

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOLIK DAUN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens* (Lour) Merr)
TERHADAP *Salmonella typhi***

KARYA TULIS ILMIAH

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh :

**Vita Andarista Wahyu Pratama
32142749 J**

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya Tulis Ilmiah :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOLIK DAUN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura Procumbens* (Lour) Merr)
TERHADAP *Salmonella typhi***

Oleh :

**Vita Andarista Wahyu Pratama
32142749 J**

Surakarta, 13 Mei 2017

Menyetujui Untuk Ujian Sidang KTI
Pembimbing



Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.
NIS: 01201310161180

LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah :




**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOLIK DAUN
SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens* (Lour) Merr)
TERHADAP *Salmonella typhi***

Oleh :

**Vita Andarista Wahyu Pratama
32142749 J**

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji

Pada Tanggal 19 Mei 2017

	Nama	Tanda Tangan
Penguji I	: Dra. Nony Puspawati, M.Si	
Penguji II	: Tri Mulyowati, SKM., M.Sc	
Penguji III	: Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc	

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi


Prof. dr. Marsetyawan HNE S. M.Sc., Ph.D
NIDN 0029094802

Ketua Program Studi
D-III Analis Kesehatan


Dra. Nur Hidayati, M.Pd
NIS. 01.98.037

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Moto :

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain).

Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”.

(QS. Al-Insyirah, 6-8)

YAKIN, IKHLAS & ISTIQOMAH :

- # Berangkat dengan penuh keyakinan
- # Berjalan dengan penuh keikhlasan, dan
- # Istiqomah dalam menghadapi cobaan

Persembahan :

- ❖ Allah S.W.T untuk segala anugerah, rahmat dan nikmatNya.
- ❖ Alm. Ayah terkasih, kenanganmu akan menjadi keindahan hidupku & Ibu, yang selalu setia mendukung dan menguatkanmu di dalam doa.
- ❖ Adik-adikku yang selalu menghibur disaat saya lelah.
- ❖ Bapak Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc selaku pembimbing yang memberikan bimbingan kepada penulis selama proses menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.
- ❖ Teman-teman D3 ANKES angkatan 2014 dan Almamaterku.....

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah. SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “ Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) Terhadap *Salmonella typhi* “. Karya tulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sebagai D-III Analis Kesehatan di Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan Karya Tulis ini tidak lepas dari bimbingan doa dan bantuan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih, kepada :

1. Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatya, M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
2. Dra. Nur Hidayati, M.Pd selaku Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas setia Budi.
3. Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing KTI yang telah memberi bimbingan, masukan, nasehat kepada penulis selama penyusunan karya tulis ini.
4. Bapak dan Ibu dosen D-III Analis Kesehatan Universitas Setia Budi yang telah memberikan bekal ilmu dan pengetahuan.
5. Staf Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi yang telah membantu dan membimbing penulis dalam melaksanakan praktek Karya Tulis Ilmiah dengan baik.

6. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) yang telah berkenan menjalin kerjasama untuk mendapatkan sampel daun sambung nyawa dalam pelaksanaan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Orang tuaku, adik-adikku terima kasih atas kasih sayang, dukungan, dan doanya hingga selesainya Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Kakakku Dini, mas Aji, sahabatku Nanda, Ayu, Anisya dan teman sekaligus adikku Putri, Eva, Rinda terimakasih atas bantuan, dukungan dan semangatnya.
9. Teman-temanku D-III Analis Kesehatan terimakasih atas semangat dan kebersamaannya selama 3 tahun ini.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat bagi semua pihak. Terimakasih.

Surakarta, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i> (Lour) Merr)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Sambung Nyawa ...	6
2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Sambung Nyawa.....	6
2.2 Simplisia.....	8
2.2.1 Pengertian Simplisia	8
2.2.2 Proses Pembuatan Simplisia	8
2.2.3 Proses Pengeringan Simplisia	8
2.3 Ekstraksi.....	9

2.3.1 Pengertian Ekstraksi.....	9
2.3.2 Metode Ekstraksi Maserasi.....	9
2.3.3 Pelarut.....	10
2.4 Bakteri.....	10
2.4.1 Definisi.....	10
2.5 <i>Salmonella typhi</i>	10
2.5.1 Patogenesis <i>Salmonella typhi</i>	12
2.6 Aktivitas Antibakteri.....	12
2.6.1 Antibakteri.....	12
2.6.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	13
2.7 Hipotesis.....	14
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	15
3.1.1 Tempat Penelitian.....	15
3.1.2 Waktu Penelitian.....	15
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	15
3.2.1 Bahan Penelitian.....	15
3.2.2 Alat Penelitian.....	16
3.3 Variabel Penelitian.....	16
3.3.1 Identifikasi Variabel Utama.....	16
3.3.2. Klasifikasi Variabel Utama.....	16
3.4 Prosedur Kerja.....	17
3.4.1 Deskripsi Tanaman.....	17
3.4.2 Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa.....	18
3.4.3 Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk Daun Sambung Nyawa.....	18

3.4.4 Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Sambung Nyawa..	19
3.4.5 Uji Bebas Metanol.....	19
3.4.6 Pembuatan Prosentase Konsentrasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa	20
3.4.7 Pembuatan Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	20
3.4.8 Pembuatan Media <i>Brain Heart Infusion</i> (BHI)	20
3.4.9 Pembuatan Media <i>Bismuth Sulfit Infusion</i> (BSA)	21
3.4.10 Pembuatan suspensi <i>Bakteri Salmonella typhi</i>	21
3.4.11 Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> dengan Pengecatan Gram	21
3.4.12 Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> pada media <i>Bismuth Sulfit Agar</i> (BSA).....	22
3.4.13 Inokulasi Bakteri <i>Salmonella typhi</i> dengan Uji Biokimia	22
3.4.14 Pengujian Aktivitas Antibakteri <i>Salmonella typhi</i>	22
3.5 Analisis Data	23
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil Penelitian.....	24
4.1.1 Hasil Deskripsi Tanaman Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i> (Lour) Merr).....	24
4.1.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa	24
4.1.3 Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Samung Nyawa	25
4.1.4 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa	25
4.1.5 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Sambung Nyawa	26
4.1.6 Hasil Uji Bebas Metanol Ekstrak Daun Sambung Nyawa.	27
4.1.7 Hasil Pembuatan Suspensi <i>Salmonella typhi</i>	27
4.1.8 Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i>	28

4.1.8.1 Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> dengan Pengecatan Gram	28
4.1.8.2 Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> pada BSA (<i>Bismuth Sulfit Agar</i>).....	28
4.1.8.3 Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> dengan Uji Biokimia.....	29
4.1.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
4.2 Pembahasan	32
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1 Kesimpulan.....	37
5.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	P-1
LAMPIRAN	L-1

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> dengan Pengecatan Gram...	28
Gambar 2. Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> pada medium BSA.....	29
Gambar 3. Hasil Identifikasi <i>Salmonella typhi</i> dengan Uji Biokimia	29
Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Salmonella typhi</i>	31
Gambar 5. Diagram Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa	20
Tabel 2. Hasil Penetapan kadar Air.....	25
Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia	26
Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sambung Nyawa	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.	L-1
Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian	L-2
Lampiran 3. Identifikasi Bakteri	L-4
Lampiran 4. Hasil Peneltian	L-6
Lampiran 5. Komposisi Media Reagen	L-8
Lampiran 6. Uji Statistika	L-11
Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak	L-14

INTISARI

Pratama, VAW. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) Terhadap *Salmonella typhi*. Program Studi D-III Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta. Pembimbing : Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.

Salmonella typhi merupakan salah satu bakteri penyebab utama penyakit bawaan pangan dan minuman pada manusia dan juga merupakan strain bakteri yang menyebabkan terjadinya demam tifoid yang dapat menginvasi usus halus. Sambung Nyawa merupakan salah satu alternatif pengobatan saluran pencernaan karena mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid, saponin dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan mengetahui konsentrasi yang mempunyai daya hambat terbesar.

Sambung Nyawa yang diperoleh dari (B2P2TOOT) Tawangmangu, kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Sebanyak 100 gram serbuk daun Sambung Nyawa diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Maserat kemudian ditambahkan DMSO 2% dan dibuat seri konsentrasi, 25%, 50%, 75% dan 100%. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi untuk mengetahui diameter zona radikal terhadap *Salmonella typhi*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Ekstrak daun sambung Nyawa pada konsentrasi 100% mempunyai antibakteri paling baik dengan diameter zona hambat sebesar 19,67 mm.

Kata kunci : ekstrak metanolik, daun Sambung Nyawa, *Salmonella typhi*, difusi.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan proses masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh (seperti bakteri, virus, jamur dan parasit), yang saat dalam keadaan normal mikroorganisme tersebut tidak terdapat di dalam tubuh, yang mana mikroorganisme tersebut juga dapat menyebabkan penyakit yang banyak diderita masyarakat di Indonesia (Zulmiyusrini, 2015). Infeksi penyakit tersebut dapat disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Vibrio cholera*. Bakteri itu dapat menimbulkan infeksi pada usus (Aryanti dkk, 2007). *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang dianggap sebagai penyebab utama penyakit bawaan pangan dan minuman pada manusia.

Salmonella typhi yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri patogen bagi manusia dan hewan. Angka kesakitan akibat infeksi bakteri *Salmonella typhi* sangat tinggi. Angka kejadian infeksi *Salmonella* diseluruh dunia mencapai lebih dari 12,5 juta pertahun dan di Amerika Serikat diperkirakan sekitar 2 juta penderita salmonellosis setiap tahun. Infeksi *Salmonella* terjadi pada saluran pencernaan dan terkadang menyebar lewat peredaran darah keseluruh organ tubuh (Radji, 2011).

Infeksi *Salmonella* pada manusia bervariasi, yaitu dapat berupa infeksi yang dapat sembuh sendiri (gastroenteritis), tetapi dapat juga menjadi kasus yang serius apabila terjadi penyebaran sistemik (demam enteric) (Radji, 2010). *Salmonella typhi* termasuk dalam strain bakteri yang menyebabkan terjadinya demam tifoid. Demam tifoid merupakan penyakit

sistemik yang mengancam nyawa, karena dapat menginvasi usus halus. *Salmonella* yang tertelan akan mencapai usus halus, dari usus halus salmonella memasuki saluran limfatik dan kemudian masuk ke aliran darah. Salmonella dibawa ke berbagai organ oleh darah salah satunya usus. Organisme tersebut memperbanyak diri di jaringan limfosit usus dan diekskresikan dalam feses (Jawetz dkk, 2012).

Berbagai macam penyakit dan keluhan, baik ringan maupun berat, dapat diobati dengan memanfaatkan ramuan dan tumbuh-tumbuhan tertentu. Tumbuh-tumbuhan tersebut mudah didapat disekitar kita dan mempunyai khasiat yang baik untuk kesehatan tubuh. Para ahli diberbagai Negara seperti Jerman, India, Cina, Australia, dan Indonesia tidak pernah berhenti mengadakan penelitian dan pengujian berbagai tumbuhan yang secara tradisional dipakai oleh masyarakat untuk penyembuhan penyakit tertentu. Para peneliti tersebut menemukan adanya kandungan zat berkhasiat tertentu didalam tumbuh-tumbuhan yang telah lama dipakai oleh nenek moyang kita sebagai ramuan tradisional (Latief, 2012).

Indonesia dikenal dengan kekayaan alam yang melimpah terutama dengan berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Pengobatan herbal banyak dibuktikan melalui berbagai penelitian. Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai tanaman obat yakni daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) (Musanti dkk, 2016).

Tanaman Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) adalah tanaman semak semusim merupakan terna menahun termasuk family Compositae. Tanaman ini sering rancu dengan tanaman daun Dewa (*Gynura pseudochina* Dc), namun kedua tanaman ini dapat dibedakan dari

umbi yang hanya terdapat pada tanaman daun Dewa. Daun Sambung Nyawa telah dimanfaatkan penduduk Indonesia sebagai obat alami untuk penyembuhan penyakit limpa, ginjal, kulit, menurunkan gula darah, menurunkan tekanan darah, angtinokarsinogenik, antibiotic dan lain-lain (Aryanti dkk, 2007). Tanaman ini mengandung flavonoid (7, 3, 4 trihidoksi flavon), glikosida, kuersetin, asam fenoleat (terdiri dari asam kafeat, asam P-kumarat, asam P-hidroksi benzoate, asam vanilat), triterpenoid, saponin, steroid dan minyak astiri (Dhramartrianingrum, 2012). Menurut penelitian Aryanti dkk (2007), batang tanaman sambung nyawa yang berumur 4 bulan yang diekstrak dengan etanol dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella thyphimurium*.

Menurut Herbie (2015) sambung nyawa mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan steroid (triterpenoid). Berdasarkan kandungan tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tanaman Sambung Nyawa terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Uji aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dilakukan dengan menggunakan metode difusi dan ekstraksi metode maserasi dengan metanolik sebagai pelarutnya. Hal ini dilakukan untuk meneliti lebih lanjut tentang manfaat daun sambung nyawa sebagai antibakteri *Salmonella typhi*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak metanolik daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ?
2. Apakah terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak metanolik daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanolik daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) terhadap *Salmonella typhi*.
2. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak metanolik pada tanaman daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr).

1.4 Manfaat Penelitian

a. Bagi peneliti :

Menambah wawasan ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) sebagai antibakteri untuk peningkatan pelayanan kesehatan.

b. Bagi peneliti lain :

Dapat memberikan sumbangan pemikiran sebagai motivasi dalam rangka meneliti lebih lanjut mengenai segala hal yang berkaitan dengan pemanfaatan daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr).

c. Bagi masyarakat

Dapat memberikan informasi dan pengetahuan mengenai manfaat tanaman Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Sambung Nyawa

Adapun klasifikasi tanaman Sambung Nyawa adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Spermatophyta
Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Astelares
Family	: Asteraceae (Compositae)
Genus	: <i>Gynura</i>
Spesies	: <i>Gynura procumbens</i> (Lour) Merr. (Herbie, 2015).

Daun berbentuk helaian, bentuk bulat telur, bulat telur memanjang, ukuran panjang 3,5 – 12,5 cm, lebar 1 – 5,5 cm, ujung tumpul, runcing, meruncing pendek, pangkal membulat atau rompong. Tepi daun rata, bergelombang atau agak bergerigi. Tangkai daun 0,5 – 1,5 cm. Permukaan daun kedua sisi gundul atau berambut halus.

2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Sambung Nyawa

Tanaman Sambung Nyawa mempunyai kandungan kimia alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Winasis, 2015).

a. Alkaloid

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak

terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Santoso dkk, 2012).

b. Saponin

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membrane sel. Struktur yang berperan sebagai antibakteri adalah aglikon yang masuk ke dalam lapisan lipid bilayer bakteri (Nuryanto, 2014). Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa sewaktu mengekstraksi tumbuhan (Firmansyah, 2015).

c. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang larut dalam air dan mempunyai manfaat yaitu sebagai antibakteri. Senyawa ini memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel 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 hilangnya makromolekul dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan lisis (Santoso dkk, 2012).

d. Tanin

Senyawa tanin termasuk kedalam senyawa polifenol yang artinya senyawa ini memiliki bagian berupa fenolik. Adanya tanin sebagai antibakteri akan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini akan

menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri menjadi mati (Dwijayanti, 2016).

2.2 Simplisia

2.2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh. Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah (Herbie, 2015).

2.2.2 Proses Pembuatan Simplisia

Adapun tahapan pembuatan simplisia yaitu, pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan, dan pemeriksaan mutu (Anggisahada, 2012).

2.2.3 Proses Pengeringan Simplisia

Proses pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Hal tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh simplisia

kering yang tidak mudah mengalami kerusakan selama pengeringan (Prasetyo dkk, 2013).

2.3 Ekstraksi

2.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat, ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi, ekstraksi sinambung (Prima, 2012).

2.3.2 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak, dan lain-lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Prima, 2012).

2.3.3 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol karena pelarut tersebut bersifat sebagai polar mampu melarutkan unsur-unsur bioaktif pada tanaman herbal. Penggunaan pelarut metanol dalam proses ekstraksi menghasilkan jumlah ekstrak yang besar (Sumihe, 2014).

2.4 Bakteri

2.4.1 Definisi

Bakteri merupakan kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel. Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu bentuk basil atau batang, bulat atau spiral. Dinding sel bakteri mengandung kompleks karbohidrat dan protein yang disebut peptidoglikan. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara membelah diri menjadi dua sel yang berukuran sama. Nutrisi pada bakteri umumnya menggunakan bahan kimia organik yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati (Radji,2010).

2.5 *Salmonella typhi*

Menurut Widyaningsih (2015), bakteri *Salmonella typhi* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bakteria
Phylum	: Eubacteria
Kelas	: Prateobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella

Spesies : *Salmonella typhi*

Salmonella merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak berspora, tidak bersimpai, tidak memiliki fimbria, mempunyai flagel peritrik dan berukuran $1-3,5 \mu\text{m} \times 0,5-0,8 \mu\text{m}$. *Salmonella typhi* dapat bergerak tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif pada suhu $15-41^{\circ}\text{C}$. Dalam pembenihan agar Salmonella-Shigella, agar Endo, dan agar MacConkey, koloni *Salmonella* berbentuk bulat, kecil dan tidak berwarna. Pada media Wilson-Blair agar, koloni *Salmonella* berwarna hitam (Radji,2010).

Menurut Radji (2010), *Salmonella* mempunyai tiga jenis antigen utama, yaitu sebagai berikut :

a. Antigen somatik atau antigen O

Bagian dinding sel bakteri yang tahan terhadap pemanasan 100°C , alcohol, dan asam. Struktur antigen somatik mengandung lipopolisakarida.

b. Antigen flagel atau antigen H

Antigen ini mengandung beberapa unsure imunologik. Pada *Salmonella*, antigen ditemukan dalam 2 fase, yaitu 1 spesifik dan fase 2 tidak spesifik. Antigen H dapat dirusak oleh asam, alcohol, dan pemanasan diatas 60°C .

c. Antigen Vi atau antigen kapsul

Merupakan polimer polisakarida bersifat asam yang terdapat dibagian paling luar badan bakteri. Antigen ini dapat dirusak oleh asam, fenol, dan pemanasan 60°C selama 1 jam.

2.5.1 Patogenesis *Salmonella typhi*

Patogenitas merupakan kemampuan suatu organisme untuk menyebabkan penyakit. Proses infeksi terjadi ketika mikroorganisme menyerang hospes, yang berarti mikroorganisme masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak. Salmonellosis adalah infeksi yang disebabkan oleh *Salmonella* yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Orang yang terinfeksi akan mengalami gejala demam, diare, yang sangat parah sehingga harus dirawat di rumah sakit. Gejala ini dapat berlangsung selama 7 hari.

Virulensi *Salmonella* disebabkan oleh :

- a. Kemampuan menginvasi sel-sel epitel inang,
- b. Mempunyai antigen permukaan yang terdiri atas simpai lipopolisakarida,
- c. Kemampuan melakukan replikasi interseluler,
- d. Menghasilkan beberapa toksin spesifik,
- e. Kemampuan berkolonisasi pada ileum dan koloni
- f. Kemampuan menginvasi lapisan epitel intestin dan berkembang didalam sel-sel limfoid (Radji, 2010).

2.6 Aktivitas Antibakteri

2.6.1 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroba yang menyebabkan kerugian. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat kebutuhan permeabilitas dinding sel, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis, asam nukleat dan protein.

2.6.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Menurut Dwijayanti (2016), uji ini digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan dan untuk memperoleh sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Penentuan aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi, yaitu diantaranya :

a. Metode disc diffusion (test Kirby & Bauer)

Pada metode ini piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan agar.

b. Metode E-test

Metode ini digunakan untuk mengestimasi KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastic yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

c. Ditch-plate technique

Pada metode ini sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar

dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri.

d. Cup-plate technique

Metode ini serupa dengan metode disc-diffusion, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Pratiwi,2008).

2.7 Hipotesis

Berdasarkan permasalahan dalam penelitian hipotesisnya adalah :

- a. Ada pengaruh Ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*.
- b. Terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak metanolik daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi, Surakarta.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dimulai pada Maret dan April 2017.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

a. Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah ekstrak maserasi daun Sambung Nyawa.

b. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

c. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Hueller Hinton Agar* (MHA), *Buffer Peptone Water* (BPW), *Selenite F Broth*, media *Bismuth Sulfit Agar* (BSA), dan uji biokimia medium yang digunakan adalah KIA, LIA, SIM dan CITRAT.

d. Bahan-bahan lain

Cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, Spirtus, Minyak imersi, Metanol, Alkohol 70%, DMSO 2%, Standard Mc Farland 0,5, Kloramphenikol.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian yaitu: tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, ayakan nomor 40 mesh, evaporator, oven, kertas saring, batang pengaduk, cawan petri steril, kapas lidi steril, lampu spirtus, label, clinipette, yellow tip, inkubator, ose, penggaris, boorprof, timbangan elektrik, pipet tetes, inkas, korek api, pipet volum, rak pengecatan, objek glass, autoclave, mikroskop, pinset steril, alat pelindung diri lengkap (APD) lengkap.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama adalah konsentrasi larutan yang diperoleh dari ekstrak maserasi daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) dengan pelarut metanol.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) terhadap *Salmonella typhi*.

3.3.2 Klasifikasi Variabel Utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian adalah konsentrasi ekstrak maserasi daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) dengan pelarut metanol.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Salmonella typhi*, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode ekstraksi.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri yang dipengaruhi oleh berbagai konsentrasi ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) yang dilihat dari diameter zona hambat yang diukur menggunakan jangka sorong.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Deskripsi Tanaman

Tahap pertama penelitian adalah melakukan deskripsi tanaman Sambung Nyawa. Oleh karena itu dilakukan determinasi tanaman di perpustakaan dan dibuktikan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

3.4.2 Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa

Tanaman daun Sambung Nyawa yang benar-benar kering dihaluskan dengan blender. Selanjutnya diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 mesh sehingga didapat serbuk daun Sambung Nyawa yang siap di ekstrak.

3.4.3 Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk Daun Sambung Nyawa

Identifikasi ini dilakukan untuk membuktikan kandungan kimia yang terdapat dalam serbuk tanaman daun Sambung Nyawa yang meliputi identifikasi senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin.

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak sebanyak 2 ml ditambahkan kloroform secukupnya. Kemudian ditambah 3 tetes amoniak dan 5 ml kloroform. Larutan disaring kedalam tabung reaksi dan filtrat ditambahkan asam sulfat 2N sebanyak 10 tetes. Filtrat dikocok dengan teratur kemudian dibiarkan beberapa lama sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2,5 ml kemudian ditambah dengan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid.

b. Identifikasi Saponin

Ekstrak sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambah aquadest dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setelah penambahan HCl 1 % (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

c. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 ml ditambah etanol dikocok, lalu dipanaskan selama 5 menit kemudian ditambahkan dengan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCL pekat. Terbentuknya warna merah tua menunjukkan reaksi positif (Ngajow, 2013).

d. Identifikasi Tanin

Ekstrak sebanyak 2 ml ditambah 20 ml aquadest kemudian didiamkan 5 menit , kemudian disaring. Filtrat yang didapat ditetesi FeCl_3 sebanyak 5 tetes. Hasil positif dtunjukkan dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman (Dwijayanti, 2016).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak Maserasi Daun Sambung Nyawa

Ditimbang daun Sambung Nyawa sebanyak 100 gram yang sudah diayak kemudian dimasukkan erlenmeyer, ditambah metanol sebanyak 1000 ml aduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari waktu maserasi selama 24 jam dalam perendaman dilakukan penggojokkan minimal 3 kali dalam sehari, rendaman tersebut disaring. Sebanyak 500 ml metanol ditambahkan lagi ke dalam ampas dan dimaserasi selama 24 jam. Maserasi dapat disaring sampai 3 kali. Hasil dipekatkan dengan vakum evaporator sampai didapat ekstrak kental (Fitriyani dkk, 2011).

3.4.5 Uji Bebas Metanol

Ekstrak daun Sambung Nyawa yang telah dipekatkan dilakukan uji bebas Metanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Hasil positif bebas metanol jika tidak tercium bau ester yang khas dari metanol.

3.4.6 Pembuatan Prosentase Konsentrasi Ekstrak Daun Sambung

Nyawa

Preparasi daun Sambung Nyawa dibuat dengan beberapa seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dilakukan dengan cara dilarutkan dengan DMSO 2%.

Tabel 1. Konsentrasi Pengenceran Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Konsentrasi ekstrak daun Sambung Nyawa	Ekstrak daun Sambung Nyawa (gram)	DMSO 2% (ml)
100%	2,0	2
75%	1,5	0,5
50%	1,0	1,0
25%	0,5	1,5

3.4.7 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang bahan *Mueller Hinton Agar* (MHA) 2,14 gram, dimasukkan kedalam becker glass dan ditambahkan aquadest sebanyak 60 ml selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 ml dan disumbat dengan kapas lalu disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril. Setelah dingin, medium padat dibungkus dengan kertas dan disimpan dalam kulkas.

3.4.8 Pembuatan Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Ditimbang bahan *Brain Heart Infusion Agar* (BHI) sebanyak 5 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah aquadest steril sebanyak 130 ml. disumbat dengan kapas lalu disterilkan dalam

autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan sampai suhu ± 50 °C selanjutnya di tuang ke dalam tabung reaksi.

3.4.9 Pembuatan Media *Bismuth Sulfit Agar (BSA)*

Ditimbang bahan *Bismuth Sulfit Agar (BSA)* sebanyak 2,10 gram dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian ditambah aquadest sebanyak 60 ml selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disumbat dengan kapas.. Didinginkan sampai suhu ± 50 ° C selanjutnya dituang ke cawan petri steril. Setelah memadat, medium dibungkus dengan kertas dan disimpan dalam kulkas.

3.4.10 Pembuatan Suspensi Bakteri *Salmonella typhi*

Mengambil biakan bakteri *Salmonella typhi* beberapa ose dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan BHI steril kemudian dicampur agar homogen. Bakteri tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lalu distandarkan dengan Larutan standart Mc Farland 0,5. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antibakteri *Salmonella typhi*.

3.4.11 Identifikasi *Salmonella typhi* dengan Pengecatan Gram

Kultur bakteri dari media *Brain Heart Infusion (BHI)* diambil sebanyak 1-2 ose bulat steril dan ditempatkan diatas objek glass steril. Suspensi diratakan dengan membentuk area preparat. Preparat dikeringkan pada suhu ruang dalam beberapa menit. Preparat dilewatkan di atas api spirtus untuk difiksasi. Selanjutnya preparat digenangi cat Gram A selama 3 menit dilanjutkan cat Gram B selama 2 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Preparat dicuci dengan Gram C hingga warna luntur. Preparat digenangi cat Gram D selama 1 menit, lalu dicuci dengan air

mengalir. Preparat dikeringkan dan diamati dengan mikroskop perbesaran 100x. Morfologi bakteri Gram negatif berbentuk batang, susunan menyebar.

3.4.12 Identifikasi *Salmonella typhi* pada media *Bismuth Sulfit Agar* (BSA)

Pada suspensi *Salmonella typhi* diinkubasi dengan pengenceran. Sampel dipipet 1 ml dimasukkan ke media *Buffer Pepton* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diambil beberapa ose dimasukkan ke media *Selenit* diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian di gores pada media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*) diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang dihasilkan berbentuk koloni mata ikan.

3.4.13 Inokulasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan Uji Biokimia

Koloni *Salmonella typhi* dari *Bismuth Sulfit Agar* diinokulasi dengan cara tusuk gores pada media KIA dan LIA, ditusuk pada media SIM dan digores pada media Citrat, kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam.

3.4.14 Pengujian Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*

1. Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi bakteri *Salmonella typhi* yang sudah distandarisasi kekeruhannya dan tunggu sebentar supaya cairan dapat meresap didalam kapas. Kemudian lidi dapat diangkat dan diperas dengan menekankan pada dinding tabung bagian dalam sambil diputar-putar.
2. Kapas lidi steril diratakan pada permukaan *Mueller Hinton Agar* sampai merata dan diamkan 5 menit.

3. Media *Mueller Hinton Agar* dibuat enam lubang sumuran dengan menggunakan *boorprof*. Satu sumuran untuk Kontrol positif, satu sumuran lagi untuk Kontrol negatif dan keempat sumuran diisi dengan ekstrak Sambung Nyawa.
4. Pengisian sumuran ekstrak daun Sambung Nyawa sebanyak 50 μ l. Keempat sumuran diisi dengan ekstrak maserasi daun Sambung Nyawa yang sudah diencerkan dengan aquadest dalam berbagai konsentrasi.
5. Media yang telah diisi dengan sampel ekstrak daun Sambung Nyawa tersebut, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
6. Pengamatan hasil diukur diameter zona hambat disekitar sumuran.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji *One Way Anova* (analisa varian satu arah) untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak daun Sambung Nyawa pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan uji Post Hoc (SNK) untuk menentukan perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun Sambung Nyawa.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Deskripsi Tanaman Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr)

Tanaman ini termasuk semak yang merupakan tanaman yang hidup bertahun-tahun. Bila daunnya ditumbuk, akan timbul bau sedikit harum. Tanaman ini mempunyai daun tunggal dan tersebar mengelilingi batang. Helai daun berwarna hijau muda dengan bentuk bulat telur. Panjang daun sampai 6 cm dan lebar 3,5 cm. Ujung daun runcing, pangkal daun membulat, pinggir daun bergerigi dangkal, tangkai daun 1,5 cm atau lebih. Kedua permukaan daun berambut halus dengan pertulangan menyirip (Winarto, 2003).

Tanaman Sambung Nyawa mempunyai batang lunak dan cenderung roboh. Pada bagian batang yang menempel ke tanah biasanya terbentuk akar. Batangnya bersegi agak lunak dan berair, hanya sedikit berkayu. Pada bagian ujung tidak berbulu atau berbulu jarang, bercabang, panjangnya sampai 3 meter atau lebih (Winarto, 2003).

4.1.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa

a. Pengeringan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun Sambung Nyawa yang sudah kering dan yang berkualitas baik. Sampel diambil dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

b. Pembuatan serbuk daun Sambung Nyawa

Daun Sambung Nyawa yang sudah mengalami proses pengeringan kemudian diserbuk dengan blender dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Serbuk hasil ayakan ini dinamakan simplisia daun Sambung Nyawa. Pembuatan serbuk ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian lebih efektif.

4.1.3 Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Sambung Nyawa

Penetapan kadar air pada serbuk daun Sambung Nyawa ini di peroleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Air

Nama Daun	Kadar Air (%)
Sambung Nyawa	7,42 %

Kadar air serbuk memenuhi persyaratan kadar air suatu serbuk simplisia yaitu tidak lebih dari 10 % (Emilan dkk, 2011).



4.1.4 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa



Serbuk daun Sambung Nyawa sebanyak 100 gram yang sudah diayak kemudian dimasukkan erlenmeyer, ditambah metanol sebanyak 1000 ml aduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari waktu maserasi selama 24 jam dalam perendaman dilakukan penggojokkan minimal 3 kali dalam

sehari, rendaman tersebut disaring. Sebanyak 500 ml metanol ditambahkan lagi ke dalam ampas dan dimaserasi selama 24 jam. Maserasi dapat disaring sampai 3 kali. Volume yang diperoleh sekitar 1500 ml. Cairan kemudian dipekatkan dengan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya diuapkan dengan oven pada suhu 40°C sehingga benar-benar menguap dan didapatkan ekstrak yang diinginkan.

4.1.5 Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Daun Sambung Nyawa

Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia

Kandungan kimia	Tes	Hasil	Gambar	Keterangan
Alkaloid	Serbuk + 5 ml kloroform + 3 tetes amoniak, dipanaskan, + 5 tetes H ₂ SO ₄ 2N + 3 tetes larutan Mayer.	Tidak terbentuk endapan putih		-
Saponin	Serbuk + air suling, dididihkan 2-3 menit, dinginkan, kocok kuat-kuat selama 10 detik, diamkan.	Terbentuk buih yang stabil setelah ditambah 1 tetes HCL 2 N		+

Flavonoid	Serbuk + 10 ml etanol, kocok, dipanaskan + serbuk Mg 0,2 g + 3 tetes HCl.	Terbentuk warna merah atau kuning atau jingga		+
Tanin	Serbuk + 10 ml aquadest, didiamkan 5 menit, saring. Filtrat + 5 tetes FeCl ₃ .	Terbentuk hijau kehitaman		+

4.1.6 Hasil Uji Bebas Metanol Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Hasil tes bebas metanol berdasarkan pemeriksaan menunjukkan bahwa ekstrak daun Sambung Nyawa sudah bebas dari pelarut metanol yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari metanol.

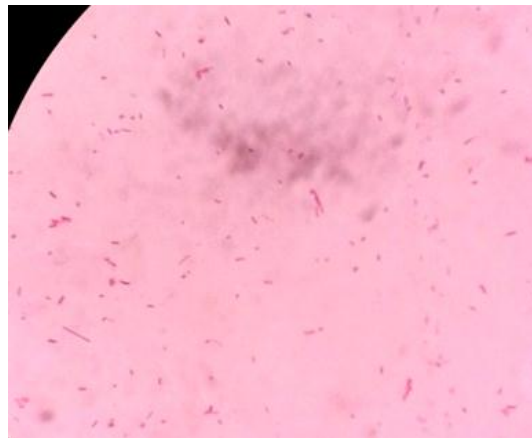
4.1.7 Hasil Pembuatan Suspensi *Salmonella typhi*

Pembuatan suspensi bakteri *Salmonella typhi* dengan cara mengambil beberapa ose biakan bakteri murni kemudian ditanam pada media BHI (*Brain Heart Infusion*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil konsentrasi bakteri sesuai dengan kekeruhan Mc Farland 0,5.

4.1.8 Hasil Identifikasi *Salmonella typhi*

4.1.8.1 Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* dengan Pengecatan Gram

Berdasarkan hasil pengecatan gram maka diperoleh biakan bakteri *Salmonella typhi* seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* dengan Pengecatan Gram

Morfologi bakteri yang ditemukan pada preparat pengecatan

Gram adalah :

Bentuk : batang

Susunan : menyebar

Warna sel : merah

Latar Belakang : merah muda

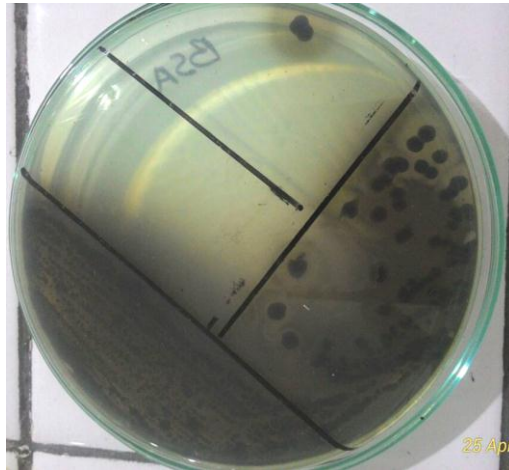
Cat : gram

Sifat Cat : gram negatif

4.1.8.2 Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* pada BSA (*Bismuth Sulfit agar*)

Dari hasil selenit broth yang positif terjadi kekeruhan diambil 1 ose dan digoreskan pada media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*) dan diinkubasi

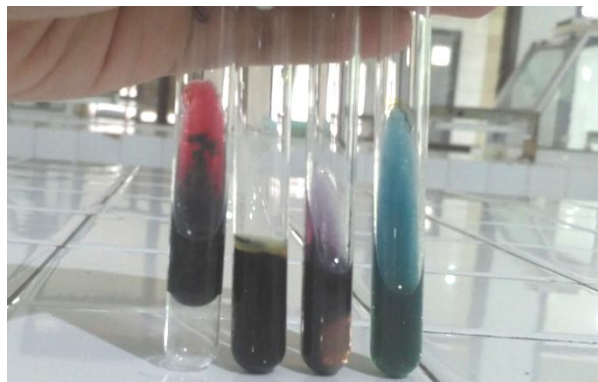
pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang dihasilkan berbentuk koloni mata ikan seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* pada medium BSA

4.1.8.3 Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* dengan Uji Biokimia

Berdasarkan hasil uji biokimia pada biakan bakteri *Salmonella typhi* dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* Uji Biokimia

Hasil uji biokimia dengan menggunakan medium KIA K/AG s(+), SIM + - +, LIA K/K s (+) , dan Citrat (+).

Keterangan :

KIA : pada bagian lereng berwarna merah, ada gas sulfid positif (terbentuk warna hitam).

SIM : *Salmonella typhi* menghasilkan sulfid positif (terbentuk warna hitam), indol negatif (tidak terbentuk warna merah) dan motilitas positif.

LIA : pada bagian lereng media dan bagian tegak media berwarna ungu, terbentuk warna hitam.

Citrat : citrat positif, ini menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* menggunakan citrat sebagai sumber karbon.

4.1.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

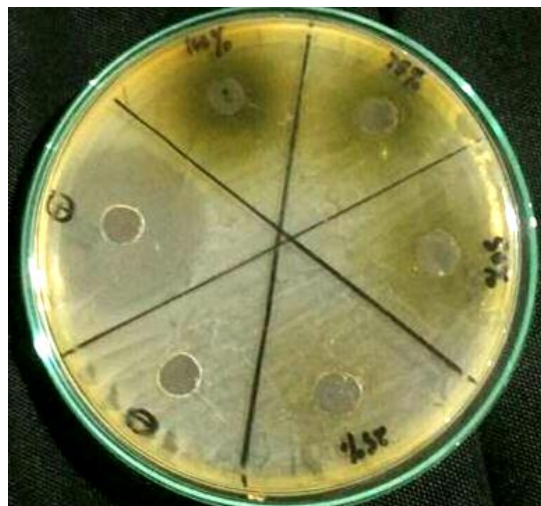
Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Sambung Nyawa terhadap *Salmonella typhi* dengan metode difusi menggunakan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan menggunakan kontrol positif Kloramphenikol kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam dan dilihat ada tidaknya zona hambat disekitar sumuran yang dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 4.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sambung Nyawa Terhadap *Salmonella typhi*

Jenis		Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata diameter zona hambatan (mm)
		Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	
Konsentrasi Ekstrak Sambung Nyawa	25%	8	10	11	9,67
	50%	12	13	12	12,33
	75%	16	15	18	16,33
	100%	20	20	19	19,67
kontrol	Kloramphenikol(+)	29	37	30	32,00
	DMSO 2%	-	-	-	-

Keterangan :

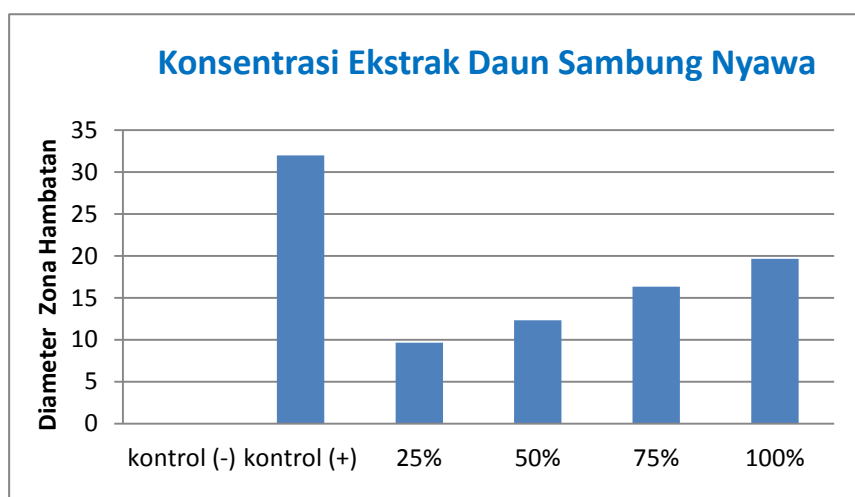
- Positif (+) : terbentuk zona radikal
 Negatif (-) : tidak terbentuk zona radikal
 kontrol positif : antibiotik
 kontrol negatif : berisi larutan pengencer



Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi*

Ekstrak daun Sambung Nyawa yang dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% menunjukkan adanya zona hambat disekeliling sumuran yang artinya ekstrak daun Sambung Nyawa pada konsentrasi ini mampu

menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Aktivitas kontrol positif Kloramphenikol pada semua cawan menunjukkan adanya zona radikal disekeliling sumuran artinya antibiotik ini dapat membunuh *Salmonella typhi*.



Gambar 5. Diagram Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

4.2 Pembahasan

Hasil pengeringan daun Sambung Nyawa yang diperoleh, dibuat serbuk dengan cara diblender serbuk hasil gilingan diayak dengan ayakan no. 40 mesh sehingga diperoleh serbuk daun Sambung Nyawa yang halus dan siap dibuat ekstrak.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi yaitu perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplicia) dalam pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Dewi, 2010).

Keuntungan menggunakan ekstrak maserasi adalah pengerjaannya yang sederhana dan faktor suhu dapat dikendalikan. Hal itu

berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap panas dan dapat rusak apabila menggunakan suhu tinggi (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Pelarut yang digunakan adalah metanol. Karena pelarut tersebut bersifat sebagai polar mampu melarutkan unsur-unsur bioaktif pada tanaman herbal. Penggunaan pelarut metanol dalam proses ekstraksi menghasilkan jumlah ekstrak yang besar (Sumihe, 2014). Menurut Winasis (2015) tanaman Sambung Nyawa mempunyai kandungan kimia Alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Sambung Nyawa menggunakan metode difusi. Metode difusi untuk mengamati adanya zona radikal dan zona irradikal pada daerah yang ditumbuhi bakteri disekitar sumuran yang berisi larutan uji (Purwani, 2013)

Setelah dilakukan pengamatan morfologi secara mikroskopis (gambar 1) bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang bersifat gram negatif, berbentuk batang, dan menyebar. Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* pada medium BSA (*Bismuth Sulfit Agar*) menunjukkan koloni berwarna hitam seperti mata ikan. Koloni berwarna hitam dikarenakan bakteri *Salmonella typhi* membentuk H₂S dan sulfid yang dihasilkan bereaksi dengan ion bismuth (Ardani, 2014).

Hasil identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara uji biokimia pada KIA menghasilkan K/AG s(+) yaitu bagian lereng (K) berwarna merah, bagian dasar (A) berwarna kuning, disertai pecahnya medium / medium terangkat keatas oleh adanya gas (G) yang menunjukkan *Salmonella typhi* menguraikan glukosa dan laktosa dan terbentuk warna hitam (S), SIM

menghasilkan + - + yaitu diperoleh hasil sulfida berwarna hitam (positif), indol negatif, dengan penambahan reagen erlich tidak ada perubahan warna menjadi merah, motibilitas positif terlihat pertumbuhan bakteri yang menyebar, LIA menghasilkan K/K s(+) yaitu bagian lereng (K) medium berwarna ungu dan medium berwarna hitam (S), hal ini menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* tidak mampu mendeaminasi lisin dan menghasilkan H₂S, dan pada Citrat menghasilkan positif warna biru, hal ini menunjukkan bahwa citrat berfungsi untuk mengetahui bahwa bakteri *Salmonella typhi* menggunakan citrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Ardani, 2014).

Pada penelitian dengan metode difusi ini menggunakan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75% dan 100% menunjukkan adanya zona hambat pada masing-masing konsentrasi. Pada ekstrak daun Sambung Nyawa terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 25 % adalah 9,67 mm, konsentrasi 50% adalah 12,33 mm, konsentrasi 75% adalah 16,33 mm, dan konsentrasi 100% adalah 19,67 mm.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh zona hambat konsentrasi 100% yaitu sebesar 19,67 mm dan pada kontrol positif Kloramphenikol adalah 32,00 mm. Maka dapat disimpulkan bahwa daya hambat ekstrak daun Sambung Nyawa lebih kecil dari pada Kloramphenikol sebagai control positif. Ekstrak bahan alam berpotensi sebagai antibakteri, dipercaya cukup efektif dan dinilai lebih aman dibanding dengan bahan sintesis. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada bahan sintesis (Sari, 2006). Disamping itu, pemakaian obat kloramphenikol yang berlebih dapat menimbulkan efek samping berupa

gangguan lambung usus, neuropati optik dan perifer, radang lidah, mukosa mulut, dan depresi sumsum tulang (Fahmi, 2016).

Dari hasil penelitian ini zat aktif yang terkandung dalam daun Sambung Nyawa berdasarkan uji skrining fitokimia yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hydrogen, sehingga sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada hilangnya makromolekul dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Santoso, 2012). Sedangkan tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Noor dan Apriasari, 2014).

Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramphenikol. Kloramphenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein mikroorganisme. Kloramphenikol yaitu antibiotik yang mempunyai aktivitas baktériostatik dan pada dosis tinggi bersifat bakterisid (Ardani, 2014).

Berdasarkan hasil perhitungan uji Anova dengan klasifikasi satu arah (*One Way Anova*) dengan tingkat kemaknaan $\alpha=0,05$. Sebelum dilakukan uji Anova satu arah terlebih dahulu dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov. Fungsi uji ini adalah menguji normalitas data jika akan menggunakan anova. Kriteria uji Kolmogorov-Smirnov adalah bila *Asymp.*

Sig lebih dari 0,05 maka terdistribusi normal. Data tabel didapatkan nilai *Asymp. Sig.* Sebesar 0,557. Nilai ini lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan data penelitian uji aktivitas antibakteri ini terdistribusi normal.

Setelah diketahui terdistribusi normal kemudian dilakukan uji Levene Statistic. Fungsi uji ini adalah mengetahui homogenitas data dengan kriteria $p > 0,05$. Data tabel didapatkan nilai *Sig.* sebesar 0,008. Nilai ini lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogeny atau memiliki variasi yang sama. Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak daun Sambung Nyawa pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Kriteria ujinya adalah diameter zona hambat dalam berbagai konsentrasi yang dimiliki dinyatakan ada perbedaan yang nyata (signifikan) dengan tingkat kemaknaan $\alpha = 0,05$, bila signifikan (*sig*). lebih kecil dari 0,05, namun sebaliknya jika tidak ada perbedaan yang nyata (signifikan) bila nilai Signifikansi (*Sig.*) lebih besar dari 0,05. Dalam tabel didapatkan nilai signifikansinya sebesar 0,000. Nilai ini lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan diameter zona hambatan pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Hasil uji anova terdapat perbedaan diameter daerah hambat maka dilakukan *uji Post Hoc* Student Neuman Keuls untuk mengetahui ekstrak dan konsentrasi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling baik. Berdasarkan hasil perhitungan yang didapat bahwa ekstrak daun Sambung Nyawa dengan konsentrasi 100% memiliki aktivitas paling baik dari konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.
2. Terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) pada bakteri *Salmonella typhi* dengan nilai rata-rata pada konsentrasi 25% adalah 9,67 mm, konsentrasi 50% adalah 12,33 mm, konsentrasi 75% adalah 16,33 mm dan konsentrasi 100% adalah 19,67 mm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun Sambung Nyawa menggunakan bakteri *Klebsiella.sp* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Sambung Nyawa dengan menggunakan metode dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggisahada. 2012. "Simplisia dan Skinning Fitokimia", (Online), (<https://sahadaanggi.wordpress.com/2012/04/14/simplisia-dan-skinning-fitokimia/>, diakses 10 Desember 2016).
- Ardani, L.S. 2014. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311. KTI. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Aryanti, Harrojo, Syafria, Y., Ermayanti, T.M., 2007. "Isolasi dan Uji Antibakteri Batang Sambung Nyawa". *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, ISSN, 1412-2855. Vol. 6(2): 43-45.
- Dewi, F.K., 2010. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar". Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Dhamartrianingrum. 2012. "Khasiat Daun Sambung Nyawa", (Online), (<https://dhamartrianingrum.wordpress.com/2012/10/16/105/>, diakses 8 Desember 2016).
- Dwijayanti, S.I.P. 2016. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*. KTI. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Emilan, T., A. Kurnia, B. Utami, L.N. Diyani dan A. Maulana. 2011. "Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal". Depok: Program Studi Magister Ilmu Herbal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Fahmi, N.M., 2016. "Perbandingan Sensitivitas Bakteri *Salmonella typhi* Isolat Pasien demam Tifoid dan Kultur Murni Terhadap Beberapa Antibiotik Di Laboratorium". Skripsi. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Firmansyah, S.B. 2015. "Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) serta Potensinya Sebagai Alternatif Pengawet Alami Pada Telur Asin". Skripsi. Semarang: Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., dan Nuri., 2011. "Uji antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih". *Majalah Obat Tradisional*. Vol.16(1): 34-42

- Herbie, T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: OCTOPUS Publishing House.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2012. *Mikrobiologi kedokteran Edisi 25*. Terjemahan oleh A.W. Nugroho, D. Ramadhani, H. Santasa, N. Yesdelita dan W.K. Nirmala. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- Latief, Abdul. 2012. *Obat Tradisional*. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- Musanti, D., Fachriyah, E., Kusriani, D., 2016. "Isolasi Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr)". *Prosiding Seminar Nasional sains dan Entrepreneurship III Tahun 2016*. Semarang. Hal 315-321.
- Ngajow, M., Abidjuju. J., dan Kamu, V. S., 2013. "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro (*Jurnal*). Manado: Jurusan Kimia, FMIPA, UNSRAT.
- Noor, M.A dan Aprisari, M.L., 2014. "Efektivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa acuminata*) dan provodone iodine 10% terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*". *Jurnal PDGI, ISSN 0024-9548*. Vol.63(3): 78-83
- Nuryanto, A., 2014. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro". Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Prasetyo dan Inorih, E. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratiwi, S.T., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*". Jakarta: Erlangga.
- Prima, M. I. 2012. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif Dan Gram Negatif". Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarifhidayatullah.
- Purwani, D., 2013. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sendok (*Plantago major*, L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25023". KTI. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- Santoso, R.M., Praharani, D., Purwanto., 2012. "Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantina*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridians*". *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. Hal: 3.

- Sari, LO.R.K., 2006. "Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya". *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol.3(1): 01-07.
- Sumihe, G., Runtuwene, M.R.J., dan Rorong, J.A., 2014. "Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC₅₀ Ekstrak Metanol Daun Liwas". *Jurnal Ilmiah Sains*, Vol.14(2): 126-127.
- Wardhani, L.K. dan N. Sulistyani. 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): 1-16.
- Widyaningsih, T. 2015. "Uji Potensi Antibakteri VCO (*Virgin Coconut Oil*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*". KTI. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Winarto, W.P., 2003. *Sambung Nyawa: Budi daya dan Pemanfaatan untuk Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Winasis, E.G. 2015. *40 Resep Dashyat Jamu Penakluk Asam Urat dan Diabetes*. Yogyakarta: Penerbit Araska.
- Zulmiyusrini, P., 2015. "Infeksi", (Online). (<http://www.kerjanya.net/faq/12111-infeksi.html/>, diakses 28 Mei 2017).

*L
A
M
P
I
R
A
N*

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah

Telepon : (0271) 697010 Faksimile : (0271) 697451

E-mail : b2p2to2t@litbang.depkes.go.id Website : http://b2p2toot.litbang.depkes.go.id

Nomor : YK.01.03/2/ 544 /2017
Lampiran : 1 lembar
Perihal : Keterangan determinasi

25 Januari 2017

Yang terhormat,
Dekan Universitas Setia Budi
Surakarta

Merujuk surat Bapak nomor. 176/H6-04/03.01.2017 tanggal 3 Januari 2017 dengan ini kami sampaikan bahwa sampel yang dikirim oleh mahasiswa atas nama Vita Andarista W.P (32142749 J) telah teridentifikasi sebagai:

Spesies : *Gynura procumbens* (Lour.) Merr
Familia : Asteraceae
Penanggung Jawab Identifikasi : Dyah Subositi, M.Sc

Untuk itu, apabila telah selesai melaksanakan penelitian yang bersangkutan diwajibkan menyerahkan satu eksemplar laporan hasil penelitian (skripsi) yang telah ditandatangani oleh dekan Universitas Setia Budi kepada Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu.

Atas perhatian Bapak kami ucapkan terima kasih.



a.n. Kepala
Kabid Pelayanan Penelitian

Nita Supriyati, M.Biotech., Apt
NIP. 197811152002122001

Tembusan:
Kepala B2P2TOOT

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 5. Sambung Nyawa
(*Gynura procumbens* (Lour) Merr)



Gambar 6. Pengeringan Daun



Gambar 7. Pengayakan



Gambar 8. Serbuk Daun Sambung Nyawa



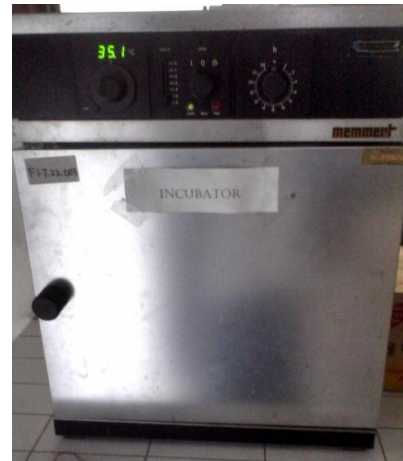
Gambar 9. Blender



Gambar 10. Timbangan Analitik



Gambar 11. Autoclave



Gambar 12 . Incubator



Gambar 13. Oven



Gambar 14. Berbagai konsentrasi ekstrak

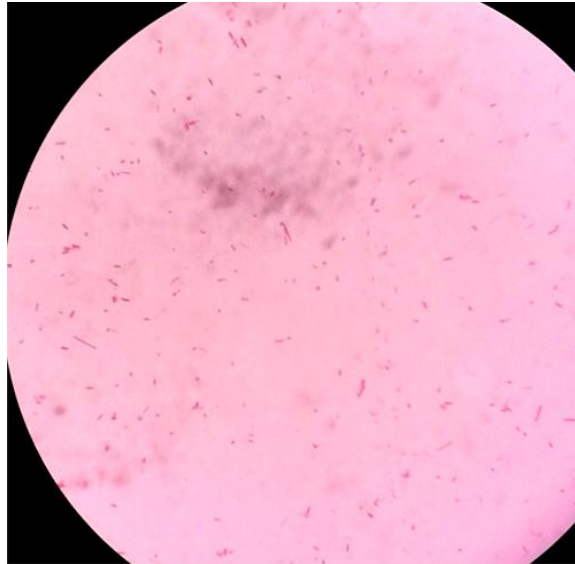


Gambar 15. Maserasi Daun Sambung Nyawa

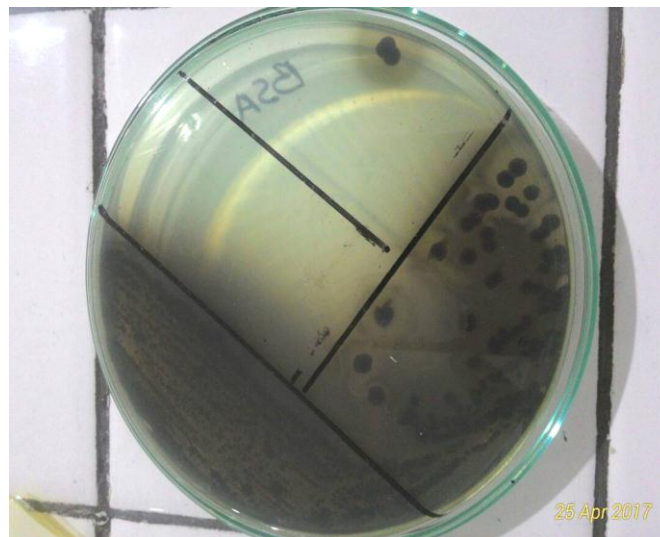


Gambar 16 . Evaporator

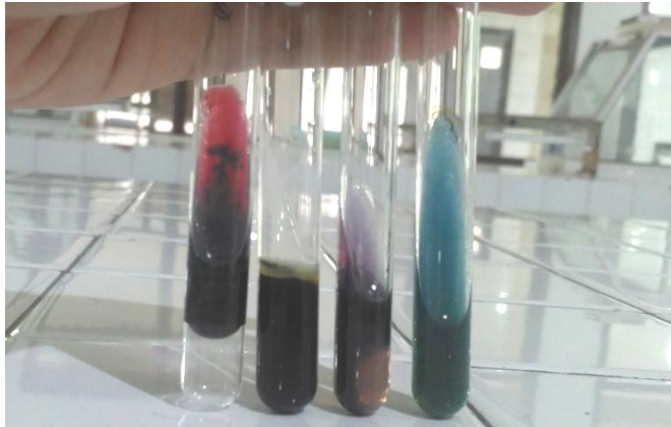
Lampiran 3. Identifikasi Bakteri



Gambar 17. Identifikasi Bakteri *Salmonella typhi* dengan pengecatan Gram berbentuk batang dan berwarna merah



Gambar 18. Bakteri *Salmonella typhi* pada media BSA koloni yang dihasilkan koloni mata ikan



Gambar 19. Uji Biokimia

Lampiran 4. Hasil penelitian



Alkaloid



Saponin



Flavonoid



Tanin



Uji Bebas Metanol

Gambar 20. Identifikasi Fitokimia Ekstrak Daun Sambung Nyawa



Gambar 21. Ekstrak daun Sambung Nyawa



Gambar 22. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Terhadap *Salmonella typhi*

Lampiran 5. Komposisi Media Reagen

a. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

- Meat infusion 1,0 gram
- Casein hydrolysate 1,0 gram
- Starch 5,0 gram
- Agar – agar 12,0 gram
- pH 7,4± 0,2

b. Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

- Infus dari Otak Sapi 200 gram
- Infus dari Hati Sapi 250,0 gram
- Protease Peptone 10,0 gram
- Dekstrosa 2,0 gram
- NaCl 5,0 gram
- Dinatrium Fosfat 5,0 gram
- Aquadest ad 1000 ml
- pH 7,4 ± 0,2

c. Media *Bismuth Sulfit Agar* (BSA)

- Meat extract 200,0 gram
- Peptone from meat 250,0 gram
- D (+) glucose 10,0 gram
- Disodium hydrogen phosphate 2,0 gram
- Iron (H) sulfate 5,0 gram
- Brilliant green 5,0 gram
- Bismuth sulfate indicator 5,0 gram

- Agar – agar 5,0 gram
- Aquadest steril ad 1000,0 ml
- pH 7,6 ± 0,2

d. Media *Sulfida Indol Motility* (SIM)

- Peptone from casein 20,0 gram
- Peptone from meat 6,0 gram
- Ammonium iron (II) citrate 0,2 gram
- Sodium thiosulfate 0,2 gram
- Agar – agar 3,0 gram
- pH 7,3 ± 0,2

e. Media *Kliger Iron Agar* (KIA)

- Peptone from casein 15,0 gram
- Peptone from meat 5,0 gram
- Meat extract 3,0 gram
- Yeats extract 3,0 gram
- Sodium chloride 5,0 gram
- Laktosa 10,0 gram
- Glukosa 1,0 gram
- Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram
- Sodium thiosulfate 0,5 gram
- Phenol red 0,024 gram
- Agar – agar 12,0 gram
- pH 7,4 ± 0,2

f. Media *Lysine Iron Agar* (LIA)

- Pepton from meat 5,0 gram

- Yeast extract 3,0 gram
- Glukose 1,0 gram
- Lysine monohydrochloride 10,0 gram
- Sodium thiosulfate 0,04 gram
- Ammonium iron (III) citrat 0,5 gram
- Bromo cresol purple 0,02 gram
- Agar-agar 12,5 gram

g. Media Citrat

- Magnesium sulfat 0,2 gram
- Ammonium dihydrogen fosfat 0,2 gram
- Sodium ammonium phosphate 0,8 gram
- Sodium citrate, tribasic 2,0 gram
- Sodium chloride 5,0 gram
- Bromothymol blue 0,08 gram
- Agar 15 gram

Lampiran 6. Uji Statistika

NPAR Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		diameter zona hambat
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	18,00
	Std. Deviation	8,272
Most Extreme Differences	Absolute	,204
	Positive	,204
	Negative	-,113
Kolmogorov-Smirnov Z		,792
Asymp. Sig. (2-tailed)		,557

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

diameter zona hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol positif	3	32,00	4,359	2,517	21,17	42,83	29	37
konsentrasi 25%	3	9,67	1,528	,882	5,87	13,46	8	11
konsentrasi 50%	3	12,33	,577	,333	10,90	13,77	12	13
konsentrasi 75%	3	16,33	1,528	,882	12,54	20,13	15	18
konsentrasi1 00%	3	19,67	,577	,333	18,23	21,10	19	20
Total	15	18,00	8,272	2,136	13,42	22,58	8	37

Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,308	4	10	,008

ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	909,333	4	227,333	46,712	,000
Within Groups	48,667	10	4,867		
Total	958,000	14			

Post Hoc Tests

diameter zona hambat

konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls ^a	konsentrasi 25%	3	9,67			
	konsentrasi 50%	3	12,33	12,33		
	konsentrasi 75%	3		16,33	16,33	
	konsentrasi100%	3			19,67	
	kontrol positif	3				32,00
Sig.			,170	,051	,094	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 7. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi 100% = $\frac{100}{100} \times 2 = 2$ gram ekstrak + 2 ml DMSO 2%

Konsentrasi 75% = $\frac{75}{100} \times 2 = 1,5$ ml larutan ekstrak 100%

= larutkan pada 0,5 ml DMSO 2%

Konsentrasi 50% = $\frac{50}{100} \times 2 = 1$ ml larutan ekstrak 100%

= larutkan pada 1 ml DMSO 2%

Konsentrasi 25% = $\frac{25}{100} \times 2 = 0,5$ ml larutan ekstrak 100%

= larutkan pada 1,5 ml DMSO 2%