambu air	33
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun jambu air	34
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air.....	34
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air	35
Tabel 6. Rendemen hasil fraksi n-heksan	36
Tabel 7. Rendemen hasil fraksi etil asetat.....	37
Tabel 8. Rendemen hasil fraksi air.....	37
Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan koagulase.....	39
Tabel 10. Diameter hambatan uji aktivitas antibakteri fraksi daun jambu air secara difusi.....	40
Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jambu air terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi.	41
Tabel 12. Hasil identifikasi senyawa secara KLT	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>)	55
Lampiran 2. Foto Tanaman jambu air (<i>syzygium aqueum</i>).....	56
Lampiran 3. Foto botol maserasi, ekstrak dan fraksi daun jambu air	58
Lampiran 4. Alat penelitian	59
Lampiran 5. Foto uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air.....	60
Lampiran 6. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	61
Lampiran 7. Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol daun jambu air terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	62
Lampiran 8. Hasil inkubasi fraksi teraktif etil asetat daun jambu air terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi	64
Lampiran 9. Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu air terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada media VJA	64
Lampiran 10. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah.....	66
Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air (<i>syzygium aqueum</i>).....	67
Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak maserasi daun jambu air.....	68
Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan air daun jambu air.....	69
Lampiran 14. Perhitungan konsentrasi fraksi n-heksan, etil asetat dan air secara difusi.....	70
Lampiran 15. Pembuatan konsentrasi fraksi teraktif secara dilusi.....	72
Lampiran 16. Hasil Analisa Data.....	75
Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media.....	84

INTISARI

CLARISTA AU., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JAMBU AIR (*Syzygium aqueum* Alst.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Jambu air (*Syzygium aqueum*) dari famili Myrtaceae adalah tanaman asli Malaysia dan Indonesia. Kandungan kimia daun jambu air adalah flavonoid, tanin dan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) serta menentukan nilai Konsentrasi Hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Penyarian Daun jambu air dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi fraksi yang digunakan untuk metode difusi adalah 50%; 25%; 12,5. Konsentrasi fraksi yang digunakan untuk metode dilusi adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

Hasil penelitian dari ekstrak etanolik daun jambu air menunjukkan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi bunuh minimum 6,25%.

Kata kunci : Daun jambu air, metode dilusi, metode difusi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ABSTRACT

CLARISTA AU., 2018, ANTIBACTERIAL ACTIVITY FRACTION TEST *n*-HEXANE, ETIL ACETATE AND WATER FROM ETHANOL EXTRACT 70% WATER APPLE LEAVES (*Syzygium aqueum* Alst.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACEUTICALS, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Water apple (*Syzygium aqueum* Alst.) from the Myrtaceae family is native to Malaysia and Indonesia. Chemical content of water cashew leaf is flavonoid, tannin and phenolic. The aim of this research is to know the antibacterial activity of ethanol extract, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water from water leaf (*Syzygium aqueum* Alst.) and to determine the minimum concentration of concentration (KHM) and Minimum Slew Concentration (KBM) from active fraction to bacterium *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Water apple leaves using maseration method using 70% ethanol solvent, continue fractionation with *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvent. Test antibacterial activity of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and air fraction on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 using diffusion and dilution methods. The fraction concentration used for the diffusion method is 50%; 25%; 12.5. The fraction concentration used for the diffusion method is 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%; 0.09%.

The results of ethanolic extract of water apple leaves extract showed fraction of *n*-hexane fraction of ethyl acetate and water fraction have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ethyl acetate fraction has the most active antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with minimum killing concentration of 6.25%.

Keywords: Water apple leaves, diffusion method, dilution method, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Infeksi bisa terjadi karena masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Keadaan ini adalah suatu tipe parasitisme yang terjadi pada inangnya. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Jawetz *et al.* 2005). Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus (Pelczar *et al.* 1986). Transmisi *Staphylococcus aureus* terjadi melalui infeksi kulit atau kontak secara terus menerus pada permukaan (Khan *et al.* 2015). *Staphylococcus aureus* ini merupakan tipikal bakteri yang menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak dan infeksi invasif seperti bakteremia, sepsis, endocarditis, pneumonia, maupun osteomyelitis (Nair *et al.* 2013). Uwaezuoke dan Aririatu (2004), juga melaporkan bahwa 95.8% *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penicillin, 89.6% resisten terhadap ampicillin dan 87.5% resisten terhadap tetrasiklin.

Seiring dengan perkembangan zaman perhatian masyarakat telah kembali ke bahan alami yang dikenal dengan istilah “Back to Nature”. Masyarakat telah percaya bahwa bahan alami mampu mengobati segala jenis penyakit dan relatif aman bagi tubuh (Permatasari *et al.* 2015). Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai tanaman adalah jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.).

Jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) dari famili Myrtaceae adalah tanaman asli Malaysia dan Indonesia. Senyawa yang terkandung dalam daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) yang larut dalam etanol adalah flavonoid, fenolik dan tanin sebagai antimikroba (Nuria *et al.* 2009). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler

dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Bobbarala, 2012). Menurut Singh dan Bharate (2005), senyawa fenolik memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri adalah mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel (Maliana *et al.* 2013)

Penelitian yang telah dilakukan oleh Hariyati *et al.* (2015) menyatakan bahwa adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) berupa konsentrasi bunuh minimum (KBM). Pada konsentrasi 25% dapat membunuh bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Vibrio cholera*, konsentrasi 50% dapat membunuh bakteri *Bacillus cereus*, dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* dapat dibunuh pada konsentrasi 20%.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) sebagai antibakteri. Penelitian lanjutan ini secara fraksinasi sehingga akan diketahui fraksi yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus*.

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan dilusi. Tujuan dari metode difusi dilakukan untuk mengetahui diameter zona hambat terhadap bakteri uji sehingga didapatkan fraksi teraktif, setelah itu dilanjutkan dengan metode dilusi. Metode dilusi dilakukan pada fraksi teraktif saja untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

B. Perumusan Masalah

Pemasalahan yang dihadapi adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, fraksi manakah dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui dan membuktikan aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling efektif diantara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan agar dapat memberikan pengetahuan mengenai manfaat daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada akhirnya peranan daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) sebagai tanaman obat akan lebih berarti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jambu Air

1. Sistematika tanaman

Kedudukan tanaman jambu air (*Syzygium equaeum* Alst.) dalam sistematika tumbuhan menurut menurut Cahyono (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium aquaeum</i> Alst. (Burn F. Alston)

2. Nama daerah

Jambu air memiliki nama daerah di Indonesia yang sering disebut Jambi Iye, Jambi Pira, Jambi Raya (Aceh), Jambu Er, Njamu Er (Bali), Jambu Aek, Jambu Erang (Batak), Jambu Ayik (Besemah), Kepet, Lutune Waele, O'uno, Popte, Tepete (Ceram, Ambon, Moluccas), Kubal (Dayak, Kalimantan), Omuto, Upo (Gorontalo), Jambu Pingping (Jambi), Jambu Air, Jambu Wer, Jambu Uwer (Java), Jambu Air, Jambu Ayor, Jambu Kelinga, Jambu Wai (Lamongan), Jambhu Wir (Madura), Jambu Jene (Makassar), Gora (Manado), Jambu Aye (Minangkabau), Jambu Waelo, Kuputol Waelo, Purori (Papua), Kebes, Kembes, Kouoa, Kombas, Kumpas, Kumpasa, Mangkoa (Sulawesi, Moluccas). Inggris : Bell Apple, Bell Fruit, Water Apple, Water Cherry, Watery Rose Apple; Brazil : Jambeiro Aguado, Jambo Branco, Jambo D'agua (Portuguese); Chinese : Shui Lian Wu; Dominican Republic: Cajulito Solimán (Spanish); Dutch : Djamboe Aer; *French* : Jambosier D'eau, Jambolanier D'eau, Pomme D'eau, Pomme De Java; German : Wachsjambuse, Wasserjambuse (Anggrawati & Ramadhania 2015).

3. Morfologi tumbuhan

Menurut Cahyono (2010), tanaman jambu air sangat muda dikenali. Tanaman jambu air tergolong tanaman tahunan yaitu hidup menahun. Umur tanaman mencapai puluhan tahun dan pohonnya dapat tumbuh besar dan tinggi. Tanaman jambu air berbuah sepanjang tahun.

Akar dari tanaman jambu air merupakan akar tunggang yang menembus ke dalam tanah menuju pusat bumi dan akar serabut tumbuh menyebar ke segala arah secara horizontal menembus lapisan tanah dalam hingga kedalaman 2 – 4 meter dari permukaan tanah (Cahyono 2010).

Batang atau pohon tanaman jambu air merupakan batang sejati. Pohon tanaman jambu air berkayu yang sangat keras dan memiliki cabang-cabang atau ranting. Cabang-cabang atau ranting tumbuh melingkari batang atau pohon dan pada umumnya ranting tumbuh menyudut. Batang tanaman berukuran besar dan lingkarnya dapat mencapai 150 cm atau lebih. Kulit batang tanaman jambu air menempel kuat pada kayunya dan kulit tanaman jambu air ini berwarna coklat sampai coklat kemerah-merahan. Kulit batang tanaman dan ranting cukup tebal (Cahyono 2010).

Daun jambu air berbentuk bundar memanjang dengan bagian ujung meruncing (semakin ke ujung semakin runcing). Daun memiliki ukuran besar setengah dari panjangnya. Daun berwarna hijau buram. Letak daun berhadapan - hadapan dengan tangkai daun amat pendek sehingga tampak seperti daun duduk. Daun jambu air memiliki tulang daun menyirip (Cahyono 2010).

Bunga jambu air tumbuh bergerombol yang tersusun dalam malai dan dihipit oleh daun pelindung. Oleh karena itu, bunga jambu air tampak berdempol-dempol. Bunga muncul pada ketiak dahan-dahan, ranting atau ketiak daun diujung ranting dan bunga bertipe duduk. Bunga kadang-kadang juga tumbuh diketiak daun yang telah gugur. Bunga berbentuk seperti cangkir. Dalam suatu dempol atau satu malai bisa berjumlah 10 – 18 kuntum bunga tergantung varietasnya. Bunga berukuran agak besar dan terdiri atas kelopak daun yang berjumlah 4 helai berwarna putih kehijauan atau putih kemerahan, dan benang sari

berjumlah amat banyak. Benang sari berbentuk seperti paku. Bunga jambu air ketika mekar menebar aroma wangi, tetapi akan cepat layu (Cahyono 2010).

Buah jambu air berdaging dan berair serta berasa manis. Bentuk buah jambu air dan warna kulit buah beragam. Bentuk buah ada yang bulat, bulat panjang mirip lonceng, bulat agak pendek, gemuk mirip genta, bulat pendek dan kecil mirip kancing, bulat segitiga agak panjang, dan bulat segitiga panjang. Warna kulit buah ada yang merah, hijau muda dengan polesan warna kemerahan, putih, hijau, hijau dan lain sebagainya. Kulit buah jambu air licin, dan mengkilap serta daging buahnya bertekstur agak padat dengan rasa masam sampai manis menyegarkan (Cahyono 2010).

4. Kandungan Kimia

Penelitian Thamilvaani *et. al* (2012) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) mengandung enam jenis flavonoid yaitu 4-hydroxybenzaldehyde, myricetin-3-O-rhamnoside, europetin-3-O-rhamnoside, phloretin, myrigalone-G dan myrigalone-B. Palanisamy *et. al* (2011) juga menyatakan bahwa daun jambu air mengandung senyawa fenolik.

Tanin juga ditemukan dalam daun spesies *Syzygium aqueum* (Okuda *et. al* 1982). Senyawa *hexahydroxyflavone*, *Myricetin*, vitamin C, senyawa 2',4'-dihidroksi-6-metoksi-3, 5-dimetilkalkon, senyawa 4-Hidroksibenzaldehid, myricetin-3-O-rhamnosid, europetin-3-O-rhamnosid, floretin, myrigalon-G dan myrigalon-B yang mempunyai aktivitas farmakologi sebagai anti oksidan, antikanker, antidiabetes dan antihiperlipidemik. Senyawa kimia yang paling banyak ditemukan pada daun *Syzygium aqueum* yaitu flavonoid, fenolik dan tanin sebagai antimikroba

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid juga memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga pada umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, air dan sebagainya. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstra seluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri, kemudian senyawa intraseluler keluar (Cowan 1999; Nuria *et al.* 2009; Bobbarala 2012).

4.2. Fenolik. Senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel (Singh dan Bharate 2005). Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi sel bakteri menjadi terganggu. Akibatnya makromolekul dan ion lolos dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis (Susanti 2008).

4.3. Tanin. Tanin adalah senyawa polifenol yang dapat larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkoholik dan propilena glikol, tetapi tidak larut dalam benzena, kloroform, eter, petroleum eter dan karbon disulfida. Senyawa ini merupakan antibakteri yang mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktifitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan karena pengerutan dinding sel bakteri sehingga bakteri mati (Maliana *et al.* 2013).

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia berasal dari kata simple, yang berarti satu atau sederhana. Oleh karena itu istilah simplisia dipakai untuk menyebutkan bahan obat yang masih alami dan belum mengalami perubahan bentuk atau umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi berdasarkan 3 golongan, yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan/mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh. Simplisia hewani adalah bagian hewan yang masih utuh, belum diolah atau diolah dengan sederhana. Simplisia mineral sama dengan hewani dan nabati belum mengalami pengolahan dan masih berbentuk bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004). Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun.

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, dan memudahkan

dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Hal-hal yang perlu diperhatikan pada saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pengeringan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena lebih murah dan mudah (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi berasal dari kata “extrahere”, “to draw out”, yaitu suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal (Depkes 1986). Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut lain (Depkes 2000). Cairan penyari yang dapat digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol dan air. Penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan ikut terlarut. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat (Tiwari *et al.* 2011).

Tujuan utama ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat dari simplisia asal supaya lebih mudah digunakan dan disimpan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni 2007).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, atau cair, dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, soxletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Cairan penyari yang dapat digunakan berupa air, eter atau campuran etanol dalam air (Anief 2003).

Cairan penyari harus stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 2000).

3. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan untuk skala kecil maupun skala industri. 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 keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014). Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes 2007).

4. Fraksinasi

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

Senyawa yang bersifat polar seperti glikosida jantung, glikosida flavonoid, glikosida saponin, dan tanin, sedangkan senyawa yang bersifat nonpolar seperti *n*-butanol, metanol, etanol, asam asetat, isopropanol, *n*-propanol, asam format dan air. Senyawa-senyawa yang bersifat semi polar seperti alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, asam fenolat. Pelarut semi polar yaitu etil asetat dan aseton, sedangkan yang termaksud pelarut nonpolar yaitu *n*-heksan, kloroform, karbon tetraklorida dan dietil eter. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, yang awalnya disari dengan pelarut nonpolar, kemudian semi polar dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harbone 2006).

5. Cairan penyari untuk ekstraksi

Pemilihan pelarut yang tepat meningkatkan efisiensi ekstraksi dari simplisia. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah

selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut (Akbar 2010).

Penyarian ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum*) 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 daun jambu air mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dengan dilakukan fraksinasi akan diketahui fraksi yang paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

5.1. Etanol. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al.* 2014).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel, memperbaiki stabilitas bahan obat. Keuntungan lainnya adalah sifat untuk mengendapkan bahan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol biasanya juga menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor dari suatu bahan aktif hanya sedikit yang larut dalam cairan pengestraksi (Voigt 1994). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, dimana kapang dan kuman sulit tumbuh pada etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air dan pemekatannya lebih mudah (Depkes RI 1986).

Pelarut etanol semakin tinggi konsentrasinya maka akan semakin rendah tingkat kepolaran pelarut. Pada akhirnya dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstrak kandungan minyak atsiri dan alkaloid yang bersifat kurang polar (Phaza 2010).

Pada penelitian ini menggunakan etanol 70% karena sangat efektif menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Bahan pengganggu dalam etanol 70% hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengestraksi (Indraswari 2008). Etanol 70% juga mudah ditemukan dan harganya lebih ekonomis dibandingkan dengan etanol 90%.

5.2. *n*-heksana. Pelarut *n*-heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, mudah menguap, berbau. Praktis tidak larut dalam air, larut dalam metanol mutlak, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzene dan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. Senyawa yang dapat larut dalam *n*-heksan adalah senyawa nonpolar seperti steroid, terpenoid, triterpenoid, lemak dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011). Pelarut *n*-heksan dipilih dalam penelitian ini karena nilai dielektrik yang lebih kecil dibandingkan dengan pelarut nonpolar lainnya seperti toluene, benzen dan siklo heksana yaitu sebesar 2.0. Pelarut bersifat semakin nonpolar apabila nilai tetapan dielektrik semakin kecil (Khopar 2003).

5.3. Etil asetat. Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis dan memiliki toksisitas rendah (Wardani dan Sulistyani 2012).

Etil aseta bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menyari senyawa-senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol (Putri *et al.* 2013).

5.4. Air. Air merupakan pelarut yang universal, untuk mengekstrak produk tanaman dengan aktivitas antimikroba. Pada pemakaiannya, air biasanya sebagai pelarut untuk mengekstraksi. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena sifat air yang stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air dapat melarutkan zat aktif seperti tanin, saponin dan terpenoid (Tiwari *et al.* 2011). Pada penelitian ini menggunakan pelarut air karena air dapat melarutkan garam alkaloid, tanin, gom, pati, protein, enzim, lemak, zat warna asam organik. Kekurangan air sebagai pelarut adalah zat aktif yang tersari juga zat lain yang tidak diperlukan (Depkes 2005).

D. *Staphylococcus aureus*

1. Defenisi bakteri *Staphylococcus aureus*

Sistematika dari bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Holt *et al.* 1994 adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Bakteri ini diberi nama *Staphylococcus* karena pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan karena pada biakan murni. Koloni bakteri terlihat berwarna kuning-keemasan (Lowy 2003). *Staphylococcus aureus* merupakan Gram positif dan jika diamati dibawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal, berpasangan atau berkelompok seperti buah anggur (Radji 2011).

2. Morfologi bakteri

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang menyerupai bola dengan diameter $\pm 1\mu\text{m}$ tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur tetapi dapat tersusun empat-empat membentuk rantai (3-4 sel) dan berpasangan. *Staphylococcus aureus* bersifat non motil, non spora, anaerob fakultatif, mempunyai enzim katalase dan tidak mempunyai enzim oksidase. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5- 46°C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter 4 mm. koloni pada perbenihan berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Pigmen *Staphylococcus aureus* adalah pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk yang membedakan dari *Staphylococcus epidermis* yang menghasilkan pigmen putih (Dewi 2003).

Staphylococcus aureus menghasilkan katalase untuk memfermentasikan karbohidrat yang dapat menghasilkan asam laktat tetapi tidak terdapat gas (Jawetz *et al.* 2012).

3. Patogenesis dan patologi

Staphylococcus aureus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga ditemukan di udara dan di lingkungan sekitar. Bakteri ini bersifat invasive, menyebabkan hemolysis, membentuk koagulasi dan mampu meragikan manitol (Jawetz *et al.* 2012).

Infeksi pada manusia yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain infeksi pada kulit seperti jerawat dan bisul. Infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, meningitis, flebitis, mastitis dan infeksi pada saluran urine. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit (Radji 2010).

Penyebaran penyakit oleh *Staphylococcus aureus* pada manusia melalui invasi jaringan dan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi ini dimulai dari tempat koloni pathogen melalui tangan. Penyakit infeksi oleh *Staphylococcus aureus* pada kulit akan membentuk abses dan menyebar secara hematogen. Enzim proteolitik pada *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan pneumonia, infeksi tulang dan sendi maupun endokarditis (Soekiman 2015).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia (Agustrina 2011). Ada beberapa istilah yang digunakan dalam proses pembunuhan bakteri diantaranya bakterisid, bakteristatik, germisid, antiseptik dan desinfektan (Dinasari 2009).

Mekanisme kerja antibakteri dibagi menjadi lima kelompok:

1. Menghambat metabolisme dinding sel bakteri.

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat

(PABA) untuk kelangsungan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi. Hal ini yang menyebabkan bakteri mati (Gunawan *et al.* 2009). Contoh antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamide dan trimetropin (Bakung 2014).

2. Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan *et al.* 2009). Antibiotik yang bekerja menghambat sintesis dinding sel antara lain penisilin, sefalosporin, vankomisin, basitrasin (Radji 2002).

3. Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri

Membran berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya sebagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan *et al.* 2009). Contoh antibakterinya berupa polimiksin, nistatin, golongan makrolida dan poliena (Radji 2002).

4. Menghambat sintesis protein sel bakteri.

Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Antibakteri yang termaksud dalam golongan ini antara lain aktinomisin, rimfapisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji 2010)

5. Menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) sel bakteri.

Antimikroba yang termaksud dalam kelompok ini adalah rimfapisin yang berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Pratiwi 2008). Antibakteri lainnya berupa asam nalidiksat dan golongan kuinolon (Radji 2002).

F. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol digunakan dalam bentuk kombinasi karena sifatnya sinergistik. Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Spektrum antibakteri trimetoprim sama dengan sulfametoksazol. Mikroba yang peka terhadap kombinasi trimetoprim-sulfametoksazol salah satunya adalah *Staphylococcus aureus*. Mekanisme antibakterinya berdasar atas kerjanya pada tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam 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 dan beberapa asam amino. Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara sangat selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walaupun mikroba telah resisten terhadap trimetoprim. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap kedua komponen (Gunawan *et al.* 2009). Keuntungan penting lain dari kombinasi ini adalah timbulnya resistensi lebih lambat daripada komponen-komponennya sendiri. Hal ini adalah jelas, karena bakteri yang menjadi resistensi untuk satu komponen masih dapat dimusnahkan oleh yang lain (Tjay & Rahardja 2002).

G. Uji Aktivitas Antibakteri

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

1. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan. Metode ini berguna untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambat yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Ada tiga cara yang dilakukan dalam

metode ini yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas/*disc diffusion*. Metode sumuran yaitu membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi mikroba. Lubang sumuran ini kemudian diinjeksi dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah itu diinkubasi, lalu pertumbuhan mikroba diamati dan dilihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Agustini & Kusmayati 2007). Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram diukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz 2001).

2. Metode dilusi

Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan medium cair atau padat. Tahap akhir antibakteri larut dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Media inokulasi bakteri uji diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah dapat mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh minimum). Bahan uji ada dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode dilusi adalah memerlukan waktu yang relatif lama, tidak praktis dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus jernih. Apabila sampel yang digunakan keruh maka akan mempersulit pengamatan (Jawetz *et al.* 1986). Prinsip dari metode dilusi adalah penghambatan pertumbuhan mikroba dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam pembenihan. Pembenihan ini juga harus dapat menumbuhkan mikroba secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang & Koeswardono 1982).

H. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode untuk pemisahan kandungan dalam suatu zat. KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik.

Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop & Elke 2007).

Prosedur uji dengan KLT dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode yang diharapkan dapat digunakan untuk penentuan kadar senyawa karena relatif sederhana, tidak mahal. Kelebihan KLT adalah keserabagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Karena berfungsi sebagai penegasan, maka uji KLT hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia seperti alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, tanin, dan lain-lain (Marliana *et al.* 2005; Hilmi *et al.* 2013).

I. Landasan Teori

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang. Penyebab penyakit infeksi berupa bakteri, jamur dan virus (Jawetz *et al.* 2007). Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya atau dibunuh dengan proses fisik atau bahan kimia (Hastaria 2012). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap obat (Green 2005).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dan jika diamati dibawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan atau berkelompok seperti buah anggur (Radji 2011). Bakteri ini mudah tumbuh dalam berbagai media, menfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan pigmen berwarna putih hingga kuning tua. *Staphylococcus aureus* juga merupakan bagian dari flora normal kulit dan mukosa. Apabila dalam keadaan inang yang lemah imunitasnya dapat menimbulkan infeksi oportunistik (Yuwono 2012). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai infeksi pada manusia antara lain pada kulit, seperti jerawat dan bisul; infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, meningitis, flebitis, mastitis dan infeksi pada saluran urin (Radji 2011).

Tanaman jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) merupakan tanaman yang mudah dicari dan dapat dibudidayakan. Diperkirakan zat-zat yang terkandung

dalam daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) yang larut dalam etanol adalah flavonoid, fenol, dan tanin. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan 1999; Nuria *et al.* 2009; Bobbarala 2012).

Senyawa fenol juga memiliki mekanisme kerja dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel (Singh dan Bharate 2005). Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis (Susanti 2008).

Tanin juga ditemukan dalam daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) (Okuda *et al.* 1982). Senyawa ini merupakan antibakteri yang mampu mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel dapat menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktifitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan karena pengerutan dinding sel bakteri sehingga bakteri mati (Maliana *et al.* 2013). Senyawa tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari 2011).

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. *n*-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011). Etil asetat merupakan senyawa semi polar dan dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol (Putri *et al.* 2013). Air melarutkan glikosida, flavonoid, tanin, dan gula (Depkes 1986).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Titi Hariyati *et al.* (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol dari daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Pada konsentrasi 25% menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Vibrio cholera*, konsentrasi 50% terhadap bakteri *Bacillus cereus*, dan konsentrasi 20% terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*.

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode dilusi dan difusi. Metode difusi dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sehingga didapatkan fraksi teraktif, dan setelah didapatkan fraksi teraktif dilanjutkan dengan metode difusi. Metode dilusi dilakukan pada fraksi teraktif saja untuk mengetahui diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

J. Hipotesis

Berdasarkan teori dan hasil penelitian terdahulu, maka dapat ditentukan hipotesis sebagai berikut :

Pertama, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat ditentukan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.). Tanaman ini diperoleh dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali.

Sampel yang digunakan untuk penelitian adalah daun jambu air yang diambil secara acak dari populasi, daunnya segar, berwarna hijau dan tidak berpenyakit.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jambu air menggunakan pelarut etanol 70% kemudian fraksinasi menggunakan *n*-heksan, etil asetat dan air.

Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun jambu air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah. Tujuannya adalah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun jambu air dengan berbagai konsentrasi.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung. Hal seperti ini perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan tepat.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus*, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril), serta media yang digunakan dalam penelitian.

Variabel tergantug adalah variabel titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu air adalah daun yang diambil dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali.

Kedua, serbuk daun jambu air (*Syzygium aqueum*) yaitu serbuk yang diperoleh dari daun jambu air yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir dimaksudkan agar kotoran yang menempel dapat hilang. Daun jambu air kemudian dikeringkan dengan oven suhu 50°C, selanjutnya diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40. Ayakan nomor 40 dipilih agar serbuk bisa tersaring dan ukuran partikelnya lebih kecil sehingga hasil yang diperoleh lebih maksimal.

Ketiga, ekstrak maserasi daun jambu adalah hasil ekstraksi serbuk daun jambu air yang dibuat dengan cara mengekstrak serbuk dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana daun jambu air adalah hasil fraksi ekstrak.

Kelima, fraksi etil asetat daun jambu air adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air daun jambu air adalah residu dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat daun jambu air dengan pelarut air.

Ketujuh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedelapan, metode difusi dengan menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Kontrol negatif adalah DMSO 5% dan kontrol positif adalah ciprofloksasin.

Kesembilan, metode dilusi dengan menentukan konsentrasi daya bunuh minimum (KBM) yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi sebagai berikut 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%,

0,09%. Kontrol negatif adalah fraksi teraktif dan kontrol positif adalah suspensi bakteri.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun jambu air segar yang diperoleh dari daerah daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali, Jawa Tengah.

1.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut *n*-heksana, etil asetat, Mc Farland 0,5, etanol 70%, aquadestilata, HCl 2N, NaCl fisiologis, Mg, FeCl₃, DMSO 5%, kalium telurit 3,5%, hidrogen peroksida, asam asetat pekat, asam sulfat pekat, asam klorid pekat, asam sitrat, cat kristal violet, larutan lugol iodin dan safranin, butanol, citro borat, amoniak, toluen, ferri sulfat 1%.

1.3. Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

1.4. Medium. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion* (BHI) dan *Vogel Johnson Agar* (VJA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA).

2. Alat

Alat yang digunakan antara lain : oven, blender untuk membuat serbuk, alat maserasi berupa botol mulut lebar warna coklat, gelas ukur, pembakar spirtus, kaki tiga, kertas saring, selang, corong penyaring, *rotary evaporator*, timbangan analitik, erlenmeyer, ayakan, kain flannel, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan petri, inkas, jarum ose, pinset, vial, spuit, labu alas bulat, rak tabung, kertas cakram, mikroskop, *moisture balance*, pipet ukur, corong pisah, autoklaf, inkubator.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tumbuhan

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah identifikasi tumbuhan jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) yang dilakukan di bagian Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Identifikasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri makroskopis dan mikroskopis, selain itu juga berfungsi untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.).

2. Penyiapan dan pengeringan bahan

Daun jambu air diperoleh dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali. Pengeringan daun jambu air dilakukan dengan cara dicuci bersih pada air mengalir agar terbebas dari kotoran dan debu, kemudian dikeringkan dalam oven 50°C.

3. Pembuatan serbuk daun jambu air

Daun jambu air yang telah dikeringkan kemudian diserbuk dengan blender. Ayaklah serbuk dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu air.

4. Penetapan kadar lembab

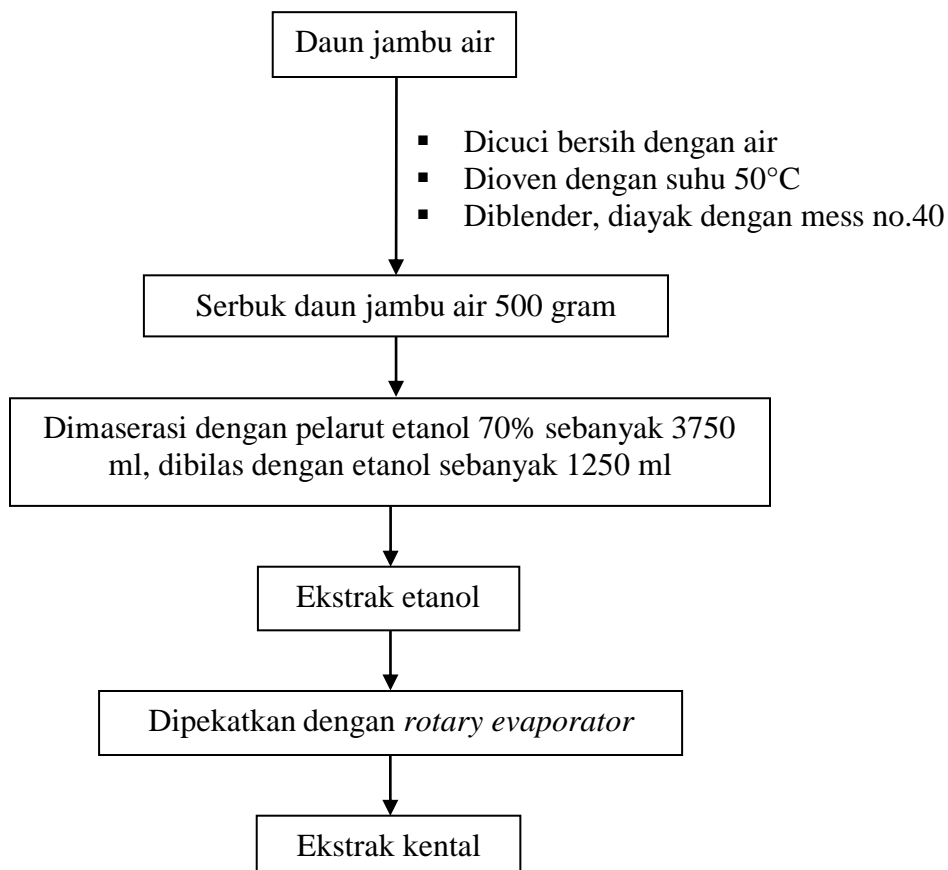
Penetapan kadar kelembaban serbuk daun jambu air pada penelitian ini dilakukan di laboratorium teknologi farmasi Universitas Setia Budi. Penetapan kadar kelembaban serbuk daun jambu air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk ditimbang 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance*. Kemudian *moisture balance* ditutup dan ditunggu sampai ada bunyi pada alat sebagai tanda. Angka yang muncul dalam satuan persen pada alat *moisture balance* dicatat sebagai kadar kelembaban.

5. Pembuatan ekstrak daun jambu air secara maserasi

Pembuatan ekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun jambu air sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol, ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 3750 ml. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog berulang-ulang. Maserat yang didapatkan selama 5 hari diperas dengan kain flanel dan disaring. Residu kemudian ditambahkan etanol 1250 ml dimasukkan ke dalam botol dengan sekali diaduk dan dibiarkan selama 2 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan

pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986).

Dapat dilihat pada skema gambar 1.



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu air

6. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi. Uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol jika tidak tercium bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri (Kurniawati 2015).

7. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun jambu air.

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak daun jambu air dan juga fraksi teraktif dari ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.).

7.1. Identifikasi flavonoid. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ gram dicampurkan dengan aquadestilata. Setelah itu, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat ditambahkan $0,5$ mg bubuk Mg dan ditambahkan 5 ml HCl pekat. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Puspasari *et al.* 2014).

7.2. Identifikasi fenolik. Sebanyak 2 mL sampel dilarutkan dalam aquades 10 mL, dipanaskan 5 menit dan disaring. Filtrat yang terbentuk ditambahkan ditambahkan $4-5$ tetes FeCl_3 . Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih 2016).

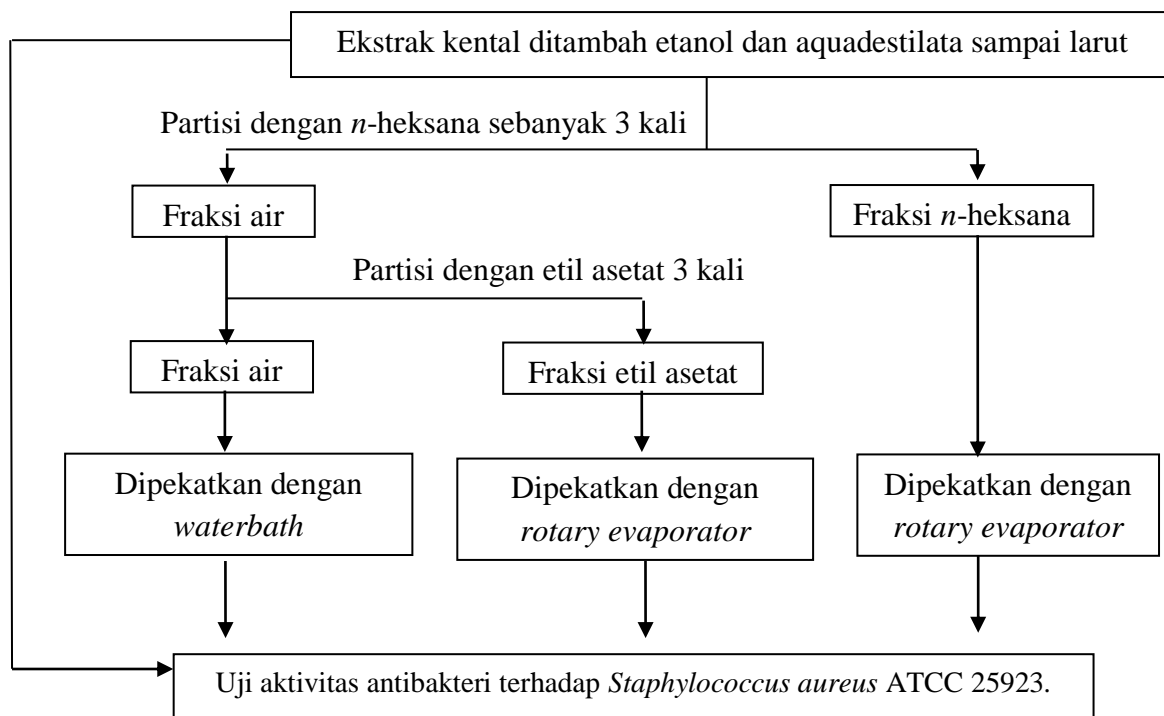
7.3. Identifikasi tanin. Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan aquadestilata sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan NaCl 10% lalu direaksikan dengan menambahkan FeCl_3 . Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree *et al.* 2012).

8. Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun jambu air dibuat dengan cara ditimbang dari ekstrak kental hasil maserasi. Ekstrak kental yang sudah ditimbang dilarutkan dengan etanol dan aquadestilata kemudian dipisahkan di corong pisah dengan ditambahkan *n*-heksana, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai fraksi *n*-heksana.

Residu dari fraksinasi *n*-heksana dipisahkan di corong pisah dengan ditambahkan etil asetat, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian ditimbang dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

Residu dari fraksi etil asetat dipekatkan dengan cara dibiarkan menguap pada suhu kamar, karena masih terdapat kandungan air yang cukup banyak maka dipekatkan kembali menggunakan waterbath suhu $\pm 50^\circ\text{C}$ lalu ditimbang dan disebut sebagai fraksi air. Skema pembuatan fraksinasi daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 2. Skema diagram kerja pembuatan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun jambu air.

9. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi untuk uji difusi dilakukan dengan biakan murni diambil kurang lebih 2 jarum ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0.5 setara dengan jumlah bakteri 1.5×10^8 cfu/mL. Tujuannya agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan kepadatan bakteri berkurang saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.1. Identifikasi bakteri dengan cawan gores. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Jhoson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 3,5% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

10.2. Pewarnaan. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol: aseton = 1:1 sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

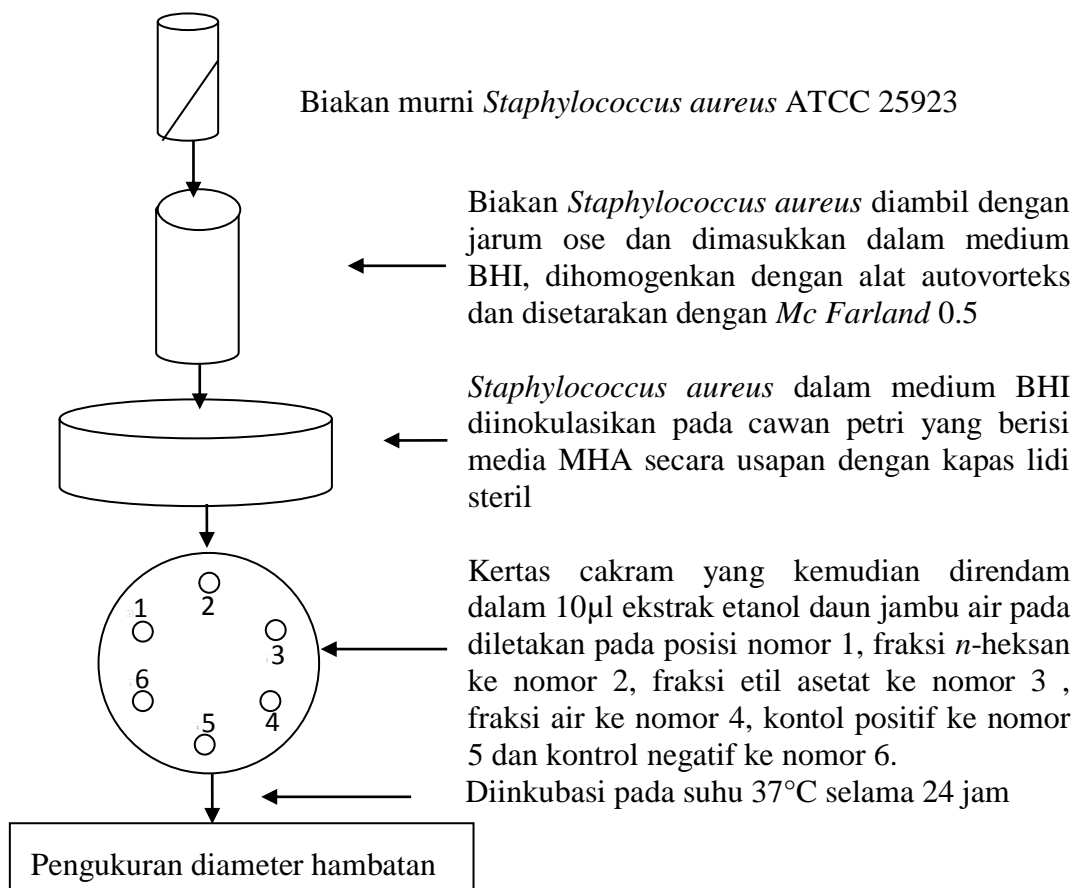
10.3. Identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara (Jawetz *et al.* 2007).

Uji koagulase dapat menggunakan plasma darah manusia. Plasma darah diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung-tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007).

11. Pengujian antibakteri daun jambu air secara difusi

Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air yang diperoleh diuji secara difusi ke bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian daya antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media MHA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Kertas cakram direndam dengan ekstrak etanol daun jambu air, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dengan 3 seri konsentrasi yaitu 12.5%, 25%, 50%, kontrimoksazol sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 5%, masing-masing dengan volume 10 µl. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar kertas cakram diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Daerah

yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar kertas cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun jambu air memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

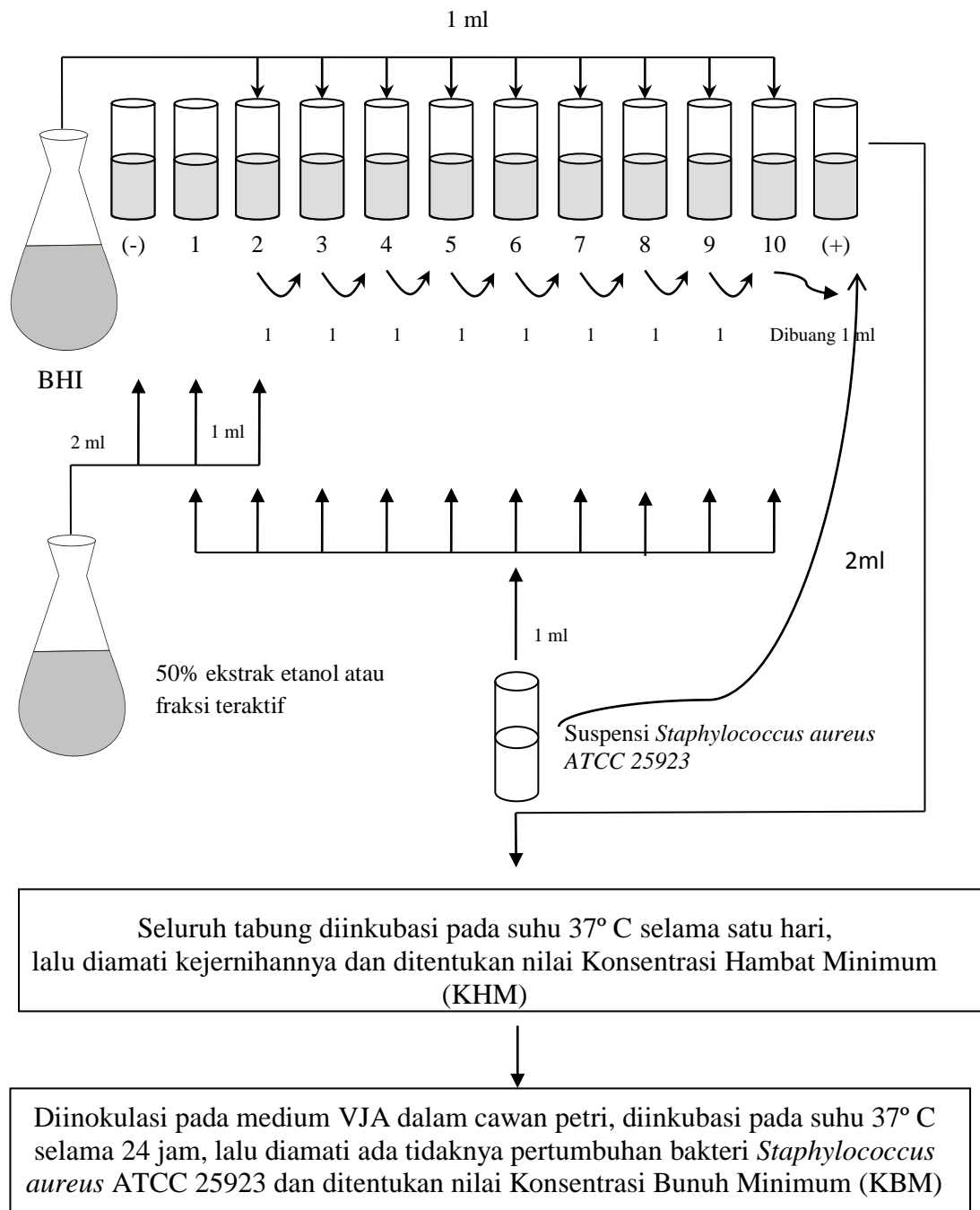


Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi.

12. Pengujian antibakteri daun jambu air secara dilusi.

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji. Metode dilusi menggunakan 12 tabung steril. Secara aseptis dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi di bawahnya yaitu kontrol (-) adalah larutan stok; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai kontrol (+). Secara aseptis media BHI dimasukkan 1 ml pada tiap tabung kecuali tabung 1. Kemudian dimasukkan 2 ml larutan stok dengan konsentrasi teraktif yang akan diuji pada tabung 1, kemudian 1 ml pada tabung 2 dan 3, kemudian dari tabung 3 dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu

seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Biakan bakteri sebanyak 1 ml di tambahkan ke tabung 2 sampai tabung 11 dan 2 ml ke tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati kejernihannya dan ditentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam. Amati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media selektif *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.



Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun jambu air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

13. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada fraksi teraktif daun jambu air. Fraksi yang paling aktif diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi yang dinyatakan paling aktif ditotolkan menggunakan pipa kapiler di atas lempeng kromatografi. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mula-mula dilakukan dengan cara menaikkan cairan pengembang (fase gerak) di dalam suatu bejana (chamber) yang dindingnya telah dilapisi dengan kertas saring sehingga atmosfer di dalam bejana dijenuhi dengan fase gerak kemudian dilakukan elusi sampai fase gerak mencapai batas elusi. Pengembangan yang sudah dilakukan dilanjutkan dengan pengeringan lempeng kromatografi lapis tipis, kemudian dilakukan deteksi di bawah sinar UV dan pereaksi lainnya. Bercak yang dideteksi ditentukan harga Rf dan penampakan warnanya.

13.1. Identifikasi Flavonoid. Untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan KLT yaitu fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan kloroform : metanol (2:3) dengan pereaksi semprot sitroborat. Bila dengan UV₂₅₄ nm memberikan peredaman, UV₃₆₆ nm berfluoresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987).

13.2. Identifikasi Fenol. Fase diam silika gel GF₂₅₄. Fase gerak etil asetat: metanol (1:1) dan ditambah asam formiat 1 tetes. Pereaksi penampak yang digunakan FeCl₃. Dengan pereaksi ini fenol membentuk warna biru kehitaman (Harborne 1987)

14. Analisis Data

Analisis data untuk membandingkan aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, air dan kontrol positif hasil difusi daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pada penelitian ini menggunakan analisis statistik metode One Way Anova

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil identifikasi tanaman jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.)

1.1. Determinasi Tanaman. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman jambu air terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Hasil determinasi daun jambu air berdasarkan Steenis: FLORA : 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a. golongan 10. 239b – 243b – 244b – 248b – 250a – 251b – 253b – 254b – 255a. familia 94. Myrtaceae. 1b – 2b. 3. Eugenia. 1b – 3b. *Eugenia aquea* Burm.f.Sin. *Syzygium aqueum* Alst.

1.2. Deskripsi Tanaman. Deskripsi tanaman jambu air sebagai berikut: pohon dengan tinggi 3 - 6 meter, akar tunggang, batang berkayu, percabangan monopodolia. Daun tunggal, berhadapan, bangun memanjang, tangkai sangat pendek, pangkal membulat, ujung runcing sampai tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, panjang 11,7 – 12,6 cm, lebar 4,9 – 6,8 cm, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau tua dan tidak ada daun penumpu.

Kerangka bunga lepas, berbunga 3 – 7 dengan panjang poros 2 – 4 cm, bunga berbilangan tiga dalam tangkai dan tangkainya pendek. Buluh kelopak lk tingginya 1 cm, taju 4, bentuk setengah lingkaran, panjang 2 – 3,5 mm, kuning atau putih kuning, 2 yang terluar lebih kecil dari dalam. Daun mahkota berbentuk tudung, berkukuh, bulat telur lebar sampai segitiga, panjang 5 - 7 mm, putih, segera rontok. Benang sari banyak, panjang lk 1 cm. Tonjolan dasar bunga tumbuh dengan baik. Buah buni berbentuk gasing dan mengkilat. Biji berjumlah 1- 6.

Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.). Gambar dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu air.

Daun jambu air diambil secara acak dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali, pada bulan Januari 2018. Daun jambu air yang telah dikumpulkan dibersihkan, dicuci dan dikeringkan. Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1. Daun jambu air sebanyak 4000 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering 1200 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 30%. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
4000	1200	30

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun jambu air

Penetapan kadar lembab daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) menggunakan alat *Moisture Balance*. Hasil penetapannya tercantum pada tabel di bawah ini:

Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab daun jambu air

No	Bobot serbuk (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	5,5
2	2,00	5,5
3	2,00	5,5
Rata- rata		5,5

Hasil penetapan kadar lembab daun jambu air didapatkan rata-rata sebesar 5,5. Kadar lembab yang memenuhi syarat adalah kadar lembab simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Apabila kadar lembab kurang dari 10%, sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

4. Hasil pembuatan ekstrak daun jambu air

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Keuntungan cara penyari dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga komponen yang tidak tahan panas seperti flavonoid tetap ada di dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun jambu air dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun jambu air

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	264,15	52,83

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun jambu air yang diperoleh adalah 52,83% dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 12.

5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air

Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air

Hasil	Pustaka
Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Kurniawati 2015)

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak daun jambu air adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air

Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol.	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Fenolik	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih 2016)	(+)
Tanin	Warna hijau kehitaman.	Terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) dapat dilihat pada lampiran 5. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun jambu air dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun jambu air. Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air positif mengandung flavonoid. Secara kualitatif senyawa flavonoid terbukti ada dalam daun jambu air. Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosidanya dan dalam bentuk campuran atau jarang sekali ada sebagai senyawa tunggal. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dimana dua cincin benzena (C6) terikat oleh rantai propana (C3).

Setelah ekstrak di tambahkan dengan logam magnesium, asam klorida (HCl) memberikan warna merah. Kemungkinan golongan flavonoidnya adalah flavanon, flavanonol dan flavanol. Berbeda dengan flavonoid, tannin adalah salah satu golongan senyawa polifenol yang juga banyak dijumpai pada tanaman. Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tannin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin memiliki peranan biologis yang besar karena fungsinya sebagai pengendap protein dan penghelat logam. Oeh karena itu tannin diprediksi dapat berperan sebagai antioksidan biologis. Pereaksi besi (III) klorida digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol/polifenol/tanin. Pengujian polifenol/tanin dilakukan dengan

melakukan penambahan FeCl_3 10% diperkirakan akan menimbulkan warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan. Perubahan warna tidak terjadi dengan penambahan FeCl_3 karena tidak adanya gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin (Sangi *et al.* 2013; Artini *et al.* 2013).

7. Hasil fraksinasi ekstrak daun jambu air

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda.

Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat, dan senyawa polar akan terekstraksi dalam pelarut air. Bahan aktif yang sudah terekstraksi dalam masing-masing pelarut yang sesuai dengan kepolarannya akan mudah diperkirakan kandungan kimia yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Mukhriani 2014; Tiwari *et al.* 2011).

7.1. Fraksi n-heksan. Rendemen hasil fraksinasi fraksi n-heksan dapat dilihat dalam tabel 6.

Tabel 6. Rendemen hasil fraksi n-heksan

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	1,45	13,9
2	10,16	1,39	13,6
3	10,26	1,47	14,3
Rata-rata			13,93

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rata-rata rendemen fraksi n-heksan daun jambu air didapat 13,93%. Hasil perhitungan rendemen fraksi n-heksan daun jambu air selengkapnya dapat dilihat dalam lampiran 13.

7.2. Fraksi etil asetat. Rendemen hasil fraksinasi fraksi etil asetat dapat dilihat dalam tabel 7.

Tabel 7. Rendemen hasil fraksi etil asetat

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	2,70	25,9
2	10,16	2,60	25,5
3	10,26	2,79	27,1
Rata-rata			30,67

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat daun jambu air didapat 30,67%. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun jambu air selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13.

7.3. Fraksi air. Residu yang didapat dari fraksi etil asetat adalah fraksi air yang kemudian dipekatkan pada oven dengan suhu dibawah 40°C sampai didapatkan fraksi air yang kental.

Tabel 8. Rendemen hasil fraksi air

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	5,34	51,2
2	10,16	5,11	50,2
3	10,26	5,26	51,2
Rata-rata			50,67

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi air daun jambu air didapatkan prosentase 50,67%. Data hasil perhitungan fraksi air selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13. Hasil fraksi air yang didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain karena sebagian besar senyawa dalam daun jambu air bersifat polar. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) berbeda. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%. Hal tersebut kemungkinan disebabkan ekstrak banyak yang menempel pada wadah dan corong pisah dan kurangnya kekentalan ekstrak untuk proses fraksinasi.

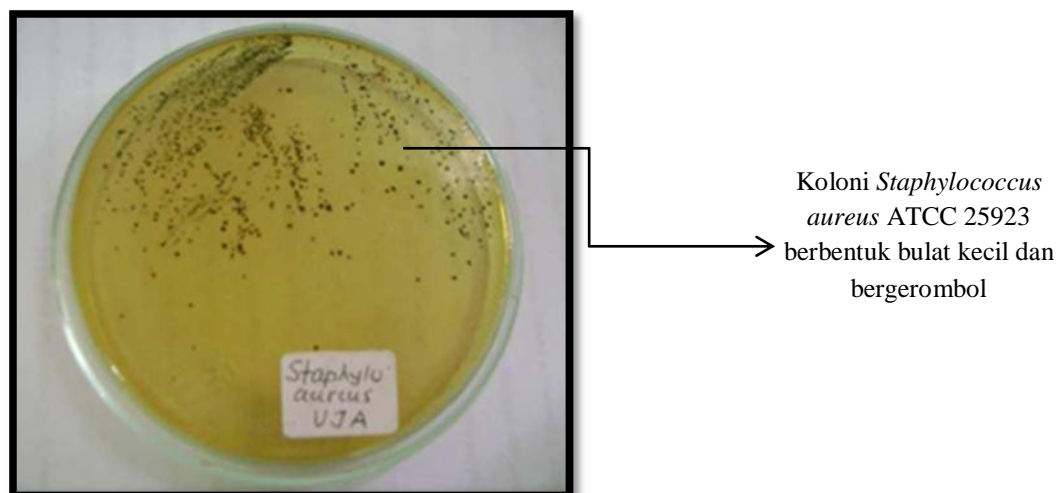
8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil masing-masing satu ose dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi 10 mL

media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi yang didapat diencerkan dengan perbandingan 1:1000 dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis yang pengenceran menggunakan konsentrasi *Mc Farland* 0,5. Tujuan pembuatan suspensi bakteri untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri.

9. Hasil identifikasi bakteri uji

9.1. Hasil identifikasi bakteri secara goresan. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik, warna medium di sekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol. Penampakan koloni yang terjadi yaitu kecil, halus,. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara inokulasi dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara inokulasi.

9.2. Hasil Pewarnaan. Pewarnaan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil positif. Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol membentuk beberapa kelompok tersendiri dalam jumlah banyak seperti buah anggur. Hasil pewarnaan dapat dilihat pada lampiran 6 gambar 19.

9.3. Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia. Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dan koagulase

Jenis uji	Prosedur	Hasil	Pustaka
Uji katalase	1 ose bakteri dalam obyek glass + 3 tetes H ₂ O ₂ 3%	Terbentuk gelembung gas	Terbentuk gelembung gas (Jawetz <i>et al.</i> 2007)
Uji koagulase	Plasma kelinci 2 ml + 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi 1-4 jam pada suhu 37 ^o	Hasil reaksi positif terjadi penjendalan	Hasil reaksi positif terjadi penjendalan (Jawetz <i>et al.</i> 2007)

Uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil positif. Uji positif ini ditandai dengan adanya gelembung udara karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase pada penambahan H₂O₂ 3% sehingga akan terurai menjadi H₂O (air) dan O₂ (oksigen). Uji koagulase menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan gumpalan putih menyerupai aglutinasi. Hasil identifikasi bakteri tersebut membuktikan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian ini positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji katalase dan koagulase dapat dilihat pada lampiran 6 gambar 20 dan 21.

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi daun jambu air secara difusi

Hasil dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun jambu air dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dari masing-masing fraksi. Kontrol positif menggunakan kotrimoksazol dan kontrol negatif menggunakan DMSO 1%. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi kemudian diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun jambu air memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil luas daerah hambat pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun jambu air dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Diameter hambatan uji aktivitas antibakteri fraksi daun jambu air secara difusi

Kandungan uji	Konsentrasi	Diameter hambatan (mm)			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
n-Heksan	50%	8	8	7	7,33
	25%	8	9	7	8
	12,5%	8	8	7	7,67
Etil asetat	50%	20	27	14	20,33
	25%	15	11	13	13
	12,5%	10	15	10	11,7
Air	50%	10	11	11	10,66
	25%	10	9	10	9,67
	12,5%	11	10	10	10,33
Ekstrak	50%	17	14	15	15,3
	25%	15	10	11	12
	12,5%	14	10	8	10,66
Kontrol positif (+) (kotrimoksazol)	25 μ L	22	20	25	22,6
	25 μ L	21	27	24	24
	25 μ L	26	26	23	26
Kontrol negatif (-) (DMSO)	5%	0	0	0	0
	5%	0	0	0	0
	5%	0	0	0	0

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun jambu air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan adanya daya hambat. Adanya daya hambat dibuktikan dengan adanya daerah di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Dari tabel 11 dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi air. Hal ini terlihat dengan adanya daerah jernih di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri pada fraksi etil asetat lebih luas. Perbedaan diameter hambatan dikarenakan senyawa yang terdapat dalam masing-masing fraksi memiliki kemampuan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda tergantung tingkat kepolaran dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air.

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi teraktif daun jambu air secara dilusi.

Uji difusi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi yang teraktif dapat menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Rata-rata diameter daya hambat etil asetat secara berturut-turut 20,33 mm, 13 mm, dan 11,7 mm pada

konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat sebagai fraksi teraktif dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan 3 kali replikasi. Konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,195%, 0,097%, 0,048%. Kontrol positif menggunakan suspensi bakteri dan kontrol negatif menggunakan fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun jambu air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi.

No	Konsentrasi	Replikasi		
		1	2	3
1	50%	-	-	-
2	25%	-	-	-
3	12,5%	-	-	-
4	6,25%	-	-	-
5	3,12%	+	+	+
6	1,56%	+	+	+
7	0,78%	+	+	+
8	0,39%	+	+	+
9	0,19%	+	+	+
10	0,09%	+	+	+
11	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok (ekstrak/fraksi)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri

Tabung no. 2-11: Larutan uji dan suspensi bakteri

Berdasarkan tabel 12 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan tiga kali pengulangan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19% dan 0,09%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit diamati karena ekstrak yang berwarna dan sulit dibedakan antara yang keruh atau tidak, sehingga hanya bisa dilihat dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Hal ini membuktikan bahwa fraksi etil asetat dapat membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi bunuh minimum 6,25%. Konsentrasi bunuh minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan cara menginokulasi sediaan dari tabung uji pada medium *Vogel Jhonson Agar* dalam cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada medium *Vogel Jhonson Agar*.

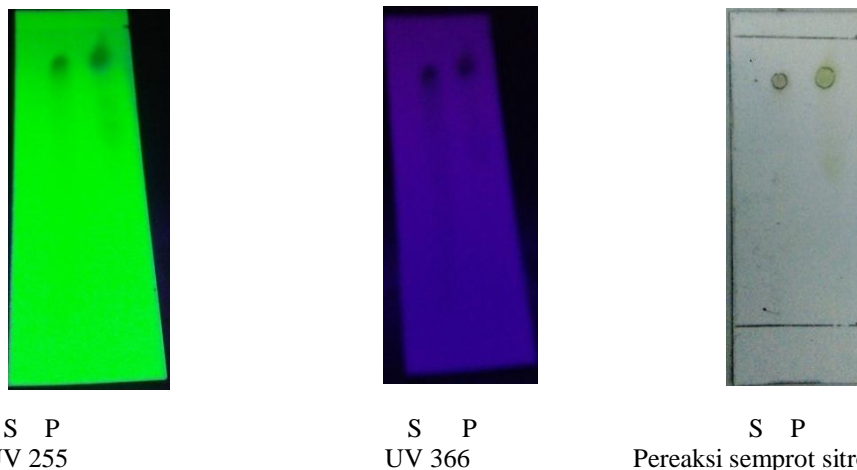
12. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat, yaitu flavonoid dan fenolik.

Tabel 12. Hasil identifikasi senyawa secara KLT

Pengujian	Fase diam	Fase gerak	Deteksi	Pereaksi semprot	Hasil		Daftar pustaka
					Warna bercak	Rf	
Flavonoid	Silika gel	kloroform : metanol (2 : 3)	UV 254 nm UV 366 nm	Sitroborat	Biru	0,83 0,85	Biru (Harborne 1987).
Fenolik	Silika gel	etil asetat : metanol (1:1)	UV 254 nm UV 366 nm	FeCl ₃	Biru kehitaman	0,74	Biru kehitaman (Harborne 1987).

12.1. Identifikasi senyawa flavonoid secara KLT. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak kloroform : metanol (2:3) dengan pereaksi semprot sitroborat. Senyawa flavonoid akan berflouresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987).



Gambar 5. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat daun jambu air pada fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil kloroform:metanol (2:3)

Keterangan:
S : Sampel
P : Quersetin

Perhitungan Rf Flavonoid

$$R_f = \frac{\text{jarak bercak dari awal totolan}}{\text{jarak elusi}}$$

$$R_f \text{ quersetin} = \frac{4,2\text{cm}}{5\text{ cm}} = 0,85$$

$$R_f \text{ sampel} = \frac{4,1\text{cm}}{5\text{ cm}} = 0,83$$

Hasil identifikasi menunjukkan bercak senyawa flavonoid pada UV₂₅₄ memberikan peredaman dan berwarna ungu gelap pada UV₃₆₆. Nilai Rf bercak adalah 0,83 yang hampir sama dengan pembanding quersetin dengan nilai Rf 0,85. Senyawa flavonoid akan terlihat bercak yang berflouresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987), sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun jambu air positif mengandung flavonoid dari bercak pada lempeng KLT yang dilihat pada UV₂₅₄, UV₃₆₆, pereaksi semprot dan nilai Rf yang hampir sama dengan pembanding quersetin.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid yang dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat

aslinya. Terdenaturiasinya protein dinding sel *Saphylococcus aureus* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel dan menyebabkan terganggunya proses metabolisme enzim serta penyerapan nutrisi (Pranoto *et al.* 2012). Flavonoid sebagai antibakteri membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Dewanti & Wahyudi 2011).

12.2. Identifikasi senyawa fenolik secara KLT. Hasil identifikasi golongan senyawa fenolik dilihat dengan sinar UV 254 dan UV 366 dan KLT menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat:metanol (1:1) ditambah 1 tetes asam formiat dengan pereaksi penampak FeCl_3 . Bercak senyawa fenolik terlihat berwarna biru kehitaman pada sinar UV 254 dan terlihat berflouresensi biru terang pada UV 366 dengan Rf 0,79. Senyawa fenolik akan terlihat bercak berwarna biru kehitaman, pada umumnya senyawa polifenol memberikan flouresensi pada sinar UV (Harborne 1987). Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun jambu air positif terdapat senyawa fenolik dari bercak pada lempeng KLT dilihat pada UV 254, UV 366, dan pereaksi semprot.



UV 254 nm



UV 366 nm

Pereaksi semprot FeCl_3

Gambar 6. Hasil identifikasi fenolik fraksi etil asetat daun jambu air pada fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat:metanol (1:1)

Perhitungan Rf fenolik

$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari awal totolan}}{\text{jarak elusi}}$$

$$\text{Rf sampel} = \frac{3,8\text{cm}}{5\text{cm}} = 0,76$$

13. Hasil Analisis Data

Perhitungan statistik yang digunakan adalah anova *one way*, digunakan anova *one way* untuk membandingkan kontrol positif, ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun jambu air pada setiap konsentrasi.

Perhitungan Kolmogorov-Smirnov diperoleh Signifikansi = 0,086 > 0,05 (Ho diterima), disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan ANOVA *one way*. Hasil tabel anova dalam dasar pengambilan keputusan (nilai probabilitas), terlihat nilai F = 17.489 dengan probabilitas 0,000 < 0,05 terdapat perbedaan yang nyata. Uji *Tukey* dan *Bonferroni*, tanda * ada di angka *Mean Difference*, maka perbedaan signifikan. Hasil tabel Multiple Comparisons terlihat perbedaan tidak signifikan pada kontrol positif, n-heksan konsentrasi 50%: 25% dan 12,5%, etil asetat 25%; 12,5%, air 50%; 25%; 12,5%, ekstrak 25%; 12,5% serta kontrol negatif tetapi pada etil asetat 50%, ekstrak 50% dan kontrol positif nampak ada perbedaan signifikan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan fraksi serta ekstrak disebabkan pada fraksi etil asetat daun jambu air terdapat senyawa yang potensial yaitu flavonoid, tannin dan fenolik sedangkan pada ekstrak etanol masih banyak mengandung senyawa-senyawa yang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Homogeneous Subsets merupakan bagian untuk mencari grup / subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Hasil tabel Homogeneous Subsets pada etil asetat 50% dan kontrol positif tidak memiliki perbedaan nyata tetapi memiliki perbedaan nyata dengan n-heksan 50%: 25%; 12,5%, etil asetat 25%; 12,5%, air 50%; 25%; 12,5%, ekstrak 50%; 25%; 12,5%. Kontrol positif yaitu kotrimoksazol mengandung sulfametaksazol 4% dan trimetropim 0,8% sedangkan pada etil asetat 50%, nampak adanya perbedaan konsentrasi antara kontrol positif dan n-heksan. Kesimpulan fraksi etil asetat masih memiliki kemampuan antibakteri yang kecil dibandingkan dengan kontrol positif, perlunya isolasi etil asetat untuk mengetahui senyawa yang potensial

sehingga menyamai kemampuan antibakteri dari kotrimoksazol dengan konsentrasi yang sama. Hasil penghitungan data dapat dilihat pada lampiran 16.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, etil asetat dan fraksi air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.) merupakan fraksi paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, nilai Konsentrasi Hambat Minimum sulit ditentukan, karena fraksi etil asetat berwarna dan sulit menentukan hasil yang keruh dan jernih sedangkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang didapat adalah 6,25%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.).

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap hasil dilusi yang disentrifugasi untuk melihat kejernihannya.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* terhadap fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun jambu air (*Syzygium aqueum* Alst.).

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. 21, 38 – 39. Bandung: ITB Press
- Agustini, N.W.R., Kusmayati., 2007, Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*), *J Biod*. 8(1) : 48 – 53.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava. *Jurnal FKIP Universitas Lambung Mangkurat*. Bioscientiae 1:31-38.
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Journal Of Marine Research* 3:69-78.
- Anggrawati PS dan Ramadhania ZR. 2015. Kandungan Senyawa Kimia Dan Bioaktivitas Dari Jambu Air (*Syzygium aqueum* Burn. f. Alston): Review Artikel. Universitas Padjadjaran: Fakultas Farmasi. halm 417-433
- Anief M. 2003. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 168-169.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* benth. *E-Journal Planta Husada* 2:1-4. (Agustrina 2011)
- Artini, P.E.U.D., Astuti, K.W., dan Warditiani, N.K., 2013. Uji fitokimia ekstrak etil asetat rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Azijah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae* 2:31-38.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik pada Pasien ISPA Rawat Jalan di Rumah Sakit Professor dr. Aloi Saboe Kota Gorontalo [Tesis]. Universitas Negeri Gorontalo.
- Bobbarala, V. 2012. *Antimicrobial Agents*. Intech, Croatia.
- Bonang G dan Koeswardono.1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Cahyono, B. 2010. Sukses Budidaya Jambu Air di Pekarangan & Perkebunan. Lili Publisher. Yogyakarta.

- Conn, E. E. and Stumpf, P.K. 1976. *Outlines of Biochemistry*. John Wiley and Sons, Inc. NewYork.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 – 582.
- Deinstrop dan Elke. 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCA. hlm 1-2.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1979. *Farmakope Indonesia. Jilid III*. Jakarta: Departemen, Kesehatan Republik Indonesia
- [Departemen Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 6-7, 10-12
- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 3-11.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2005. *Farmakope Indonesia. Jilid III*. Jakarta: Departemen, Kesehatan Republik Indonesia
- Deresse D, Solomon G, Dawit Y (2012). Antibiotic-resistance *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk in the Hawassa area, South Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11: 26.
- Dewanti S dan Wahyudi MT. 2011. Antibacterial activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherchia coli* in-vitro. Faculty of medicine. Airlangga University. *Jurnal Medika Planta* 1:78-81.
- Dewi, A.K. 2013, Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, *Journal of Sain Veterinary*, 138-150. (Dinasari 2009).
- Eny Widiyati. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien* 2:116-122.
- Green J. 2005. Terapi Herbal Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri. Jakarta: Prestasi Pustaka Raya.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 9-13.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. penerjemah; K. Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. hlm. 47-51.

- Hastaria R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak pelepah dan batang tanaman pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sepientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro
- Hayati KE, Fasyah AG, Sa'adah L. 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Journal of Chemistry* 4:195.
- Haryati T, Jekti DSD, Andayani Y. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzygium Aqueum*) Terhadap Bakteri Isolat Klinis. *Journal Penelitian Pendidikan Ipa* : 2460-2582
- Hilmi A, Sudjarwo, Darmawati A. 2013. Validasi metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk penetapan kadar kolkisin dalam infus daun kembang sungsang (*Gloriosa superba* Linn.). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* 2:1-8.
- Holt, J.G *et al.*, 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570.
- Indraswari, A., 2008, Optimasi pembuatan ekstrak daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) menggunakan metode maserasi dengan parameter kadar total senyawa fenolik dan flavonoid, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jawetz *et al.*, 1989. *Medical Microbiology*. 18th. Ed. Lange, Appleton & lange. San Matteo. California.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Jawetz E, Melnick J, & Adelberg E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih, NM, Harsono, S., Alimsardjono, L. Edisi XXII. Penerbit Salemba Medika. Jakarta, 327-335.
- Jawetz E., Melnick, J.L., Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Penerjemah: Hartanto H, Rachman C, Dimanti A, Diani A. Editor: Elfira NR *et.al.* Jakarta: ECG.hlm 291-292, 303-306. Terjemahan dari: *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology, 23rd ed*
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hlm 230-231.
- Katno. 2008. Tingkat Manfaat, Keamanan dan Efektifitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Karanganyar.

- Khan, H.A., Ahmad, A., Mehboob, R. 2015. *Nosocomial Infections and their Control Strategies*. Asian Pac J Trop Biomed; 5(7): 509– 514.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung , M., Kurniadi, B. 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya
- Kurniawati E. 2015. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Secara In Vitro*. Jurnal Wiyata 2: 83-90.
- Lowy, F.D., 2003. Antimicrobial Resistance: The Example of *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Investigation, 111, 9, 1265-1273. Marliana SD, Suryanti V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis Kromatografi Lapis Tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi* 3:26-31.
- Marliana, E., 2007, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi sebagai Antioksidan, *Jurnal Penelitian MIPA*, Volume 1, No.1, 23-29.
- Maliana, Y., Khotimah, S dan Diba, FS. 2013. Aktifitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Coptotermes curvignathus* Holmgren. Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tanjungpura. Pontinak. *Jurnal Protabiont*. 2 (1): 7-11.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7:361-367.
- Nair, R., Hanson, B.M., Kondratowicz, K., Dorjpurev, A., Davaadash, B., Enkhtuya, B., Tundev, O., Smith, T.C. 2013. Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of *Staphylococcus Aureus* from Ulaanbaatar, Mongolia. *PeerJ*: 2:19.
- Ningsih DR, Zufahair, Kartika D. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri [skripsi]. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto: Jurusan Kimia FMIPA 11:101-111
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu –ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.
- Okuda, T., Yoshida, T.; Hatano, T.; Yazaki, K.; Ashida, M. 1982. Ellagitannins of the casuarinaceae, stachyuraceae and myrtaceae. *Phytochemistry*. 21, 2871.

- Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Sivapalan V, Subramaniam T, Helme MH, Masilamani T. 2011. Standardized extract of *Syzygium aqueum* : a safe cosmetic ingredient. *International Journal of Cosmetic Science* 33(3): 269–275.
- Permatasari D, Pitopang R, Anam S, Ivan. 2015. Uji daya hambat ekstrak batang tumbuhan *Harrisonia Perforata Merr.* terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella Dysentriae*. *Biocelebes* 9:1-7.
- Phaza, H.A., 2010, Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu dan Jumlah Stage pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Secara Batch, *Skripsi*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Pleczar, M.I., Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*, Diterjemahkan oleh Ratna Siri, H. Jakarta: UI-Press hlm 48, 189, 190-205.
- Pranoto, E.N., Widodo, F.M., dan Delianis P. (2012). Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 1(1): 1-8.
- Prasetyo H. 2012. *Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Klebsiella pneumoniae dan Staphylococcus epidermidis* [skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Fakultas Farmasi. Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) Bali: Universitas Udayana. hlm 56-60.
- Radji M. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: *Buku Kedokteran ECG*.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: *Buku Kedokteran ECG*.
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice. University of Mysore. Karnataka. India. *Journal of Pharmacy Research* 8: 4554-4558.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I. dan Kumaunang, M., 2013. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arange pinnata*). Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Sari, F.P., dan S. M. Sari. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.

- Simaremare, S A. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). Program Studi Farmasi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura.
- Singh, I.P., S.B. Bharate. 2005. Anti-HIV Natural Products. *Journal Current Science*, 89
- Susanti, A. 2008. Daya antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica less*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal universitas airlangga*, 1 (1).
- Syamsuni HA. 2007. *Ilmu Resep*. Elviana E, Syarief RW, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Thamilvaani, M., David, A., Hwee, M. C., Uma, D. P., 2012. Flavonoids Isolated from *Syzygium aqueum* Leaf Extract as Potential Antihyperglycaemic Agents. *Food Chemistry*: 132.
- Thomson, R.H. 1993. *The Chemistri Of Natural Product*. 2 edition. Chapman and hall ltd. Glasgow,UK.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extractoin. *Internationale Pharmaceutica Sciecia* 1:98-106.
- Tjay TH dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi I. Jakarta: Depkes. hlm 195-203.
- Uwaezuoke J.C. Aririatu L.E. 2004. *A Survey of Antibiotic Resistant Staphylococcus Aureus Strains from Clinical Sources in Owerri*. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* Vol. 8 (1): 67 – 69.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi 5*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. hal 170.
- Wardhani LK dan Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2:1-16.
- Wong, K.C.; Lai, F.Y. 1996. Volatile constituents from fruits of four *Syzygium* species grown in Malaysia. *Flavour Fragr. J.* 11, 61-66.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Determinasi daun jambu air (*Syzygium aqueum*)



UPT- LABORATORIUM

No : 259/DET/UPT-LAB/09/V/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Clarista Apriani Upan
NIM : 20144163 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jambu air / *Syzygium aqueum* Alst**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a. golongan 10. 239b – 243b – 244b – 248b – 249b – 250a – 251b – 253b – 254b – 255a. familia 94. Myrtaceae. 1b – 2b. 3. Eugenia. 1b – 3b. *Eugenia aquea* Burm.f. Sin. *Syzygium aqueum* Alst.

Deskripsi :

- Habitus : Pohon, tinggi 3 – 6 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, berhadapan, bangun memanjang, tangkai sangat pendek, pangkal membulat, ujung runcing sampai tumpul, tepi rata, tulangdaun menyirip, panjang 11,7 – 12,6 cm, lebar 4,9 – 6,8 cm, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau tua. Daun penumpu tidak ada.
Bunga : Karang bunga lepas, berbunga 3 – 7, dengan panjang poros 2 – 4 cm, bunga berbilangan tiga dalam tangkai; tangkai pendek. Buluh kelopak lk 1 cm tingginya, taju 4, bentuk setengah lingkaran, panjang 2 – 3,5 mm, kuning atau putih kuning, 2 yang terluar lebih kecil dari yang dalam. Daun mahkota berbentuk tudung, berkuku, bulat telur lebar sampai segitiga, panjang 5 – 7 mm, putih, segera rontok. Benangsari banyak, panjang lk 1 cm. Tonjolan dasar bunga tumbuh dengan baik.
Buah : Buni berbentuk gasing, mengkilat.
Biji : 1 – 6.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 09 Mei 2018
Terdeterminasi

Karimah Wijosoendjojo, SU

Lampiran 2. Foto Tanaman jambu air (*syzygium aqueum*)



Tanaman jambu air



Daun jambu air



Daun jambu air di oven

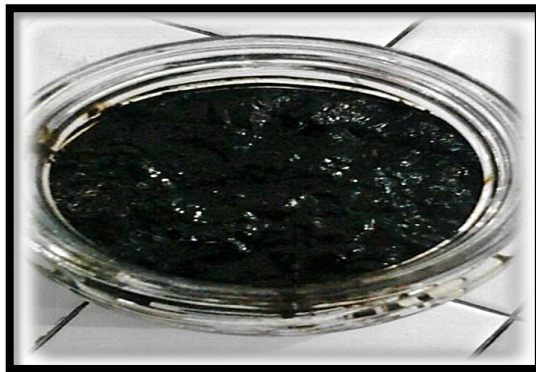


Serbuk daun jambu air dan serbuk diayak dengan ayakan no. 40

Lampiran 3. Foto botol maserasi, ekstrak dan fraksi daun jambu air



Botol maserasi



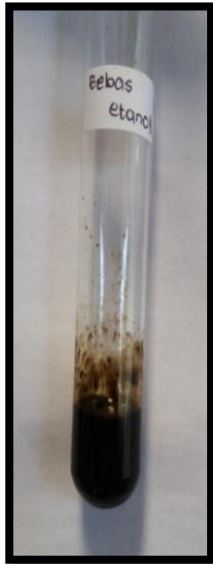
Ekstrak kental daun jambu air



Gambar 7. Fraksinasi ekstrak daun jambu air

Lampiran 4. Alat penelitian**Oven****Alat moisture balance****Inkubator****Corong buchner****Rotary evaporator****Autovortex**

Lampiran 5. Foto uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air



Bebas etanol



Flavonoid

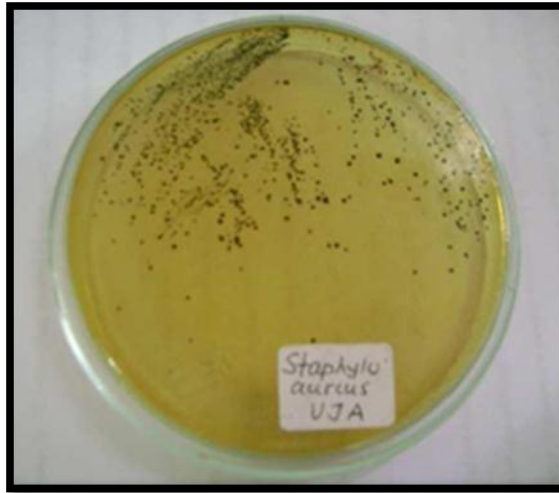


Fenolik

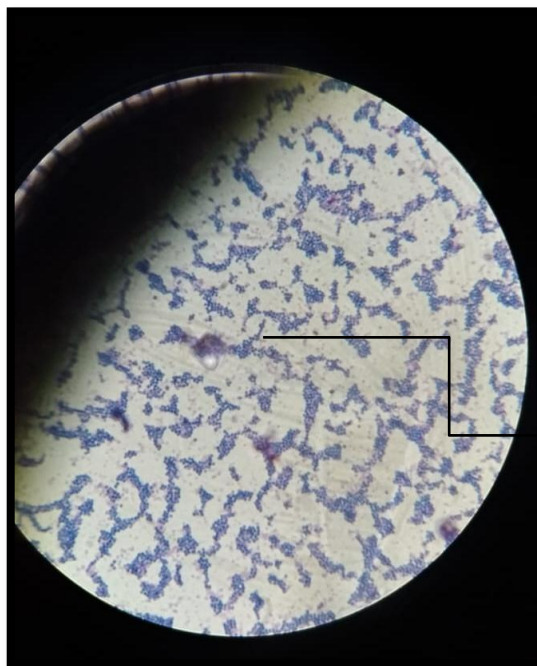


Tanin

Lampiran 6. Foto hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA

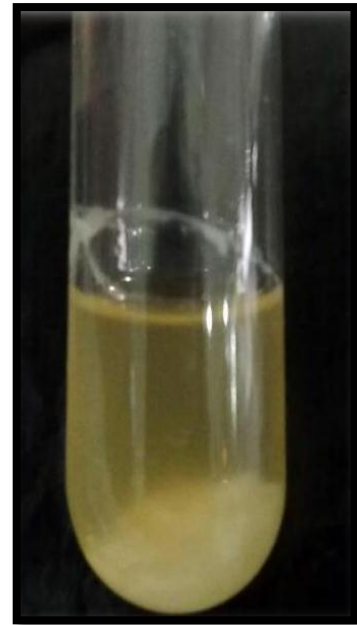


Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berwarna ungu, bulat, bergerombol seperti buah anggur

Pewarnaan gram

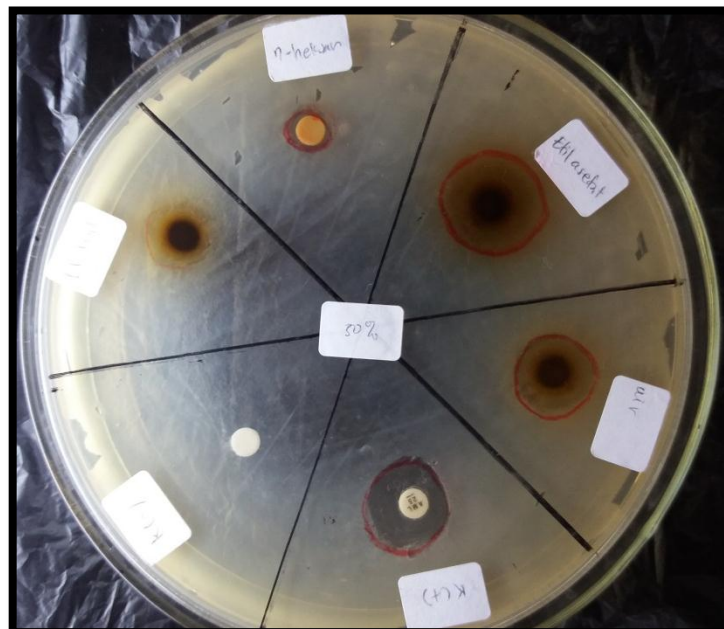


Hasil uji katalase

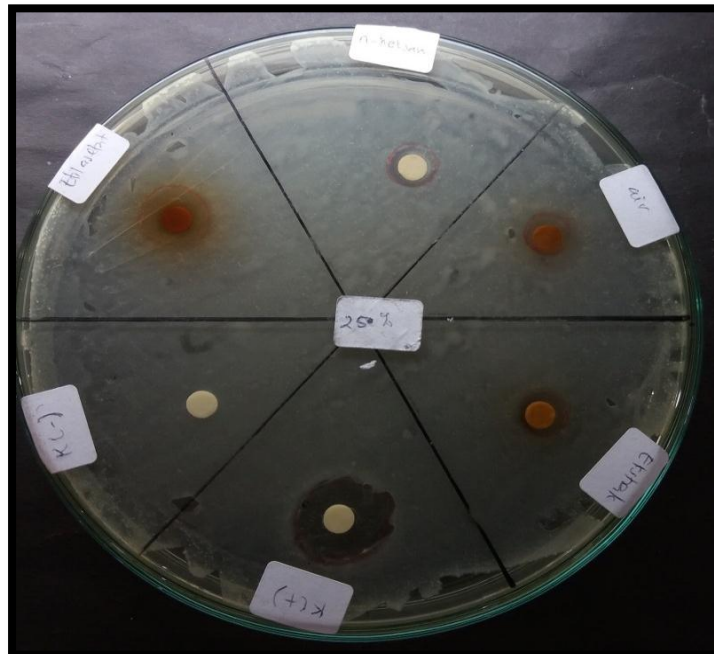


Hasil uji koagulase

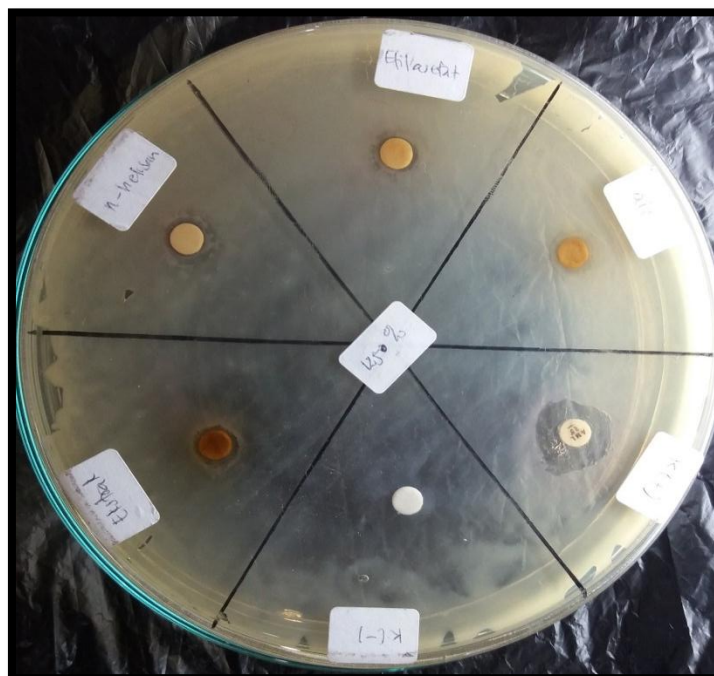
Lampiran 7. Hasil uji antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol daun jambu air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi



Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi konsentrasi 50%



Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi konsentrasi 25%



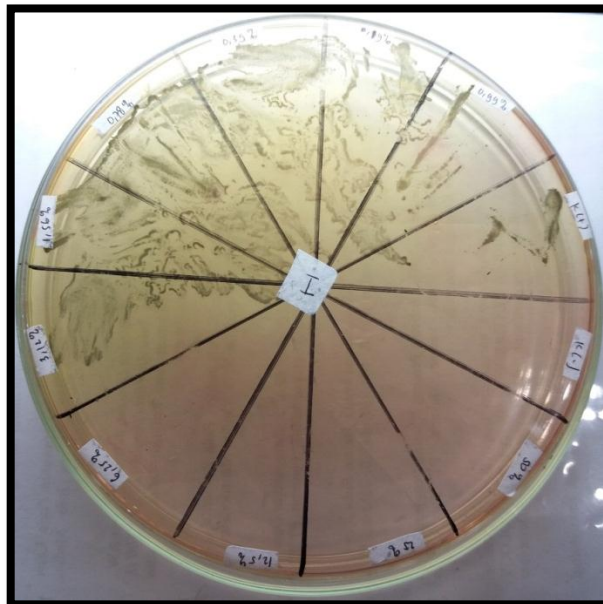
Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi konsentrasi 12,5%

Lampiran 8. Hasil inkubasi fraksi teraktif etil asetat daun jambu air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

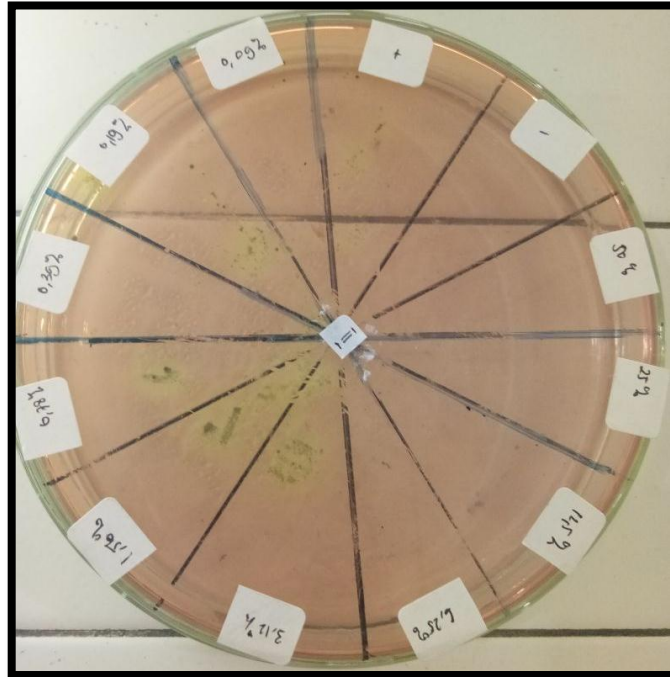


Fraksi etil asetat pada pengenceran tabung

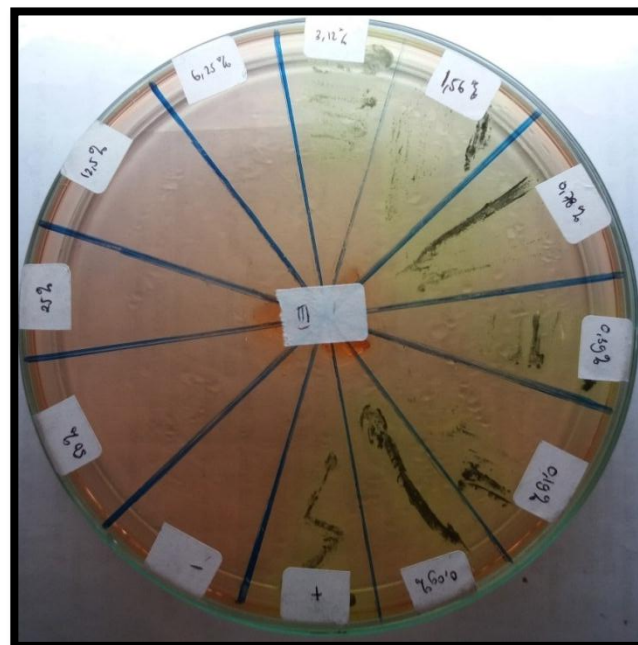
Lampiran 9. Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA



Hasil uji dilusi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara goresan pada media VJA replikasi 1



Hasil uji dilusi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara goresan pada media VJA replikasi 2



Hasil uji dilusi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara goresan pada media VJA replikasi 3

Lampiran 10. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot Basah	Bobot Kering	Rendemen
4000 gram	1200 gram	30 %

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah sebagai berikut

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\% \quad \text{—}$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1200}{4000} \times 100\% = 30\%$$

Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah diperoleh rendemen sebesar 30 %.

Lampiran 11. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air (*syzygium aqueum*)

No	Bobot Awal (g)	Bobot Bahan (g)	Kadar Air (%)
1	2,000	5,5	0,275
2	2,000	5,5	0,275
3	2,000	5,5	0,275
		Rata-rata	0,275

Hasil penetapan susut pengeringan dengan alat *moisture balance* menunjukkan bahwa terdapat data kadar air serbuk daun jambu air dengan perhitungan rata-rata:

$$\text{Rendemen \%} : \frac{5,5}{2000} \times 100\% = 0,275\%$$

$$\text{Rendemen \%} : \frac{5,5}{2000} \times 100\% = 0,275\%$$

$$\text{Rendemen \%} : \frac{5,5}{2000} \times 100\% = 0,275\%$$

Kadar air serbuk daun jambu air memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk tidak boleh lebih dari 10%.

Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak maserasi daun jambu air

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	264,15	52,83

Rendeman % = $(\text{bobot kering})/(\text{bobot basah}) \times 100\%$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen \%} &= 264,15/500 \times 100\% \\ &= 52,83 \% \end{aligned}$$

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun jambu air adalah 52,83 %.

Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan air daun jambu air

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	1,45	13,9
2	10,16	1,39	13,6
3	10,26	1,47	14,3
Rata-rata			13,93

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{1,42g}{10,42g} \times 100\% = 13,9\%$$

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{1,39g}{10,16g} \times 100\% = 13,6\%$$

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{1,47g}{10,26g} \times 100\% = 14,3\%$$

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	2,70	25,9
2	10,16	2,60	25,5
3	10,26	2,79	27,1
Rata-rata			26,1

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{2,70g}{10,42g} \times 100\% = 25,9\%$$

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{2,60g}{10,16g} \times 100\% = 25,5\%$$

- Rendemen % = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{2,79g}{10,26g} \times 100\% = 27,1\%$$

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	5,34	51,2
2	10,16	5,11	50,2
3	10,26	5,26	51,2
Rata-rata			50,8

- $$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{5,34g}{10,42g} \times 100\% = 51,2\%$$
- $$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{5,11g}{10,16g} \times 100\% = 50,2\%$$
- $$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen \%} = \frac{5,26g}{10,26g} \times 100\% = 51,2\%$$

Lampiran 14. Perhitungan konsentrasi fraksi n-heksan, etil asetat dan air secara difusi

- Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 50 % sebanyak 10 ml.

$$50\% = \frac{50 \text{ g}}{100\text{ml}}$$

$$\frac{10\text{ml}}{100\text{ml}} \times 50\text{g} = 5\text{g}$$

Ditimbang 5000 mg fraksi, dilarutkan dengan dimethyl sulfoxide (DMSO) 1% sampai 10 ml.

- Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 25 % sebanyak 10 ml.

$$25\% = \frac{25 \text{ g}}{100\text{ml}}$$

$$\frac{10\text{ml}}{100\text{ml}} \times 25\text{g} = 2,5\text{g}$$

Ditimbang 2500 mg fraksi, dilarutkan dengan dimethyl sulfoxide (DMSO) 1% sampai 10 ml.

- Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 12,5 % sebanyak 10 ml.

$$12,5\% = \frac{12,5 \text{ g}}{100\text{ml}}$$

$$\frac{10ml}{100ml} \times 12,5g = 1,25g$$

Ditimbang 1250 mg fraksi, dilarutkan dengan dimethyl sulfoxide (DMSO)
1% sampai 10 ml.

Keterangan :

Untuk fraksi air dilarutkan dalam aquadest steril.

Lampiran 15. Pembuatan konsentrasi fraksi teraktif secara dilusi

Kadar fraksi etil asetat yang digunakan adalah konsentrasi 50%

1. Tabung 1 (kontrol negatif)
2. Dipipet 1 ml fraksi etil asetat (konsentrasi 100%) + BHI sampai 2 mL.

Tabung 2 : Pembuatan konsentrasi 50%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 2 \cdot 50\%$$

$$V_1 = \frac{100\%}{100\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (50%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 3 : Pembuatan konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 2 \cdot 25\%$$

$$V_1 = \frac{50\%}{50\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (25%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 4 : Pembuatan konsentrasi 12,5%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 2 \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{25\%}{25\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (12,5%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 5 : Pembuatan konsentrasi 6,25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 12,5\% = 2 \cdot 6,25\%$$

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

Dipipet 1 ml dari sediaan (6,25%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 6 : Pembuatan konsentrasi 3,125%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 6,25\% = 2 \cdot 3,125\%$$

$$V_1 = \frac{6,25\%}{6,25\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan awal (3,12%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 7 : Pembuatan konsentrasi 1,65%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 3,12\% = 2 \cdot 1,56\%$$

$$V_1 = \frac{3,12\%}{3,12\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (1,56%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 8 : Pembuatan konsentrasi 0,78%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1,56\% = 2 \cdot 0,78\%$$

$$V_1 = \frac{1,56\%}{1,56\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (0,78%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 9 : Pembuatan konsentrasi 0,39%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,78\% = 2 \cdot 0,39\%$$

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

Dipipet 1 ml dari sediaan (0,39%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 10 : Pembuatan konsentrasi 0,195%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,39\% = 2 \cdot 0,195\%$$

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

Dipipet 1 ml dari sediaan (0,19%) kemudian ditambah BHI sampai 2 ml.

Tabung 11 : Pembuatan konsentrasi 0,095%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,19\% = 2 \cdot 0,095\%$$

$$V_1 = \frac{0,19\%}{0,19\%} = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 ml dari sediaan (0,09%) kemudian dibuang..

Tabung 11 (kontrol positif = positif ditumbuhi bakteri)

Dipipet 1 ml suspensi bakteri kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml.

Keterangan : tambahkan 1 ml suspensi bakteri ke dalam tabung 2 sampai tabung 10.

Lampiran 16. Hasil Analisa Data

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
konsentrasi	45	8.00	4.369	1	15
Diameter	45	13.89	6.268	7	27

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Konsentrasi	Diameter
N	45	45
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.00
	Std. Deviation	4.369
Most Extreme Differences	Absolute	.087
	Positive	.087
	Negative	-.087
Kolmogorov-Smirnov Z	.585	1.254
Asymp. Sig. (2-tailed)	.884	.086

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway**Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
n-heksan 12,5%	3	7.67	.577	.333	6.23	9.10	7	8
n-heksan 25%	3	8.00	1.000	.577	5.52	10.48	7	9
n-heksan 50%	3	7.67	.577	.333	6.23	9.10	7	8
etil asetat 12,5%	3	11.67	2.887	1.667	4.50	18.84	10	15
etil asetat 25%	3	13.00	2.000	1.155	8.03	17.97	11	15
etil asetat 50%	3	20.33	6.506	3.756	4.17	36.50	14	27
air 12,5	3	10.33	.577	.333	8.90	11.77	10	11
air 25%	3	9.67	.577	.333	8.23	11.10	9	10
air 50^%	3	10.67	.577	.333	9.23	12.10	10	11
ekstrak etanol 12,5%	3	10.67	3.055	1.764	3.08	18.26	8	14
ekstak etanol 25%	3	12.00	2.646	1.528	5.43	18.57	10	15
ekstrak etanol 50%	3	15.33	1.528	.882	11.54	19.13	14	17
kontrol positif (kotrimoksazol)	3	25.00	1.732	1.000	20.70	29.30	23	26
kontrol positif (kotrimoksazol)	3	24.00	3.000	1.732	16.55	31.45	21	27
kontrol positif (kotrimoksazol)	3	22.33	2.517	1.453	16.08	28.58	20	25
Total	45	13.89	6.268	.934	12.01	15.77	7	27

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.092	14	30	.044

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1539.778	14	109.984	17.489	.000
Within Groups	188.667	30	6.289		
Total	1728.444	44			

Multiple Comparisons

diameter

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksan 12,5%	n-heksan 25%	-.333	2.048	1.000	-7.88	7.21
	n-heksan 50%	.000	2.048	1.000	-7.55	7.55
	etil asetat 12,5%	-4.000	2.048	.808	-11.55	3.55
	etil asetat 25%	-5.333	2.048	.405	-12.88	2.21
	etil asetat 50%	-12.667*	2.048	.000	-20.21	-5.12
	air 12,5	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88
	air 25%	-2.000	2.048	.999	-9.55	5.55
	air 50^%	-3.000	2.048	.972	-10.55	4.55
	ekstrak etanol 12,5%	-3.000	2.048	.972	-10.55	4.55
	ekstak etanol 25%	-4.333	2.048	.715	-11.88	3.21
	ekstrak etanol 50%	-7.667*	2.048	.044	-15.21	-.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-17.333*	2.048	.000	-24.88	-9.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-16.333*	2.048	.000	-23.88	-8.79
	kontrol positif (kontrimoksazol)	-14.667*	2.048	.000	-22.21	-7.12
n-heksan 25%	n-heksan 12,5%	.333	2.048	1.000	-7.21	7.88
	n-heksan 50%	.333	2.048	1.000	-7.21	7.88
	etil asetat 12,5%	-3.667	2.048	.884	-11.21	3.88
	etil asetat 25%	-5.000	2.048	.506	-12.55	2.55
	etil asetat 50%	-12.333*	2.048	.000	-19.88	-4.79
	air 12,5	-2.333	2.048	.997	-9.88	5.21
	air 25%	-1.667	2.048	1.000	-9.21	5.88
	air 50^%	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88
	ekstrak etanol 12,5%	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88
	ekstak etanol 25%	-4.000	2.048	.808	-11.55	3.55
	ekstrak etanol 50%	-7.333	2.048	.063	-14.88	.21
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-17.000*	2.048	.000	-24.55	-9.45
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-16.000*	2.048	.000	-23.55	-8.45
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.333*	2.048	.000	-21.88	-6.79
n-heksan 50%	n-heksan 12,5%	.000	2.048	1.000	-7.55	7.55
	n-heksan 25%	-.333	2.048	1.000	-7.88	7.21
	etil asetat 12,5%	-4.000	2.048	.808	-11.55	3.55
	etil asetat 25%	-5.333	2.048	.405	-12.88	2.21
	etil asetat 50%	-12.667*	2.048	.000	-20.21	-5.12
	air 12,5	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88

	air 25%	-2.000	2.048	.999	-9.55	5.55
	air 50^%	-3.000	2.048	.972	-10.55	4.55
	ekstrak etanol 12,5%	-3.000	2.048	.972	-10.55	4.55
	ekstak etanol 25%	-4.333	2.048	.715	-11.88	3.21
	ekstrak etanol 50%	-7.667*	2.048	.044	-15.21	-1.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-17.333*	2.048	.000	-24.88	-9.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-16.333*	2.048	.000	-23.88	-8.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.667*	2.048	.000	-22.21	-7.12
etil asetat 12,5%	n-heksan 12,5%	4.000	2.048	.808	-3.55	11.55
	n-heksan 25%	3.667	2.048	.884	-3.88	11.21
	n-heksan 50%	4.000	2.048	.808	-3.55	11.55
	etil asetat 25%	-1.333	2.048	1.000	-8.88	6.21
	etil asetat 50%	-8.667*	2.048	.013	-16.21	-1.12
	air 12,5	1.333	2.048	1.000	-6.21	8.88
	air 25%	2.000	2.048	.999	-5.55	9.55
	air 50^%	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	ekstrak etanol 12,5%	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	ekstak etanol 25%	-.333	2.048	1.000	-7.88	7.21
	ekstrak etanol 50%	-3.667	2.048	.884	-11.21	3.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-13.333*	2.048	.000	-20.88	-5.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-12.333*	2.048	.000	-19.88	-4.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-10.667*	2.048	.001	-18.21	-3.12
etil asetat 25%	n-heksan 12,5%	5.333	2.048	.405	-2.21	12.88
	n-heksan 25%	5.000	2.048	.506	-2.55	12.55
	n-heksan 50%	5.333	2.048	.405	-2.21	12.88
	etil asetat 12,5%	1.333	2.048	1.000	-6.21	8.88
	etil asetat 50%	-7.333	2.048	.063	-14.88	.21
	air 12,5	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
	air 25%	3.333	2.048	.938	-4.21	10.88
	air 50^%	2.333	2.048	.997	-5.21	9.88
	ekstrak etanol 12,5%	2.333	2.048	.997	-5.21	9.88
	ekstak etanol 25%	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	ekstrak etanol 50%	-2.333	2.048	.997	-9.88	5.21
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-12.000*	2.048	.000	-19.55	-4.45
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-11.000*	2.048	.001	-18.55	-3.45
kontrol positif (kotrimoksazol)	-9.333*	2.048	.006	-16.88	-1.79	
etil asetat 50%	n-heksan 12,5%	12.667*	2.048	.000	5.12	20.21
	n-heksan 25%	12.333*	2.048	.000	4.79	19.88
	n-heksan 50%	12.667*	2.048	.000	5.12	20.21
	etil asetat 12,5%	8.667*	2.048	.013	1.12	16.21
	etil asetat 25%	7.333	2.048	.063	-.21	14.88

	air 12,5	10.000*	2.048	.002	2.45	17.55
	air 25%	10.667*	2.048	.001	3.12	18.21
	air 50^%	9.667*	2.048	.004	2.12	17.21
	ekstrak etanol 12,5%	9.667*	2.048	.004	2.12	17.21
	ekstak etanol 25%	8.333*	2.048	.020	.79	15.88
	ekstrak etanol 50%	5.000	2.048	.506	-2.55	12.55
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-4.667	2.048	.612	-12.21	2.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-3.667	2.048	.884	-11.21	3.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-2.000	2.048	.999	-9.55	5.55
air 12,5	n-heksan 12,5%	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
	n-heksan 25%	2.333	2.048	.997	-5.21	9.88
	n-heksan 50%	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
	etil asetat 12,5%	-1.333	2.048	1.000	-8.88	6.21
	etil asetat 25%	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88
	etil asetat 50%	-10.000*	2.048	.002	-17.55	-2.45
	air 25%	.667	2.048	1.000	-6.88	8.21
	air 50^%	-.333	2.048	1.000	-7.88	7.21
	ekstrak etanol 12,5%	-.333	2.048	1.000	-7.88	7.21
	ekstak etanol 25%	-1.667	2.048	1.000	-9.21	5.88
	ekstrak etanol 50%	-5.000	2.048	.506	-12.55	2.55
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.667*	2.048	.000	-22.21	-7.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-13.667*	2.048	.000	-21.21	-6.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-12.000*	2.048	.000	-19.55	-4.45
air 25%	n-heksan 12,5%	2.000	2.048	.999	-5.55	9.55
	n-heksan 25%	1.667	2.048	1.000	-5.88	9.21
	n-heksan 50%	2.000	2.048	.999	-5.55	9.55
	etil asetat 12,5%	-2.000	2.048	.999	-9.55	5.55
	etil asetat 25%	-3.333	2.048	.938	-10.88	4.21
	etil asetat 50%	-10.667*	2.048	.001	-18.21	-3.12
	air 12,5	-.667	2.048	1.000	-8.21	6.88
	air 50^%	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55
	ekstrak etanol 12,5%	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55
	ekstak etanol 25%	-2.333	2.048	.997	-9.88	5.21
	ekstrak etanol 50%	-5.667	2.048	.315	-13.21	1.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-15.333*	2.048	.000	-22.88	-7.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.333*	2.048	.000	-21.88	-6.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-12.667*	2.048	.000	-20.21	-5.12
air 50^%	n-heksan 12,5%	3.000	2.048	.972	-4.55	10.55
	n-heksan 25%	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
	n-heksan 50%	3.000	2.048	.972	-4.55	10.55
	etil asetat 12,5%	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55

	etil asetat 25%	-2.333	2.048	.997	-9.88	5.21
	etil asetat 50%	-9.667 [*]	2.048	.004	-17.21	-2.12
	air 12,5	.333	2.048	1.000	-7.21	7.88
	air 25%	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	ekstrak etanol 12,5%	.000	2.048	1.000	-7.55	7.55
	ekstak etanol 25%	-1.333	2.048	1.000	-8.88	6.21
	ekstrak etanol 50%	-4.667	2.048	.612	-12.21	2.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.333 [*]	2.048	.000	-21.88	-6.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-13.333 [*]	2.048	.000	-20.88	-5.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-11.667 [*]	2.048	.000	-19.21	-4.12
ekstrak etanol 12,5%	n-heksan 12,5%	3.000	2.048	.972	-4.55	10.55
	n-heksan 25%	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
	n-heksan 50%	3.000	2.048	.972	-4.55	10.55
	etil asetat 12,5%	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55
	etil asetat 25%	-2.333	2.048	.997	-9.88	5.21
	etil asetat 50%	-9.667 [*]	2.048	.004	-17.21	-2.12
	air 12,5	.333	2.048	1.000	-7.21	7.88
	air 25%	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	air 50^%	.000	2.048	1.000	-7.55	7.55
	ekstak etanol 25%	-1.333	2.048	1.000	-8.88	6.21
	ekstrak etanol 50%	-4.667	2.048	.612	-12.21	2.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-14.333 [*]	2.048	.000	-21.88	-6.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-13.333 [*]	2.048	.000	-20.88	-5.79
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-11.667 [*]	2.048	.000	-19.21	-4.12
ekstak etanol 25%	n-heksan 12,5%	4.333	2.048	.715	-3.21	11.88
	n-heksan 25%	4.000	2.048	.808	-3.55	11.55
	n-heksan 50%	4.333	2.048	.715	-3.21	11.88
	etil asetat 12,5%	.333	2.048	1.000	-7.21	7.88
	etil asetat 25%	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55
	etil asetat 50%	-8.333 [*]	2.048	.020	-15.88	-.79
	air 12,5	1.667	2.048	1.000	-5.88	9.21
	air 25%	2.333	2.048	.997	-5.21	9.88
	air 50^%	1.333	2.048	1.000	-6.21	8.88
	ekstrak etanol 12,5%	1.333	2.048	1.000	-6.21	8.88
	ekstrak etanol 50%	-3.333	2.048	.938	-10.88	4.21
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-13.000 [*]	2.048	.000	-20.55	-5.45
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-12.000 [*]	2.048	.000	-19.55	-4.45
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-10.333 [*]	2.048	.002	-17.88	-2.79
ekstrak etanol 50%	n-heksan 12,5%	7.667 [*]	2.048	.044	.12	15.21
	n-heksan 25%	7.333	2.048	.063	-.21	14.88
	n-heksan 50%	7.667 [*]	2.048	.044	.12	15.21

	etil asetat 12,5%	3.667	2.048	.884	-3.88	11.21
	etil asetat 25%	2.333	2.048	.997	-5.21	9.88
	etil asetat 50%	-5.000	2.048	.506	-12.55	2.55
	air 12,5	5.000	2.048	.506	-2.55	12.55
	air 25%	5.667	2.048	.315	-1.88	13.21
	air 50^%	4.667	2.048	.612	-2.88	12.21
	ekstrak etanol 12,5%	4.667	2.048	.612	-2.88	12.21
	ekstak etanol 25%	3.333	2.048	.938	-4.21	10.88
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-9.667*	2.048	.004	-17.21	-2.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-8.667*	2.048	.013	-16.21	-1.12
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-7.000	2.048	.091	-14.55	.55
kontrol positif (kotrimoksazol)	n-heksan 12,5%	17.333*	2.048	.000	9.79	24.88
	n-heksan 25%	17.000*	2.048	.000	9.45	24.55
	n-heksan 50%	17.333*	2.048	.000	9.79	24.88
	etil asetat 12,5%	13.333*	2.048	.000	5.79	20.88
	etil asetat 25%	12.000*	2.048	.000	4.45	19.55
	etil asetat 50%	4.667	2.048	.612	-2.88	12.21
	air 12,5	14.667*	2.048	.000	7.12	22.21
	air 25%	15.333*	2.048	.000	7.79	22.88
	air 50^%	14.333*	2.048	.000	6.79	21.88
	ekstrak etanol 12,5%	14.333*	2.048	.000	6.79	21.88
	ekstak etanol 25%	13.000*	2.048	.000	5.45	20.55
	ekstrak etanol 50%	9.667*	2.048	.004	2.12	17.21
	kontrol positif (kotrimoksazol)	1.000	2.048	1.000	-6.55	8.55
	kontrol positif (kotrimoksazol)	2.667	2.048	.990	-4.88	10.21
kontrol positif (kotrimoksazol)	n-heksan 12,5%	16.333*	2.048	.000	8.79	23.88
	n-heksan 25%	16.000*	2.048	.000	8.45	23.55
	n-heksan 50%	16.333*	2.048	.000	8.79	23.88
	etil asetat 12,5%	12.333*	2.048	.000	4.79	19.88
	etil asetat 25%	11.000*	2.048	.001	3.45	18.55
	etil asetat 50%	3.667	2.048	.884	-3.88	11.21
	air 12,5	13.667*	2.048	.000	6.12	21.21
	air 25%	14.333*	2.048	.000	6.79	21.88
	air 50^%	13.333*	2.048	.000	5.79	20.88
	ekstrak etanol 12,5%	13.333*	2.048	.000	5.79	20.88
	ekstak etanol 25%	12.000*	2.048	.000	4.45	19.55
	ekstrak etanol 50%	8.667*	2.048	.013	1.12	16.21
	kontrol positif (kotrimoksazol)	-1.000	2.048	1.000	-8.55	6.55
	kontrol positif (kotrimoksazol)	1.667	2.048	1.000	-5.88	9.21
kontrol positif	n-heksan 12,5%	14.667*	2.048	.000	7.12	22.21
	n-heksan 25%	14.333*	2.048	.000	6.79	21.88

(kontrimoksa n-heksan 50% zol)	14.667*	2.048	.000	7.12	22.21
etil asetat 12,5%	10.667*	2.048	.001	3.12	18.21
etil asetat 25%	9.333*	2.048	.006	1.79	16.88
etil asetat 50%	2.000	2.048	.999	-5.55	9.55
air 12,5	12.000*	2.048	.000	4.45	19.55
air 25%	12.667*	2.048	.000	5.12	20.21
air 50%	11.667*	2.048	.000	4.12	19.21
ekstrak etanol 12,5%	11.667*	2.048	.000	4.12	19.21
ekstak etanol 25%	10.333*	2.048	.002	2.79	17.88
ekstrak etanol 50%	7.000	2.048	.091	-.55	14.55
kontrol positif (kotrimoksazol)	-2.667	2.048	.990	-10.21	4.88
kontrol positif (kotrimoksazol)	-1.667	2.048	1.000	-9.21	5.88

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

Homogeneous Subsets**Diameter**Tukey HSD^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
n-heksan 12,5%	3	7.67				
n-heksan 50%	3	7.67				
n-heksan 25%	3	8.00	8.00			
air 25%	3	9.67	9.67			
air 12,5	3	10.33	10.33			
air 50^%	3	10.67	10.67			
ekstrak etanol 12,5%	3	10.67	10.67			
etil asetat 12,5%	3	11.67	11.67			
ekstak etanol 25%	3	12.00	12.00			
etil asetat 25%	3	13.00	13.00	13.00		
ekstrak etanol 50%	3		15.33	15.33	15.33	
etil asetat 50%	3			20.33	20.33	20.33
kontrol positif (kotrimoksazol)	3				22.33	22.33
kontrol positif (kotrimoksazol)	3					24.00
kontrol positif (kotrimoksazol)	3					25.00
Sig.		.405	.063	.063	.091	.612

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media

1. BHI (Brain Heart Infusion)

• Infus dari otak sapi	200,0 g
• Infus dari hati sapi	250,0 g
• Protease peptone	10,0 g
• Dektrosa	2,0 g
• NaCl	5,0 g
• Dinatrium fosfate	5,0 g
• Aquadest	ad 1000,0 ml
• pH	7,4

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

2. VJA (Vogel Jhonson Agar)

• Tryptone	10,0 g
• Ekstrak ragi	5,0 g
• Dipotasium pospat	5,0 g
• Manitol	10,0 g
• Lithium chlorida	5,0 g
• Glisine	10,0 g
• Fenol merah	0,025 g

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan pada suhu 50°C dan ditambahkan kalium tellurit kemudian dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

3. MHA (Mueller Hintlon Agar)

• Beef, dehidrated infusion	300,0 g
• Casein hydrolysate	17,5 g
• Strach	1,5 g
• Agar-agar	17 g

Suspensikan 38 gram bahan di atas dalam 1 liter aquadest. Panaskan sampai larut sempurna dan sterilisasi pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit (Depkes, 1994).