

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, SERTA AIR DARI DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli ATCC 25922**



Oleh:

**Irene Elisabeth Maneak
20144238 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, SERTA AIR DARI DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli ATCC 25922**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Irene Elisabeth Maneak
20144238A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI
n-HEKSANA, ETIL ASETAT, SERTA AIR DARI DAUN JAMBU AIR
(*Syzygium aqueum*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Escherichia coli ATCC 25922**

Oleh :

Irene Elisabeth Maneak
20144238A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 03 Juli 2018

Mengetahui ,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing,

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kartinah W, SU

Penguji :

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

1.....
2.....
3.....
4.....

PERSEMBAHAN

“Orang-orang yang menabur dengan mencururkan air mata, akan menuai dengan bersorak-sorai. Orang yang berjalan maju dengan menangis sambil menabur benih, pasti pulang dengan sorak-sorai sambil membawa berkas-berkasnya.

(Mazmur 126:5-6)

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- *Bapak Marianus Maneak yang selalu mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.*
- *Mama Elisabeth Taena, Ka Gusti, dan Ka Ria yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, semangat, nasehat dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.*
- *Keluarga besar Maneak dan Taena yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa.*
- *Ibu Vivin dan Ibu Kartinah yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan masukan serta semangat dan motivasi.*
- *Dida Balelay yang selalu menemani, selalu dengan caranya menegur saya untuk menjadi pribadi yang baik, yang selalu memberi semangat dan selalu membantu.*
- *Inces Metriana yang selalu memberi semangat dan selalu membantu.*
- *Oncu Erthin yang pendiam tapi kadang cerewetnya juga minta ampun.*
- *Uni Tpoi gendutz, Ina Rewa kuda sumba, Steven Joseph Kerempeng, Ady Seo, Nn.Telly yang selalu memberi semangat.*
- *Teman-teman Classico 30 yang selalu memberi semangat dan menemaniku.*
- *Kakak-kakak dan adik-adik Alinie Gengs (Ka Ge, Tri, Eby, Angela, Anna, Oliv, Cinona)*
- *K Lesty yang selalu membantu, K Anggi si cerewet, Jee, kakak-kakak dan adik-adik Atoen Meto yang selalu memberi semangat dan menemani.*
- *Almamater, Bangsa dan Negaraku tercinta*

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juli 2018



Irene Elisabeth Maneak

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN JAMBU AIR (*Syzygium aqueum*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ATCC 25922”** ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

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

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta..
2. Ibu Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc.,Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra.Kartinah Wirjosoendjojo, SU., selaku Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen panitia penguji skripsi yang telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Terimakasih kepada Pak Hendrikus, Pak Joko, Pak Bibit dan segenap asisten Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu.
7. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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

Surakarta, Juli 2018

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fere', with a long horizontal flourish extending to the right.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Jambu Air	4
1. Sistematika tanaman jambu air.....	4
2. Nama daerah.....	4
3. Deskripsi dan Morfologi	4
4. Kandungan kimia	6
4.1. Flavonoid.	6
4.2. Fenolik.	6
4.3. Tanin.	7
5. Khasiat.....	7
B. Ekstraksi	7
1. Pengertian ekstraksi.....	7
2. Metode.....	8
2.1 Maserasi.	8
2.2 Fraksinasi.	8

3.	Pelarut.....	9
3.1.	Etanol.....	9
3.2.	<i>n</i> -Heksana.....	9
3.3.	Etil asetat.....	9
3.4.	Air.....	9
C.	<i>Escherichia coli</i>	10
1.	Sistematika.....	10
2.	Morfologi dan Identifikasi.....	10
3.	Patogenesis.....	11
4.	Pengobatan diare.....	11
D.	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
E.	Antibakteri.....	12
1.	Mekanisme antibakteri.....	12
1.1	Penghambatan metabolisme sel bakteri.....	13
1.2	Penghambatan sintesis dinding sel.....	13
1.3	Perubahan permeabilitas membran sel bakteri.....	13
1.4	Penghambatan sintesis protein sel bakteri.....	13
1.5	Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri.....	14
F.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	14
G.	Media.....	15
1.	Pengertian.....	15
2.	Macam-macam media.....	15
3.	Sterilisasi.....	16
H.	Siprofloksasin.....	16
I.	Landasan Teori.....	17
J.	Hipotesis.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
B.	Variabel Penelitian.....	21
1.	Identifikasi variabel utama.....	21
2.	Klasifikasi variabel utama.....	21
3.	Definisi operasional variabel utama.....	22
C.	Bahan dan Alat.....	23
1.	Bahan.....	23
2.	Alat.....	23
D.	Jalannya Penelitian.....	24
1.	Determinasi tanaman.....	24
2.	Pengeringan bahan.....	24
3.	Pembuatan serbuk daun jambu air.....	24
4.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air.....	24
5.	Pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air.....	24
6.	Uji bebas etanol ekstrak daun jambu air.....	24
7.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air.....	25
7.1	Identifikasi flavonoid.....	25
7.2	Identifikasi fenolik.....	25

7.3	Identifikasi tanin.....	25
8.	Fraksinasi.....	25
9.	Sterilisasi.....	25
10.	Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	26
10.1	Identifikasi makroskopis.....	26
10.2	Identifikasi mikroskopis.....	26
10.3	Identifikasi biokimia.....	26
11.	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji <i>Escherichia coli</i>	27
12.	Pengujian aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	28
12.1	Metode difusi.....	28
12.2	Metode dilusi.....	28
13.	Identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT	29
13.1	Identifikasi Flavonoid.....	29
13.2	Identifikasi Tanin.....	29
13.3	Identifikasi Fenol.....	30
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	34
1.	Determinasi Tanaman Jambu Air (<i>Syzygium aqueum</i>).....	34
1.1.	Determinasi tanaman.....	34
1.2.	Deskripsi Tanaman.....	34
2.	Hasil Pengeringan Daun Jambu Air.....	35
3.	Hasil Pembuatan Serbuk Daun Jambu Air.....	35
4.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air....	35
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air.....	36
6.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air.....	36
7.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air.....	37
8.	Fraksinasi.....	37
8.1	Hasil fraksi <i>n</i> -heksana.....	38
8.2	Hasil fraksi etil asetat.....	38
9.	Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	39
9.1	Hasil identifikasi makroskopis.....	39
9.2	Hasil identifikasi mikroskopis.....	39
9.3	Hasil identifikasi uji biokimia.....	40
10.	Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i>	41
10.1	Metode difusi.....	41
10.2	Metode dilusi.....	44
11.	Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT.....	45
11.1.	Identifikasi senyawa flavonoid secara KLT.....	45
11.2.	Identifikasi senyawa tanin secara KLT.....	46
11.3.	Identifikasi senyawa fenolik secara KLT.....	46
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
A.	Kesimpulan.....	48
B.	Saran.....	48

DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>).....	30
Gambar 2. Skema pembuatan fraksinasi dari ekstrak etanol 70% daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>).	31
Gambar 3. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi	32
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari daun jambu air terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> secara dilusi	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air	35
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kapuk	36
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air.....	36
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air	37
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air.....	37
Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat.....	38
Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi air.....	39
Tabel 8. Hasil identifikasi biokimia <i>Escherichia coli</i>	40
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air secara difusi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	42
Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu air secara dilusi terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	44
Tabel 11. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>)	55
Lampiran 2. Tanaman jambu air dan ekstrak etanol 70% daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>).....	56
Lampiran 3. Botol maserasi dan corong pisah.....	57
Lampiran 4. Oven binder dan <i>rotary evaporator</i>	58
Lampiran 5. Inkubator dan Moisture balance	59
Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan kimia daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>)	60
Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	61
Lampiran 8. Pengenceran 50%, 25%, 12,5% dari fraksi n-heksan, etil asetat dan air	62
Lampiran 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun jambu air secara difusi terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	63
Lampiran 10. Hasil inkubasi fraksi teraktif etil asetat daun jambu air terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara dilusi.....	65
Lampiran 11. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah.....	67
Lampiran 12. Hasil prosentase ekstrak etanol daun jambu air.....	67
Lampiran 13. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi <i>n</i> -heksana daun jambu air.....	68
Lampiran 14. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>)	69
Lampiran 15. Hasil perhitungan rendemen fraksi air dari daun jambu air (<i>Syzygium aqueum</i>).....	70
Lampiran 16. Perhitungan konsentrasi fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air secara difusi.....	71
Lampiran 17. Perhitungan Konsentrasi Ciprofloxacin secara difusi	72
Lampiran 18. Pembuatan konsentrasi fraksi teraktif secara dilusi.....	73

Lampiran 19. Hasil Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT	76
Lampiran 20. Hasil uji statistik	79

INTISARI

MANEAK, I.E., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, SERTA AIR DARI DAUN JAMBU AIR (*Syzygium aqueum*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* ATCC 25922, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dari family Myrtaceae merupakan tanaman yang telah banyak digunakan masyarakat dalam bidang pengobatan. Daun jambu air mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat serta air dari daun jambu air dan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif dari daun jambu air terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 .

Daun jambu air diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi disk dengan beberapa konsentrasi. Fraksi teraktif yang didapat dari metode difusi kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19% dan 0,095%.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dengan metode difusi menunjukkan adanya daya hambat dengan adanya daerah jernih disekitar disk. Diameter hambat rata-rata yang paling besar adalah fraksi etil asetat dengan rata-rata 28 mm pada konsentrasi 50%. Fraksi etil asetat dari daun jambu air mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif dibandingkan ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, dan air. Hasil penelitian dengan metode dilusi menunjukkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat adalah 12,5%.

Kata kunci : *Syzygium aqueum*, *Escherichia coli* ATCC 25922, difusi, dilusi.

ABSTRACT

IRENE, I. E., 2018, ANTIBACTERIA ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT, AND FRACTION OF *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FROM GUAVA LEAVES (*Syzygium aqueum*) AGAINST THE GROWTH OF *Escherichia coli* ATCC 25922, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Syzygium aqueum the family of Myrtaceae is a plant that has been widely used by the public in the field of medicine. *Guava* leaves (*Syzygium aqueum*) contain flavonoid, fenolik and tanin. The aim of the experiment was to determine the antibacteria activity of ethanol extract, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water from guava leaves and to know Minimum Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericide Concentration (MBC) active fraction from guava leaves against the growth of *Escherichia coli* ATCC 25922.

Guava leaves extracted by maceration with 70% ethanol, then fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvent. After that, tested for antibacteria activity using disk diffusion method with multiple concentrations. The most active fraction obtained from the diffusion method is then followed by the dilution method with concentrations of 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19% and 0,095%.

The result of antibacterial activity from 70% ethanol extract, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water shows the presence of inhibitory power by the clear area around the disk. The largest mean inhibitory diameter is the ethyl acetate fraction with the average was 28 mm at concentration of 50%. The ethyl acetate fraction of guava leaves had the most effective antibacterial activity compared with 70% ethanol extract, fraction of *n*-hexane, and water. The result of the experiment with dilution method of ethyl acetate fraction showed that Minimum Bactericide Concentrations of ethyl acetate fraction was 12,5%.

Keywords : *Syzygium aqueum*, *Escherichia coli* ATCC 25922, diffusion, dilution.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diare merupakan suatu kondisi buang air besar/BAB dengan konsistensi lembek atau cair. Buang air besar/BAB berupa air saja dan frekuensinya lebih sering dalam satu hari. Diare merupakan salah satu penyakit endemis di Indonesia. Diare juga merupakan penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian (Depkes RI 2011).

Menurut hasil Riskesdas (2007), diare merupakan penyebab kematian nomor satu pada bayi (31,4%) dan pada balita (25,2%). Sedangkan pada golongan semua umur merupakan penyebab kematian yang keempat (13,2%). Jumlah Kejadian Luar Biasa (KLB) pada penderita diare tahun 2013 sebesar 646 kasus. Angka kematian akibat KLB diare tertinggi terjadi di Sumatera Utara yaitu sebesar 11,76% (Kemenkes 2014).

Bakteri yang dapat menyebabkan diare salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini bekerja dengan mekanisme melalui enterotoksin dan invasi mukosa. Kebanyakan pasien yang terinfeksi bakteri ini mengalami gejala seperti diare (feses berlendir), mual dan kejang abdomen. Lamanya penyakit ini rata-rata 5 hari (Procop and Cockrerill 2003).

Terapi utama untuk diare akibat infeksi bakteri selain terapi cairan tubuh, juga menggunakan antibiotik. Terapi antibiotik sering digunakan untuk mempercepat penyembuhan, tetapi penggunaan antibiotik sering menyebabkan terjadinya resistensi bakteri. Pada penelitian Laksmi (2004), diamati pola resistensi *Escherichia coli* yang berasal dari penderita diare yang dilakukan pada salah satu rumah sakit swasta di Surakarta. Hasil penelitiannya yaitu adanya resistensi terhadap siprofloksasin 4.17%, resisten terhadap kloramfenikol 54.17%, dan resisten terhadap amoksilin 87.5%, serta resisten terhadap kotrimoksazol 95,83%.

Indonesia merupakan negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies tumbuhan mencapai 20.000 spesies. Jumlah spesies sebesar 40% merupakan

tumbuhan endemik atau asli Indonesia. Oleh sebab itu, Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tanaman. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. Sumber daya alam yang dimiliki telah memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari. Salah satu manfaatnya sebagai bahan makanan, bahan bangunan dan sebagai obat tradisional (Parwata dan Dewi 2008).

Menurut Fitriyah *et al.* (2013), terdapat beberapa alasan terapi obat tradisional menjadi pilihan pengobatan. Biaya pengobatan yang semakin mahal menjadi salah satu alasan masyarakat lebih memilih obat tradisional. Terapi herbal telah lama dipercaya menjadi obat dengan harga murah, bahan mudah di dapat, pembuatan yang sederhana, dan tidak membahayakan karena memakai bahan alami. Menurut Sari (2006), penggunaan obat tradisional lebih aman dari pada obat modern. Hal ini didukung, karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat modern. Saat ini obat tradisional cukup banyak digunakan oleh masyarakat dalam usaha pengobatan sendiri (*self-medication*).

Salah satu tanaman yang berkhasiat untuk mengatasi masalah diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* adalah jambu air (*Syzygium aqueum*). Menurut Peter *et al.* (2011), daun dari jambu air berkhasiat mengobati demam, batuk dan diare. Menurut Titi *et al.* (2015), ekstrak etanol daun jambu air mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, dan *Salmonella thypi*. Menurut Thamilaani *et al.* (2012), ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung enam jenis flavonoid yaitu 4-hydroxybenzaldehyde, myricetin-3-O-rhamnoside, europetin-3-O-rhamnoside, phloretin, myrigalone-G dan myrigalone-B. Menurut Palanisamy *et al.* (2011), daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung senyawa fenolik. Menurut Wong dan Lai (1996) genus *Syzygium* mengandung terpenoid dan γ terpinene dalam jumlah yang tinggi. Tanin juga ditemukan dalam daun spesies *Syzygium aqueum* (Okuda *et al.* 1982).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% dan fraksinasi dari daun

jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode dilusi.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ?

Kedua, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) manakah yang paling aktif dalam menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*).

Kedua, untuk mengetahui fraksi manakah yang paling aktif dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah dalam upaya pengembangan obat tradisional. Khususnya di bidang farmasi, dapat memanfaatkan daun jambu air (*Syzygium aqueum*) untuk pengobatan. Terutama penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jambu Air

1. Sistematika tanaman jambu air

Sistematika tanaman jambu air (*Syzygium aquaeum*) menurut Cahyono (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : Syzygium
Species : *Syzygium aquaeum* (Alston)

2. Nama daerah

Nama-nama lainnya adalah jambu ayer mawar (Malaysia), jambu aie (Minangkabau), jambu cai (Sunda), jambu wer (Jawa), jambu wir (Madura), nyambu er (Bangka Bilitung), kumpas, kumpasa, kombas, kembes (bahasa-bahasa di Sulawesi Utara), jambu jane, jambu salo (Sulawesi Selatan), jambu waelo, kuputol waelo, lutune waele, kopo olo (aneka bahasa di Seram dan sekitarnya) (Heyne 1987).

3. Deskripsi dan Morfologi

Menurut Cahyono (2010), tanaman jambu air sangat mudah dikenali. Bentuk fisik tanaman dan buahnya sangat mudah diketahui bahwa tanaman tersebut adalah jambu air. Tanaman jambu air tergolong tanaman tahunan yaitu hidup menahun (Perennial). Umur tanaman mencapai puluhan tahun dan pohonnya dapat tumbuh besar dan tinggi. Tanaman jambu air berbuah sepanjang tahun. Pohon ini berbunga tanpa mengenal musim.

Secara morfologis, akar tanaman jambu air (*Syzygium aquaeum*) memiliki sistem perakaran tunggang. Akar tunggang tanaman jambu air menembus ke

dalam tanah dan sangat dalam menuju ke dalam pusat bumi. 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 lingkaran batangnya 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.

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 dengan tangkai daun dan sangat pendek sehingga tampak seperti daun duduk. Daun jambu air memiliki tulang-tulang daun menyirip. Bunga jambu air tumbuh bergerombol yang tersusun dalam malai dan dihipit oleh daun pelindung. Oleh karena itu, bunga jambu air tampak berdompol-dompol. Bunga muncul pada ketiak dahan-dahan, ranting atau ketiak daun di ujung ranting dan bunga bertipe duduk. Bunga kadang-kadang juga tumbuh diketiak daun yang telah gugur. Bunga berbentuk seperti cangkir. Dalam suatu dompol 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. Buah jambu air berdaging dan berair serta berasa manis. Namun, beberapa jenis jambu berasa agak masam sampai masam misalnya jambu neem, jambu kancing, dan jambu rujak.

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 sampai adat

dengan rasa masam sampai manis menyegarkan. Biji jambu air berukuran besar dan bahkan ada yang tidak berbiji, berwarna putih, dan bentuknya bulat tidak beraturan dan bagian dalam berwarna ungu.

4. Kandungan kimia

Menurut Thamilaani *et al.* (2012), ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung enam jenis flavonoid yaitu 4-hydroxybenzaldehyde, myricetin-3-O-rhamnoside, europetin-3-O-rhamnoside, phloretin, myrigalone-G dan myrigalone-B. Menurut Palanisamy *et al.* (2011), daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung senyawa fenolik. Menurut Wong dan Lai (1996) genus *Syzygium* mengandung terpenoid dan γ terpinene dalam jumlah yang tinggi. Tanin juga ditemukan dalam daun spesies *Syzygium aqueum* (Okuda *et al.* 1982).

4.1. Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, sebagian dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah lapisan ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah jika ditambah basa atau ammonia (Octavia 2009).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.* 2012).

4.2. Fenolik. Menurut Singh dan Bharate (2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak karena sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. 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).

4.3. Tanin. Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks. Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak larut dalam pelarut organik non polar (Jayanegara *et al.* 2008).

Tanin terletak di dalam tumbuhan terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak dapat terjadi reaksi penyamakan. Tanin merupakan senyawa fenol berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan memunculkan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan (Sudirman 2014). Tanin memiliki mekanisme penghambatan bakteri dengan membentuk kompleks polisakarida yang dapat merusak dinding sel bakteri (Nurhalimah *et al.* 2014).

5. Khasiat

Tanaman jambu air telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sejak dulu, khususnya buahnya yang digunakan sebagai komponen diuretik atau merangsang pembuangan air seni atau melancarkan buang air seni. Hal ini sangat baik bagi kandung kemih dan untuk sebagian orang, jambu air juga sangat bermanfaat dalam meredakan bengkak pada kulit kaki maupun tangan. Khasiat jambu air yang dilihat di Malaysia yaitu serbuk daun yang telah kering digunakan untuk menyembuhkan penyakit kudis dan mengurangi bengkak. Manfaat daun jambu air lainnya adalah menurunkan panas pada penderita demam khususnya pada anak-anak, mengobati sendi yang keseleo, masuk angin, dan yang lainnya (Osman 2009).

B. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif

yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI 2000). Pelarut yang diinginkan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 2000).

2. Metode

2.1 Maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat yang didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Pelarut yang digunakan etanol 70%, karena etanol 70% tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat yang larut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 1986).

2.2 Fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama lainnya berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda-

beda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 1987).

3. Pelarut

3.1. Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air, pada skala perbandingan, panas yang diperlukan lebih sedikit (Depkes RI 1986).

3.2. *n*-Heksana. Pelarut *n*-Heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri dari satu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatile, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzen, kloroform, eter. Senyawa yang dapat larut dengan pelarut *n*-Heksana, yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, triterpenoid dan sterol, alkaloid dan fenil propanoid (Martindale 1993; Depkes RI 1987).

3.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar, dan mudah menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, dan larut 15 bagian air. Etil asetat dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. 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).

3.4. Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu tetapi dengan adanya air dapat mempercepat proses hidrolisis. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan disamping zat aktif ikut tersari juga zat lain yang tidak di perlukan mengganggu proses penyarian (Depkes RI 1986).

C. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air. *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare yaitu dengan mekanisme produksi enterotoksin yang secara tidak langsung menyebabkan kehilangan cairan dan dengan invasi yang sebenarnya lapisan epitelium dinding usus, yang menyebabkan peradangan dan kehilangan cairan (Brooks *et al* 2012).

1. Sistematika

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

Divisio	: Protophyta
Sub Divisio	: Schizomycetea
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2. Morfologi dan Identifikasi

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *Escherichia coli* dapat tumbuh baik pada media Mc Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. *Escherichia coli* juga dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan 1998). *Escherichia coli* berbentuk batang pendek (cocobasil), Gram negatif dengan ukuran 0,4 – 0,7 μm x 1,4 μm . Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Supardi 1999). *Escherichia coli* banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *Escherichia coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih

berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Brooks *et al.* 2012).

3. Patogenesis

Escherichia coli pertama kali ditemukan oleh Theodor Escherich tahun 1885 dari feses bayi. *Escherichia coli* merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen dan terdapat pada saluran pencernaan hewan dan manusia. Bakteri *Escherichia coli* masuk dalam salah satu bakteri indikator sanitasi. *Escherichia coli* patogenik penyebab diare diklasifikasikan menjadi 5 kelompok: kelompok *Escherichia coli* patogen yaitu *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC), *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC), *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC), *Escherichia coli* Hemoragik (EHEC), dan *Escherichia coli* enteroagregatif (EAEC).

4. Pengobatan diare

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati menggunakan antibiotik ciprofloxacin, cotrimoxazole, metronidazole, injeksi gentamicine, dan amoxicillin. Cotrimoxazole merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimetoprin. Cotrimoxazole mempunyai spektrum aktifitas luas dan efektif terhadap Gram positif dan negative termasuk *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif serta salah satu penyebab utama diare akut, sedangkan Gentamicine merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk untuk membunuh bakteri Gram negatif. Obat lain yang digunakan adalah probiotik, untuk penyembuhan diare akut (Korompis *et al.* 2013).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan secara fisika kimia. Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan

partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorban) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen – komponen kimia tidak sama. Komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan.

Fase diam dalam KLT juga disebut sebagai lapisan penjerap. Sifat – sifat umum dari penyerap untuk KLT adalah ukuran partikel dan homogenitasnya. Diameter partikel berkisar antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya (k_a). Lapisan yang kering mempunyai wajah yang seragam dan membentuk ikatan yang baik dengan penyangga jika dilihat dalam sinar jatuh dan sinar lewat. Lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium sebelum digunakan. Fase diam yang digunakan ada bermacam-macam yaitu alumina, serbuk selulosa, gel sephadex, selulosa penukar ion, silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon dan silika gel (k_a). Silika gel menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung pada cara pembuatannya. Penjerap dan silika gel mempunyai kadar air yang berpengaruh nyata terhadap daya pemisahannya. Pemisahan harus digunakan suatu penjerap yang aktif dan pelarut pengembang yang kurang polar.

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

E. Antibakteri

1. Mekanisme antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel-sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam 5 kelompok yaitu: mengganggu metabolisme dinding sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Odianti 2010).

1.1 Penghambatan metabolisme sel bakteri. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Odianti 2010). Contoh antibiotik sulfonamide dan trimethoprim (Bakung 2014).

1.2 Penghambatan sintesis dinding sel. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan. Polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Salah satu kerja antibakteri adalah menghambat sintesis dinding sel. Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Odianti 2010). Contoh antibiotik penisilin sefalosporin karbapenem, manobaktam, vancomycin (Bakung 2014).

1.3 Perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat zat yang terlarut lainnya. Salah satu kerja antibakteri adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain lain (Odianti 2010). Contoh antibiotik polimiksin, amfoterisin B, gramisidin, nistatin (Bakung 2014).

1.4 Penghambatan sintesis protein sel bakteri. Untuk kehidupannya, bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah

menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba (Odianti 2010). Contoh antibiotik adalah aminoglikosida, makrolida, tetrasiklin, streptogamin, kloramfenikol (Bakung 2014).

1.5 Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri. DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Salah satu kerja antibakteri yang lain adalah mekanisme berikatan dengan enzim polymerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Odianti 2010). Contoh antibiotik yang mengganggu sintesis DNA adalah metronidasol, kuinolon, novobiosin. Contoh yang mengganggu RNA seperti rifampisin (Bakung 2014).

F. Uji Aktivitas Antibakteri

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

Pertama, metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisik kimia, faktor antara obat dan organisme (Brooks *et al.* 2012).

Kedua, metode dilusi. Metode ini dilakukan dengan mencampur secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Enggar 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik

dengan media cair atau padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan (Brooks *et al.* 2012). Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri. Hasil yang diperoleh lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, lebih mudah dan praktis. Kekurangan metode dilusi adalah sampel yang dibutuhkan untuk percobaan harus jernih, kalau keruh akan mempersulit pengamatan dan membutuhkan alat yang lebih banyak dan tidak praktis (Pratiwi 2008).

G. Media

1. Pengertian

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008)

2. Macam-macam media

Menurut konsistensinya media dapat dibedakan menjadi medium cair, medium padat dan medium setengah padat. Pertama, medium cair seperti kaldu nutrient atau kaldu glukosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti perbiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Kedua, medium padat, dapat ditambahkan bahan pematat kedalam medium kaldu. Biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni. Ketiga, medium setengah padat, digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Medium

setengah padat mengandung gelatin ataupun agar-agar namun konsentrasi lebih kecil dari pada medium padat (Hadioetomo 1985).

3. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008). Bahan atau peralatan yang dipergunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 2005). Media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan *autoclav* pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan *beaker glass* disterilkan dengan oven pada suhu 170°C -180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Denyer 2004).

H. Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar dan spectrum yang lebih luas dibanding asam tersebut. Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (ADN) bakteri dengan memblok sub unit A enzim ADN-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa ADN bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *P.Mirabillis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeroginosa*, serta

bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp.*, dan *Streptococcus sp.* Dosis oral untuk infeksi saluran seni dan saluran napas : 250-500 mg 2 dd, selama 7 hari. Untuk infeksi saluran cerna : 500 mg 1 dd, selama 7 hari (Siswandono & Soekardjo 2008).

I. Landasan Teori

Tanaman jambu air telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sejak dulu, khususnya buahnya yang digunakan sebagai komponen diuretik atau merangsang pembuangan air seni atau melancarkan buang air seni. Hal ini sangat baik bagi kandung kemih. Untuk sebagian orang, jambu air juga sangat bermanfaat dalam meredakan bengkak pada kulit kaki maupun tangan. Di Malaysia, serbuk daun yang telah kering digunakan untuk menyembuhkan penyakit kudis dan mengurangi bengkak. Manfaat daun jambu air lainnya adalah menurunkan panas pada penderita demam khususnya pada anak-anak, mengobati sendi yang keseleo, masuk angin, dan yang lainnya (Osman 2009). Menurut Thamilvaani *et al.* (2012), ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung enam jenis flavonoid yaitu 4-hydroxybenzaldehyde, myricetin-3-O-rhamnoside, europetin-3-O-rhamnoside, phloretin, myrigalone-G dan myrigalone-B. Menurut Palanisamy *et al.* (2011), daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mengandung senyawa fenolik. Menurut Wong dan Lai (1996) genus *Syzygium* mengandung terpenoid dan γ terpinene dalam jumlah yang tinggi. Tanin juga ditemukan dalam daun spesies *Syzygium aqueum* (Okuda *et al.* 1982).

Pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Titi Hariyati *et al* (2015) dengan ekstraksi daun jambu air menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol untuk melihat pengaruhnya terhadap bakteri isolat klinis. Bakteri isolat klinis yang digunakan yaitu *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella thypi*. Hasil penelitian yang didapat yaitu ekstrak etanol daun jambu air dalam konsentrasi 25%, 50%, dan 75% mampu menghambat pertumbuhan bakteri isolat klinis dan keseluruhannya tergolong dalam kategori sensitif dan terlihat terjadi peningkatan besar daya hambat bakteri seiring dengan besarnya

konsentrasi ekstrak. Hal ini berarti bahwa kandungan senyawa dalam ekstrak memiliki efek antimikroba.

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat yang didesak keluar.

Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 1986). Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Pelarut yang digunakan etanol 70%, karena etanol 70% tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat yang larut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Depkes RI 1986). Setelah di maserasi dengan pelarut etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi.

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama lainnya berdasarkan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 1987). Hasil ekstraksi etanol 70% dengan metode maserasi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Tujuannya adalah untuk mengetahui pengaruh antibakteri ekstrak etanol 70% serta fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun jambu air terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati menggunakan antibiotik ciprofloxacin, cotrimoxazole, metronidazole, injeksi gentamicine, dan

amoxicillin. Cotrimoxazole merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimetoprin. Cotrimoxazole mempunyai spektrum aktifitas luas dan efektif terhadap Gram positif dan negatif termasuk *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif serta salah satu penyebab utama diare akut, sedangkan Gentamicine merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang digunakan untuk membunuh bakteri Gram negatif. Obat lain yang digunakan adalah probiotik, untuk penyembuhan diare akut (Korompis *et al.* 2013)

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*diks*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisik kimia, faktor antara obat dan organisme (Brooks *et al.* 2012).

Metode dilusi ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan (Brooks *et al.* 2012). Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri. Hasil yang diperoleh lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, lebih mudah dan praktis. Kekurangan metode dilusi adalah sampel yang dibutuhkan untuk percobaan harus jernih, kalau keruh akan mempersulit pengamatan dan membutuhkan alat yang lebih banyak dan tidak praktis (Pratiwi 2008).

J. Hipotesis

Penelitian ini dapat ditarik hipotesis antara lain:

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat yang paling aktif dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pohon dari tanaman jambu air (*Syzygium aqueum*) yang tumbuh di daerah Boyolali. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu air yang diambil secara acak dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali pada bulan Januari 2018.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol 70% dan fraksi yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, dan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, serta fraksi air dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% dan fraksi dari ekstrak etanol 70% daun jambu air (*Syzygium aqueum*) dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air dalam beberapa konsentrasi.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali

dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri *Escherichia coli*. Kondisi laboratorium meliputi kondisi enkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol 70% dan fraksinasi daun jambu air (*Syzygium aqueum*) yang dilihat dari pertumbuhannya pada media selektif.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu air (*Syzygium aqueum*) adalah daun jambu air yang diambil secara acak dari daerah Ngesrep, Ngemplak, Boyolali dalam keadaan segar pada bulan Januari 2018.

Kedua, serbuk daun jambu air (*Syzygium aqueum*) adalah daun jambu air yang diambil, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Daun yang sudah bersih dikeringkan di oven dengan suhu 50°C selama 2-3 hari. Tujuannya untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Daun yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara diblender sampai halus dan diayak dengan ayakan nomor 40 mesh.

Ketiga, ekstrak etanol adalah hasil ekstraksi serbuk daun jambu air (*Syzygium aqueum*) yang dibuat dengan cara maserasi memakai pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah fraksi dari ekstrak etanol 70% daun jambu air (*Syzygium aqueum*) yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut non polar. Fraksi *n*-heksana didapatkan dengan cara memekatkan ekstrak etanol 70 % dengan evaporator.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu dari hasil fraksinasi *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar. Fraksi etil asetat didapatkan dengan cara memekatkan residu *n*-heksana dengan evaporator.

Keenam, fraksi air dari daun jambu air adalah residu dari hasil fraksinasi fraksi etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar. Fraksi air

didapatkan dengan cara memekatkan residu hasil fraksi etil asetat dengan waterbath.

Ketujuh, bakteri uji yang digunakan dalam penelitian yaitu *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, metode dilusi dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi sebagai berikut 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; dan 0,095%. Kontrol positif adalah suspensi bakteri *Escherichia coli*. Kontrol negatif adalah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan siprofloksasin.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu air (*Syzygium aqueum*), *Escherichia coli*, *Brain Heart Infusion* (BHI), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM), *Endo Agar* (EA), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Lysin Iron Agar* (LIA), Citrat, NaCl fisiologis, etanol 70%, etil asetat, *n*-heksana, air, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH 1%, DMSO 1%, FeCl₃, *Mc Farland* 0,5%, Fehling A, Fehling B, spritus, amil alkohol, pereaksi Meyer, siprofloksasin, silika gel GF₂₅₄, kloroform, FeCl₃ 1%, dan pereaksi sitroborat.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi oven dengan suhu rendah dan konstan, blender untuk membuat serbuk, alat maserasi berupa botol mulut lebar warna coklat, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, tabung reaksi, corong kaca, penjepit tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass, cawan penguap, corong pisah, penangas uap, kertas saring, *Moisture Balance*, evaporator, autoklaf, inkubator, kotak septis (enkas), jarum ose, lampu spiritus, korek api, pipet ukur, cawan petri, dan spuit.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan di Unit Laboratorium Morfologi Sistemika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta untuk mengetahui kebenaran dari tanaman jambu air (*Syzygium aquaeum*).

2. Pengeringan bahan

Daun jambu air dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Daun dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai daun kering. Tujuannya untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri.

3. Pembuatan serbuk daun jambu air

Setelah kering daun dibuat serbuk dengan cara diblender sampai halus dan diayak dengan ayakan nomor 40 mesh.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air

Penetapan kadar air serbuk daun jambu air dengan cara menimbang serbuk daun jambu air sebanyak 2 gram. Kadar air diukur dengan alat *Moisture Balance* yang dilakukan sebanyak 3 kali. Suhu diatur 105°C dan dihidupkan, ditunggu sampai alat berbunyi yang dimana menandakan analisis telah selesai. Kadar air memenuhi syarat bila suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10 %.

5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air

Pembuatan ekstrak daun jambu air menggunakan metode maserasi berdasarkan Depkes (1986). Serbuk daun jambu air sebanyak 750 gram dimasukkan dalam maserator, ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7,5 sebanyak 5,625 L. Maserasi dilakukan selama 5 hari dan disaring menggunakan kain flanel. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan diserukai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Maserator Maserat I dan II dicampur dan uapkan dengan evaporator sampai terbentuk ekstrak kental.

6. Uji bebas etanol ekstrak daun jambu air

Uji esterifikasi dilakukan dengan cara ekstrak ditambah dengan H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH 1%. Uji positif ekstrak bebas etanol jika tidak terdapat bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air

Identifikasi kandungan kimia bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam daun jambu air. Identifikasi kandungan kimia yaitu flavonoid, fenolik dan tanin menggunakan buku Depkes RI (1979) dan dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1 Identifikasi flavonoid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambah 5 mL aquades dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Larutan A sebanyak 5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 2 mL larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah, kuning, atau jingga pada amil alkohol.

7.2 Identifikasi fenolik. Sebanyak 2 mL sampel dilarutkan dalam aquades 10 mL, dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang terbentuk ditambahkan 4-5 tetes FeCl_3 . Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya terbentuknya warna hijau, ungu, biru sampai hitam (Depkes RI 1987).

7.3 Identifikasi tanin. Ekstrak ditambahkan dengan pereaksi FeCl_3 . Reaksi positif ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Depkes 1987).

8. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun jambu air. Larutkan dengan pelarut air 75 mL, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan *n*-heksana menggunakan corong pisah, fraksi *n*-heksana yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat, kemudian uapkan dan residu yang didapat dari fraksi etil asetat adalah fraksi air kemudian diuapkan sampai pekat.

9. Sterilisasi

Sterilisasi inkas dengan menggunakan formalin, media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170°C .

180°C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum Ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Brooks *et al.* 2012).

10. Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

10.1 Identifikasi makroskopis. Bakteri uji *Escherichia coli* diinokulasi pada media diferensial *Endo Agar* (EA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif dikatakan bila penampakan koloni merah dengan kilat logam yang permanen dan warna medium merah violet (Volk & Wheller 1988).

10.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram. Bakteri uji *Escherichia coli* diambil dari media biakan dengan jarum ose yang telah dipijarkan, lalu ratakan diatas *object glass*. Larutan zat warna kristal violet ditetaskan sebanyak 2 sampai 3 tetes dan didiamkan selama 3 menit. Preparat diberikan akuades mengalir dan dikeringkan. Larutan lugol ditetaskan dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Larutan alkohol diberikan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Larutan safranin diberikan selama 3 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Minyak imersi diberikan di atas kaca preparat bakteri. Kaca preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 X. Bakteri positif golongan *Escherichia coli* bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacili.

10.3 Identifikasi biokimia.

10.3.1 SIM (*Sulfide Indol Motilitas*). Biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji adanya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada bekas tusukan menggunakan jarum Ent. Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan sulfida negatif, indol positif, dan motilitas positif (- + +).

10.3.2 KIA (*Kliger Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta

terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada bagian lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas yang ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada bagian lereng berwarna kuning, bagian dasar berwarna kuning, dan sulfida negatif atau tidak terbentuk warna hitam (A/A S-).

10.3.3 LIA (*Lisin Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya deaminasi lisin dan sulfida. Amati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Reaksi positif ditunjukkan dengan lereng akan berwarna coklat (ditulis R). Berwarna ungu yang berarti suasanaanya basa (ditulis K), berwarna kuning yang berarti suasanaanya asam (ditulis A) disertai terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna ungu pada bagian lereng, warna ungu pada bagian dasar tabung, dan sulfida negatif (K/K S-).

10.3.4 Sitrat. Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon. Uji ini positif bila media berwarna biru. Hasil positif bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan adanya warna hijau (-).

11. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji *Escherichia coli*

Beberapa ose biakkan bakteri *Escherichia coli* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL media BHI (*Brain heart Infusien*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diencerkan menggunakan larutan NaCl fisiologis steril sampai didapatkan kekeruhan yang disamakan dengan *Mc Farland* 0,5. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antibakteri *Escherichia coli*.

12. Pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli*

12.1 Metode difusi. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun jambu air yang diperoleh diuji secara difusi ke bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian daya antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media EA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Kertas cakram direndam selama 15 menit dengan ekstrak etanol daun jambu air, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dengan 3 seri konsentrasi yaitu 12.5%, 25%, 50%, ciprofloxacin 0,5% sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 1%, masing-masing dengan volume 10 μ l. 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 disk menandakan bahwa kandungan kimia daun jambu air memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

12.2 Metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Metode tersebut menggunakan 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Secara aseptik dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi dibawahnya yaitu kontrol (-); 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,095%; dan kontrol (+). Media BHI (*Brain heart Infusien*) yang digunakan dimasukkan 0,5 mL pada tiap tabung kecuali tabung 1 (kontrol negatif). Secara aseptik, masukkan 1 mL larutan stok yang akan diuji, kemudian dari tabung 2 dimasukkan 0,5 mL larutan stok, kemudian dari tabung 2 dipipet 0,5 mL dan dimasukkan kedalam tabung 3 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tambahkan 0,5 mL biakan jamur dari tabung 2 sampai tabung 12 (kontrol positif). Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan pada

seri pengenceran dari sejumlah tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan konsentrasi hambat minimum. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menginokulasikan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada medium *Endo Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur dengan melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh.

13. Identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT

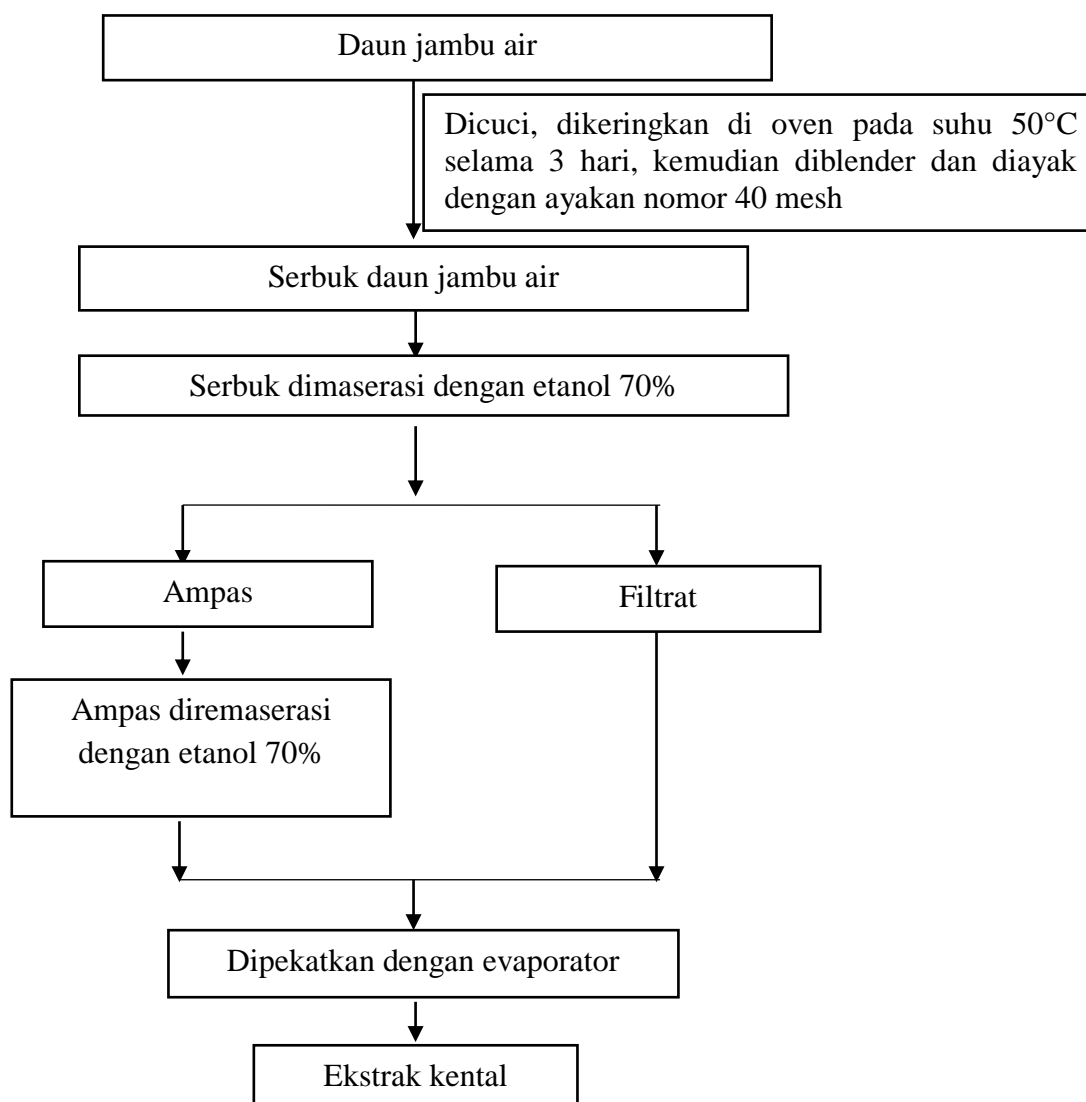
Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada daun jambu air. Fraksi yang paling aktif diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi yang dinyatakan paling aktif ditotolkan menggunakan pipa kapiler di atas lempeng kromatografi kemudian dielusikan dengan jarak pengembang 5 cm. 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. Hal ini menyebabkan 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 R_f dan penampakan warnanya. Fase diam menggunakan lempeng KLT, lempeng yang digunakan adalah lempeng silika GF₂₅₄ dengan ukuran 10 × 10 cm. Lempeng berupa kaca atau lempeng lain yang cocok.

13.1 Identifikasi Flavonoid. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform:methanol (2:3) dengan pereaksi semprot sitroborat. Bercak yang terjadi diamati di bawah UV 254 dan UV 366 nm. Hasil positif mengandung flavonoid jika menunjukkan warna bercak kuning (Marliana 2007).

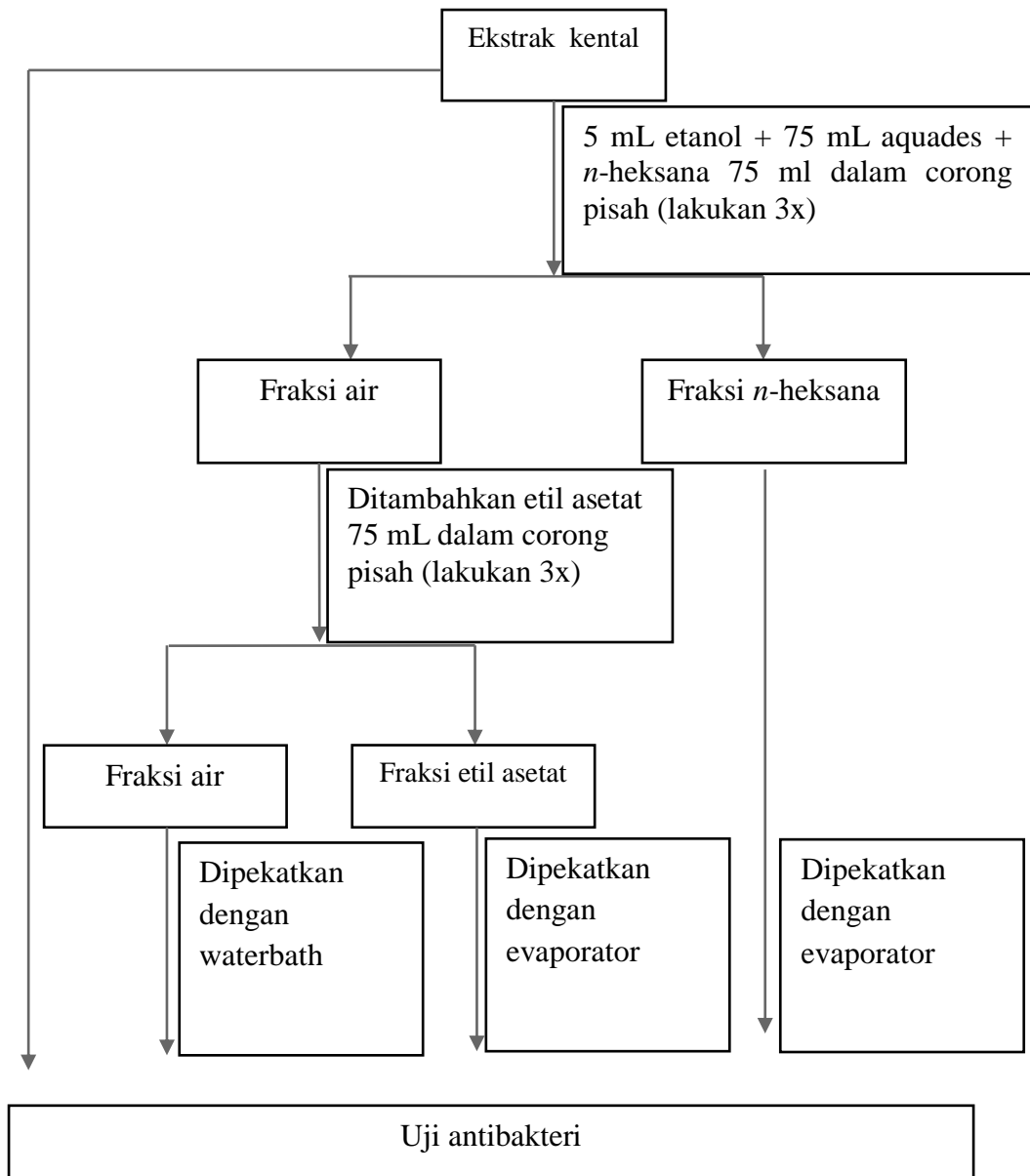
13.2 Identifikasi Tanin. Untuk mengidentifikasi tanin menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya yang digunakan adalah toluen : etil asetat (3:1). Dideteksi di bawah

sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan UV 366 nm biru hitam dengan pendeteksi ferri sulfat 1% (Hayati *et al.* 2010).

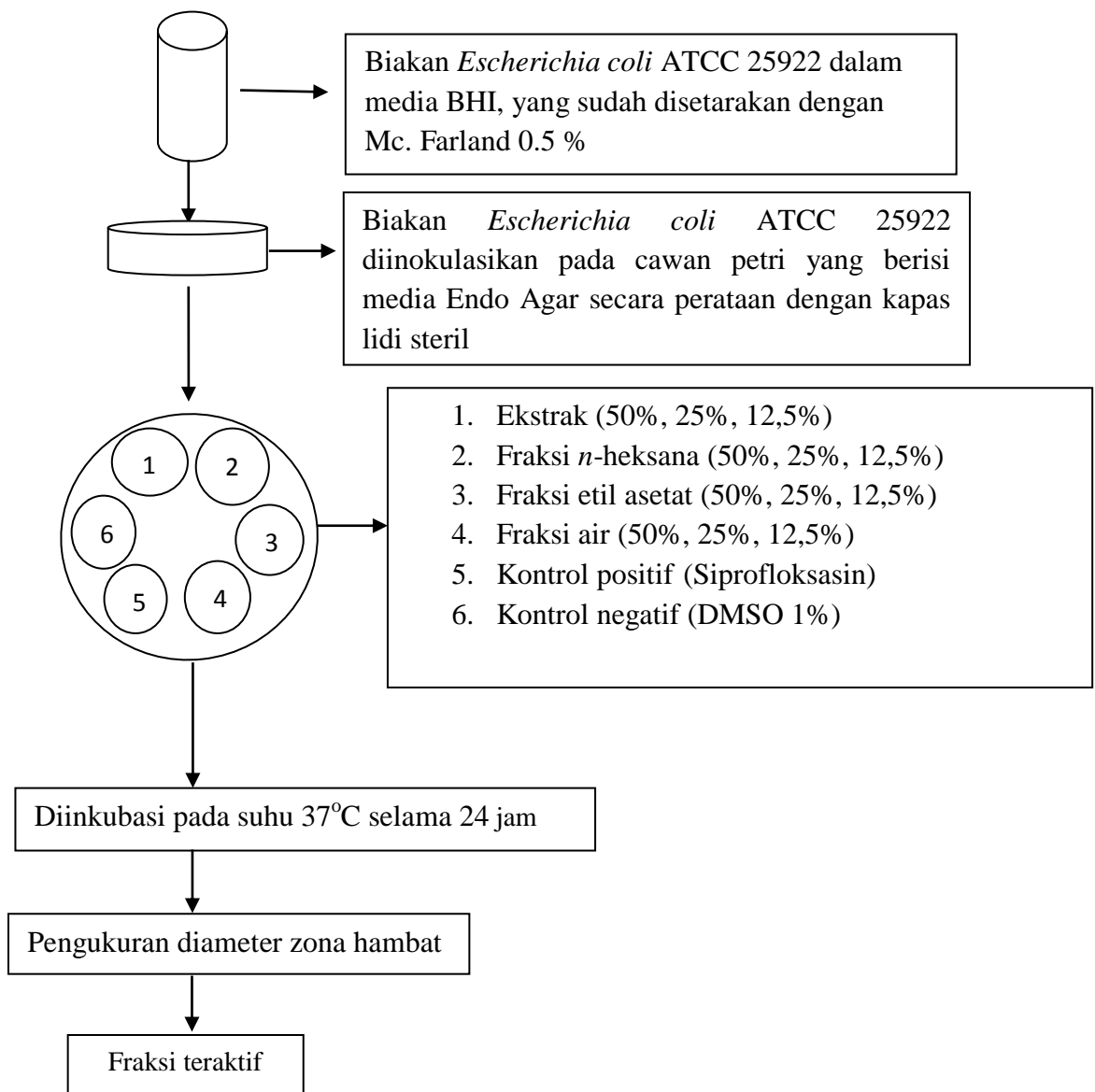
13.3 Identifikasi Fenol. Fase diam silika gel GF₂₅₄. Fase gerak etil asetat: metanol (1:1) dan ditambah asam formiat 1 tetes. Pereaksi penampak yang digunakan FeCl₃. Dengan pereaksi ini fenol membentuk warna biru kehitaman (Harborne 1987).



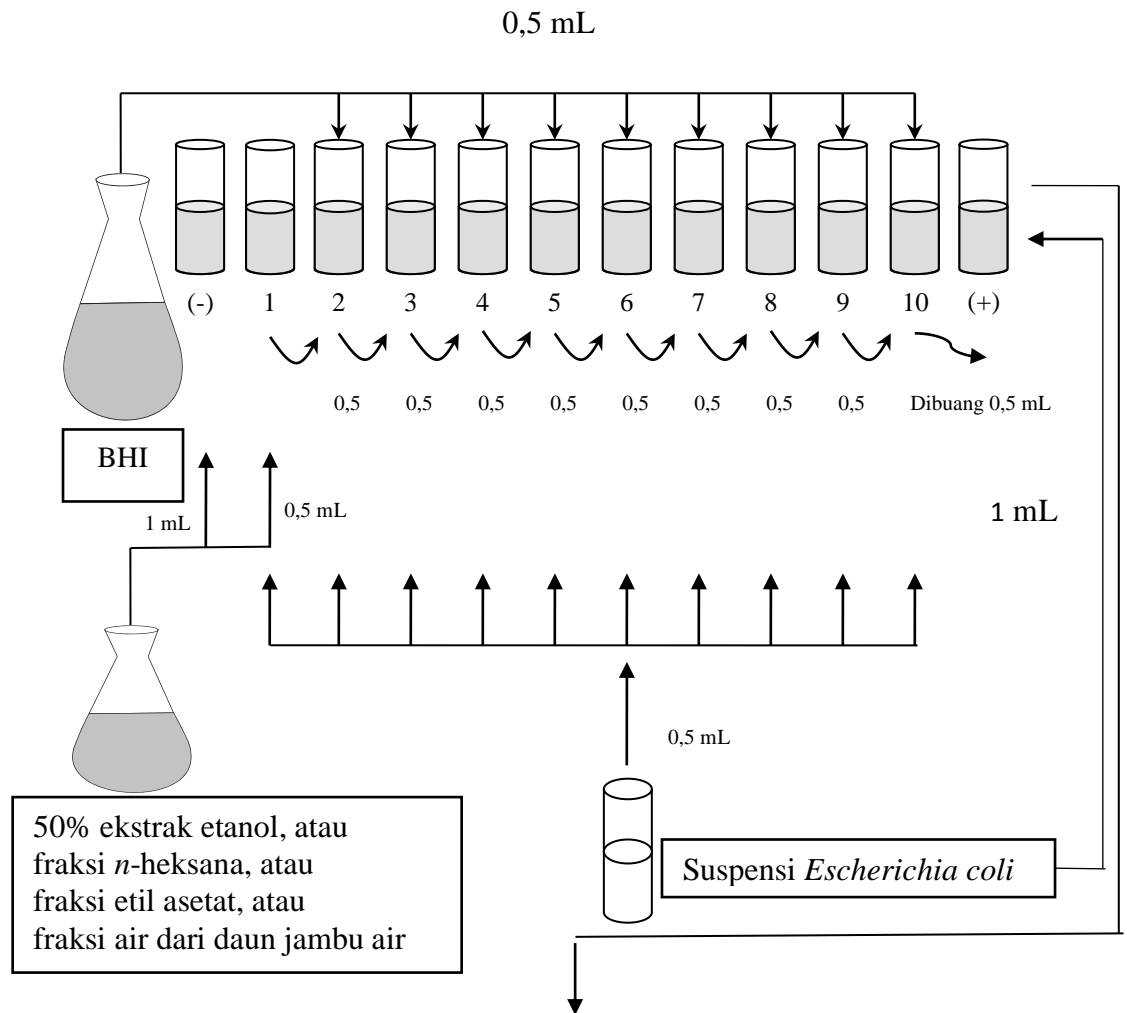
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air (*Syzygium aqueum*).



Gambar 2. Skema pembuatan fraksinasi dari ekstrak etanol 70% daun jambu air (*Syzygium aqueum*).



Gambar 3. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi



Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya



KHM (tabung jernih dengan konsentrasi terendah)



Diinokulasi pada medium *Endo Agar* dalam cawan petri, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.



KBM (cawan petri yang tidak ada pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi terendah)

Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari daun jambu air terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman Jambu Air (*Syzygium aqueum*).

1.1. Determinasi tanaman. Tujuan determinasi tanaman pada penelitian ini yaitu untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman dengan menggunakan kunci determinasi, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman yang lain pada saat pengumpulan bahan. Determinasi tanaman jambu air ini dilakukan di unit Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

Hasil determinasi tanaman 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 Pengeringan Daun Jambu Air

Daun jambu air dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Tujuannya untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri yang menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Hasil yang didapatkan daun jambu air kering secara merata. Bahan yang telah kering mempermudah proses penyerbukan.

3. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Jambu Air

Daun jambu air yang telah dikeringkan kemudian dilakukan perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air. Hasil perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu air

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase (% b/b)
5000	1820	36,40

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa daun jambu air dengan bobot basah 5000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 1820 gram. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 36,40%. Perhitungan prosentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 11 .

Serbuk daun jambu air yang telah kering kemudian diserbuk dengan cara diblender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 mesh. Tujuan penyerbukan untuk memperluas partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air

Serbuk daun jambu air yang sudah kering diukur kadar airnya dengan menggunakan alat Moisture Balance. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu air

Bobot awal (gram)	Kadar air % (%/b)
2,00	5,5
2,00	5,5
2,00	5,5
Rata – rata	5,5

Prosentase rata – rata serbuk daun jambu air yang diukur dengan alat Moisture Balance yaitu 5,5%. Susut pengeringan serbuk daun jambu air memenuhi syarat dimana kadar air suatu simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Kadar air yang terlalu tinggi yang terdapat dalam serbuk (> 10%) dapat mengaktifkan enzim – enzim dalam simplisia yang dapat berakibat rusak atau berubahnya komposisi kimia pada simplisia tersebut sehingga menurunkan kualitas serbuk tersebut dan mudah ditumbuhi bakteri.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air

Serbuk daun jambu air sebanyak 750 gram yang diperoleh dari proses penyerbukan dimasukkan dalam maserator, ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7,5 sebanyak 5,625 L, maserasi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog, kemudian disaring dengan kain flanel sehingga diperoleh maserat I. Ampas dari sisa maserat I diremaserasi dengan etanol 70%, perbandingan 1 : 2,5 sebanyak 1,875 L selama 2 hari dengan sesekali digojog. Ampas dari hasil remaserasi disaring dengan kain flanel sehingga diperoleh maserat II. Maserat I dan II dicampur, diuapkan dengan evaporator sampai terbentuk ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun jambu air dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% daun jambu air

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Prosentase (% b/b)
750	250	33,33

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa prosentase rendemen ekstrak etanol 70% daun jambu air yang diperoleh sebanyak 33,33 %. Hasil perhitungan prosentase ekstrak etanol 70% daun jambu air dapat dilihat pada lampiran 12 .

6. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air

Ekstrak daun jambu air dilakukan uji bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun jambu air

Uji bebas etanol	Pustaka (Praeparandi 1978)	Hasil uji
Ekstrak daun jambu air +H ₂ SO _{4conc} +CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa uji ekstrak daun jambu air sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air

Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air yaitu flavonoid, fenolik dan tanin yang dilakukan dengan buku Depkes RI (1979) dan dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Setia Budi. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air

Kandungan kimia	Test	Pustaka (Depkes RI 1979)	Hasil	Ket
Flavonoid	Ekstrak + air + serbuk Mg + larutan alkohol : HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol, kocok kuat	Terbentuk warna merah atau kuning, atau jingga pada amil alkohol. Terbentuk warna hijau, ungu atau biru sampai hitam	Terbentuk warna jingga pada amil alkohol Terbentuk warna hijau	+ +
Fenolik	Ekstrak + air + FeCl ₃	Terbentuk warna hijau kehitaman atau biru	Terbentuk warna hijau	+
Tanin	Ekstrak + FeCl ₃	kehitaman	Terbentuk warna biru kehitaman	

Berdasarkan hasil pada tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu air yaitu flavonoid, fenolik dan tanin yang telah dilakukan di Laboratorium Fitokimia Farmasi Universitas Setia Budi menunjukkan hasil positif untuk identifikasi flavonoid, fenolik dan tanin, dibuktikan dengan buku Depkes RI (1979). Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun turi dapat dilihat pada lampiran 6.

8. Fraksinasi

Hasil ekstraksi yang telah dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram untuk dilakukan fraksinasi. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 1987).

8.1 Hasil fraksi *n*-heksana. Hasil sediaan ekstrak maserasi yang ada ditimbang, kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut nonpolar (*n*-heksan), difraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 mL, kemudian fraksi *n*-heksana yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dilakukan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Rendemen hasil fraksi *n*-heksana dapat dilihat di tabel 6.

Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksana

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,157	0,738	7,26
10,283	0,733	7,12
10,125	0,736	7,27
Rata - rata		7,21

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksinasi fraksi *n*-heksana daun jambu air didapat prosentase rata-rata yaitu 7,21 %. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana daun jambu air dapat dilihat pada lampiran 13.

8.2 Hasil fraksi etil asetat. Residu dari hasil fraksi *n*-heksana difraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat (pelarut semi polar) masing-masing sebanyak 75 mL, kemudian fraksi etil asetat yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dilakukan pemekatan. Rendemen hasil fraksi etil asetat dapat dilihat di tabel 7.

Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,157	2,460	24,21
10,283	2,455	23,87
10,125	2,457	24,26
Rata - rata		24,11

Berdasarkan tabel 7 dapat diketahui bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi etil asetat daun jambu air yang didapat yaitu 24,11%. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun jambu air dapat dilihat pada lampiran 14.

8.3 Hasil fraksi air. Residu dari ekstrak etil asetat dilanjutkan dengan pemekatan sehingga didapat fraksi air. Rendemen hasil fraksi air daun jambu air dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rendemen hasil fraksinasi air

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,157	3,796	37,37
10,283	3,793	36,87
10,125	3,794	37,47
Rata - rata		37,23

Berdasarkan tabel 8 dapat diketahui bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi air daun jambu air yang didapat yaitu 37,23%. Hasil perhitungan rendemen fraksi air daun jambu air dapat dilihat pada lampiran 15.

Hasil fraksi air yang didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jambu air berbeda. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%.

9. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli*

9.1 Hasil identifikasi makroskopis. Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, biakan *Escherichia coli* diinokulasikan pada media diferensial *Endo Agar* (EA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ada penampakan koloni merah dengan kilat logam yang permanen dan warna medium merah violet. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* secara inokulasi dapat dilihat pada gambar 12, Lampiran 7.

9.2 Hasil identifikasi mikroskopis. Pewarnaan Gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Hasil identifikasi mikroskopis menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* termasuk dalam golongan Gram negatif, sel bakteri berwarna merah dan bentuk bacilli. Penetasan Kristal violet (Gram A) menyebabkan Kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif dan negatif. Penetasan mordant (*lugol,s iodine*/Gram B) menyebabkan adanya ikatan CV dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Pada Gram positif dapat terbentuk CV iodine-ribonukleat pada dinding sel. Penetasan Gram C (alkohol 96%) menyebabkan pori – pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks *CV-iodine* tidak menempel di dinding sel, menyebabkan sel Gram negatif menjadi bening. Penetasan *safranin* (Gram D),

safranin akan mewarnai sel Gram negatif menjadi berwarna merah (Volk dan Wheller 1988). Identifikasi mikroskopis dapat di lihat dalam lampiran 7.

9.3 Hasil identifikasi uji biokimia. Identifikasi uji biokimia pada *Escherichia coli* berdasarkan tabel 9 dan hasil identifikasi dapat dilihat dalam lampiran 7.

Tabel 6. Hasil identifikasi biokimia *Escherichia coli*

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk dan Wheller 1988)
KIA	A/AGS(-)	A/AGS(-)
SIM	+++	+++
LIA	K/KS(-)	K/KS(-)
Citrat	-	-

Hasil pengujian pada medium Kligler's Iron Agar (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan medium KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C menunjukkan hasil A/AGS (-), A/A artinya pada lereng dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa dan laktosa, G artinya terbentuk gas serta terbentuknya warna hitam pada media, S (-) artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S, dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam. Medium KIA mengandung laktosa dan glukosa dalam konsentrasi 1% laktosa, 0,1% glukosa, dan phenol red sebagai indicator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Medium KIA juga mengandung sodium thiosulfat yaitu susunan untuk penghasil H₂S.

Hasil pengujian pada medium Sulfida Indol Motilitas (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dengan media Sulfida Indol Motilitas (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil positif bakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan sulfida negatif, indol positif, dan motilitas positif (-++) . Sulfida Indol Motilitas (SIM) artinya pada uji sulfida bakteri *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam. Uji indol dengan menambahkan tiga tetes Erlich A dan B,

permukaan media berwarna merah muda ini berarti uji indol positif, bakteri *Escherichia coli* membentuk indol. Casein pepton mengandung banyak triptofan, yang diurai oleh bakteri *Escherichia coli*. Sehingga bakteri menghasilkan enzim triptophanase di medium menjadi asam piruvat + NH₃ dan menghasilkan indol. Uji motilitas positif ditunjukkan dengan penyebaran di media Sulfide Indol Motilitas (SIM).

Medium Lysin Iron Agar (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C menunjukkan hasil K/KS(-). K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendeaminasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media. S(-) artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA (Volk dan Wheller 1988). Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Escherichia coli*.

Pengujian pada medium CITRAT untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil pengujian dengan medium CITRAT setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C menunjukkan hasil negatif sehingga warna media tetap hijau. Hasil menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan CITRAT sebagai sumber karbon tunggal. Medium CITRAT terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan CITRAT menyebabkan suasana basa, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

10. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

10.1 Metode difusi. Hasil dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air serta pembanding sediaan ciprofloxacin dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi untuk mendapat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi yang paling aktif. Medium yang digunakan adalah *Endo Agar* (EA). Daerah yang tidak

ditumbuhi bakteri disekitar disk menandakan bahwa kandungan ekstrak daun jambu air memiliki daya hambat terhadap bakteri uji. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini yaitu 50%, 25%, 12,5%. Kontrol positif yang digunakan yaitu Ciprofloxacin 0,5% dan DMSO 1% sebagai control negatif. Perhitungan konsentrasi larutan dapat dilihat pada lampiran. Hasil uji antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air secara difusi terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Bahan uji	Konsentrasi	Daya hambat			Rata-rata
		I	II	III	
Ekstrak	50%	27	26,5	27	26,83
	25%	20	20,5	20	20,16
	12,5%	12	12,5	12,5	12,33
<i>n</i> -Heksana	50%	21,5	21	21,5	21,33
	25%	15	15	15,5	15,16
	12,5%	10	10,5	10	10,16
Etil asetat	50%	28,5	27,5	28	28
	25%	21,5	20,5	21	21
	12,5%	14	14	14,5	14,16
Air	50%	19,5	19	18,5	19
	25%	13	13,5	13,5	13,33
	12,5%	7	7,5	7,5	7,5
DMSO 1%	1%	0	0	0	0
		0	0	0	0
		0	0	0	0
Ciprofloxacin	0,5%	41	41,5	41	41,16
		41	40,5	41	40,83
		41	40,5	40,5	40,67

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu air, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menunjukkan adanya daya hambat. Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar disk. Diameter hambat rata-rata yang paling besar adalah fraksi etil asetat pada konsentrasi 50%. Uji selanjutnya adalah uji analisis data, tujuannya untuk memastikan bahwa etil asetat benar aktif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *one way*. ANOVA *one way* digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5% dari ekstrak etanol daun jambu air, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air. Kontrol positif

dan kontrol negatif diikuti sertakan dalam analisis ANOVA *one way*. Data yang dihasilkan bertujuan untuk membandingkan hubungan antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, kontrol positif, dan kontrol negatif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* diperoleh signifikansi $0,387 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA *one way*. Nilai probabilitas Levene Statistic adalah $0,638 > 0,05$ maka H_0 diterima yang artinya keempat sampel memiliki varian yang sama. Hasil signifikansi dari data uji ANOVA adalah $0,000 < 0,05$ yang artinya keempat sampel ada perbedaan dalam diameter zona hambat.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat 50% terbukti paling aktif terhadap aktivitas antibakteri, karena mempunyai daya hambat yang paling besar diantara ekstrak dan fraksi lain. Meskipun demikian fraksi etil asetat 50% tidak ada beda signifikan dengan fraksi etil asetat 25%, karena berada dalam subset yang sama sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi etil asetat 50% merupakan fraksi teraktif tetapi fraksi etil asetat 25% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pada penelitian ini, Ciprofloxacin masih lebih efektif digunakan oleh masyarakat dibandingkan dengan fraksi etil asetat dari daun jambu air.

Sifat etil asetat yang semi polar ini menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang lebih kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan nonpolar. Oleh karena itu, fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa yang diduga sebagai antibakteri yaitu flavonoid. Hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar serta teraktif dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air (Sreelatha *et al.* 2013).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.* 2012).

10.2 Metode dilusi. Hasil dari uji difusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun jambu air yang telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang paling aktif dalam menghambat dengan KHM 50%. Selanjutnya, dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu air dengan metode dilusi untuk melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu air dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun jambu air secara dilusi terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi fraksi etil asetat (%)	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	-	-	-
6,25	+	+	+
3,12	+	+	+
1,56	+	+	+
0,78	+	+	+
0,39	+	+	+
0,19	+	+	+
0,095	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan : (+) : ada pertumbuhan bakteri
 (-) : tidak ada pertumbuhan bakteri
 Kontrol (-) : Fraksi etil asetat
 Kontrol (+) : Suspensi bakteri + media BHI

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada medium selektif *Endo Agar* (EA) dalam cawan petri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada medium *Endo Agar* dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,095%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih. Hal ini sulit diamati karena fraksi yang digunakan terlihat pekat, sehingga perlu dilakukan inokulasi dalam medium selektif pada masing-masing tabung untuk

mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM). Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari tabel 9 dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 12,5%.

11. 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 *Escherichia coli* ATCC 25922. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat, yaitu flavonoid, tannin dan fenolik.

Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi paling aktif secara KLT

Pengujian	Fase diam	Fase gerak	Deteksi	Pereaksi semprot	Pembanding	Hasil Warna bercak	Rf	Daftar pustaka
Flavonoid	Silika gel	gerak	UV 254 nm	Sitroborat	Kuersetin	Kuning	0,83	Kuning (Marliana 2007).
		kloroform : metanol (5:5)	UV 366 nm				0,85	
Fenolik	Silika gel	etil asetat : metanol (1:1)	UV 254 nm UV 366 nm	FeCl ₃	-	Biru kehitaman	0,74	Biru kehitaman (Harborne 1987).
Tannin	Silika gel	toluen : etil asetat (3:1)	UV 254 nm UV 366 nm	FeCl ₃	-	Biru kehitaman	0,68	Hijau gelap atau biru hitam (Hayati <i>et al.</i> 2010)

11.1. Identifikasi senyawa flavonoid secara KLT. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : methanol (5:5) dengan pereaksi semprot sitroborat. Senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning (Marliana 2007).

Berdasarkan hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan bercak terlihat berwarna fluoresensi biru pada sinar UV 254 nm, berwarna biru pada UV 366 nm, dan Rf 0,8. Hasil identifikasi dengan UV dapat dilihat pada Lampiran 19.

Flavonoid memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbon terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein

sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.* 2012).

11.2. Identifikasi senyawa tanin secara KLT. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dilihat dengan sinar UV 254 dan UV 366 dan KLT menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak toluen : etil asetat (3:1) dengan pereaksi FeCl_3 . Hasil identifikasi menunjukkan bercak senyawa tanin adalah pada sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan UV 366 nm biru hitam dengan (Hayati *et al.* 2010). Setelah disemprot dengan pereaksi semprot FeCl_3 akan terlihat bercak berwarna biru hitam (Harborne 1987). Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun jambu air positif terdapat senyawa tanin dari bercak pada lempeng KLT yang dilihat pada UV 254, UV 366, dan pereaksi semprot.

Tanin adalah senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin larut dalam air, larutan alkalis, alkohol, gliserol dan aseton. Tanin dapat mengendapkan logam berat, alkaloid, glikosida dan gelatin. Tanin tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzene dan kloroform. Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal (Harborne 1987). Senyawa polifenol yang terkandung dalam tanin diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barier dalam mikroorganisme, sehingga bersifat antibakteri (Harborne 1987).

11.3. 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.

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 *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun jambu air (*Syzygium aqueum*) merupakan fraksi paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit ditentukan, karena fraksi etil asetat berwarna dan sulit menentukan hasil yang keruh dan jernih. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang didapat adalah 12,5%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antibakteri daun jambu air dengan metode ekstraksi yang lain untuk mengetahui metode yang lebih efektif.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan air daun jambu air secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafindo Media Pratama.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava*. *Jurnal FKIP Universitas lambung Mangkurat. Bioscientiae* 1:31-38.
- Ansel HC. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi ke-4. Jakarta: Universitas Indonesia. Hlm 60-65.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien ISPA Rawat Jalan Di Rumah Sakit Professor dr Aloei Saboe Kota Gorontalo [Thesis]. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Bonang G dan Enggar S Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan klinik*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia.
- Brooks G F, Karen C C, Janet S B, Stephen A M dan Timothy A M . 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi ke-25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Cahyono, Bambang. 2010. *Sukses Budidaya Jambu Air di Pekarangan dan Perkebunan*. Yogyakarta: Andi.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial : Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Denyer S P., Norman A. Hodges, Sean P. Gorman. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. Ed ke-7. Victoria. Australia: Blackwell. Science. Halaman 346-363.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Edisi 2011. *Pedoman Penanggulangan Nasional TBC*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Eny W. 2006. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktivitas biologis pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien* 2:116-122.
- Fitriyah N, Mahendranta P K, M.Afif Alfiyanto, Mulyadi, Nila W, Joko K. 2013. Obat herbal antibakteri ala tanaman binahong. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada* 4:116-122.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik Dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia. Halaman 42-44.
- Harbone, JB. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Mengatur Tumbuhan*. Padmawinatan K, Iwang S, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Yay. Sarana Wana Jaya. Hal. 1509-1510.
- Jayanegara A dan Sofyan A. 2008. Penentuan aktivitas biologi tanin beberapa hijauan secara in vitro menggunakan “hohenheim gas test” dengan polietilen glikol secara determinan. *Jurnal Media Peternakan* 31: 44-52.
- Korompis F, Heedy T, Lily R G. 2013. Studi penggunaan obat pada penderita diare akut di instalasi rawat inap blu RSUP Prof. Dr. R.D Kandou Manado periode Januari-Juni 2012. *Jurnal Farmasi-UNSRAT* 2:42-50.
- Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Laksmi. 2004. Uji Kepekaan Isolat Bakteri *Escherichia Coli* Usapan Tinja Pasien Diare di Rumah Sakit Islam Surakarta [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- 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.
- Martindale. 1993. *The Extra Pharmacopoeia*. Ed 23. James E. F. Reynolds., edited by London: The pharmaceutical Press.
- Moneruzzaman K M, Alebidi A I., and Al-Saif A M. 2012. Assessment of genetic diversity in three cultivars of *Syzygium samarangense* grown in Malaysia by using morphological and physiological parameters. *Research Journal of Biotechnology* 7:16-22.

- 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
- Nurhalimah H, Wijayanti N, Widyaningsih T D. 2014. Efek antidiare ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica L.*) terhadap mencit jantan yang diinduksi bakteri *Salmonella Thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3:1.
- Octavia D.R. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat, dan Daun Binahong (Anredera Cordi Folia (Tonore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazl)* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Odianti G.T. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhamaddiyah.
- Okuda T, Takashi Y, Tsutomu H, Kazufumi Y, Mariko A. 1982. Ellagitannins of the Casuarinaceae, Stachyuraceae and Myrtaceae. *Phytochemistry*. 21: 2871-2874.
- Osman, H. 2009. *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Syzygium Aquea Molecules*. Malaysia: Bandar Sunway Publishing.
- 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* 33:269–275.
- Parwata, O A. dan Dewi F S. 2008. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga L.*). *Jurnal Kimia* 2:100-104.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S, Pelczar, M. F., Penerjemah: Hadioetomo, R, S.Dkk. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid I. Jakarta: Universitas Indonesia. Halaman 107-173.
- Peter, T., Padmavathi D., Sajini R J., and A, Sarala. 2011. *Syzygium Samarangense*: A review on morphology, phytochemistry & pharmacological aspects. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. Issue 4 1:155-163.
- Praepandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. Halaman 9.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. Halaman 93-96.

- Prayudhani M F, Utami S H, Endang S. 2012. Daya antibakteri ekstrak etanol daun dan kulit batang sawo kecil (*Manilkara kauki L Dubard*) terhadap bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal SMK Negeri 1 pasuruan dan jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang*.
- Procop, G.W., and Cockrerill. 2003. *Enteritis Caused by Escherichia coli, Shigell & Salmonella species*. New York: Lange Medical Books.
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian* 9:196-202.
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2007. Laporan Nasional 2007. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes RI.
- Sari, L. O. R. K. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 3:1-7.
- Singh, I.P., S.B. Bharate. 2005. Anti-HIV Natural Products. *Journal Current Science*, 89.
- Siswandono dan Soekardjo B. 2008. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press. Halaman: 128.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Padmawinata K, Iwang S, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari:
- Sudirman T.A 2014. *Uji Aktivitas Ekstrak Daun Salam (Eugena Polyanta) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus Secara In Vitro [Skripsi]*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanudin.
- Supardi. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Penerbit Alumni Bandung. Halaman 137-139.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Susanti, A. 2008. Daya antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indicaless*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Universitas Airlangga*, 1.
- 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 Chemistry of Natural Productst*. 2 edition. Chapman and hall ltd. Glasgow,UK.

- Titi H, Dwi S D J, Yayuk A. 2015. Pengaruh ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap bakteri isolat klinis. *Jurnal penelitian pendidikan ipa (jppipa)*. Vol 1 (2).
- Volk WA, dan Wheeler MF. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal 97, 331-335.
- Wong K C dan 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 tanaman jambu air (*Syzygium aqueum*)



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

Menerangkan bahwa :

Nama : Irene Elisabeth Maneak
NIM : 20144238A
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 berbilang 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.

Jakarta, 09 Mei 2018
Indeterminasi

Karimah Wijosoendjojo, SU

**Lampiran 2. Tanaman jambu air dan ekstrak etanol 70% daun jambu air
(*Syzygium aqueum*)**



Tanaman jambu air (*Syzygium aqueum*.)



**Eksrak etanol 70% daun jambu air
(*Syzygium aqueum*.)**

Lampiran 3. Botol maserasi dan corong pisah**. Botol maserasi****Corong pisah**

Lampiran 4. Oven binder dan *rotary evaporator*



Oven binder



Rotary evaporator

Lampiran 5. Inkubator dan Moisture balance**Moisture balance****Inkubator**

**Lampiran 6. Hasil identifikasi kandungan kimia daun jambu air
(*Syzygium aqueum*)**



Flavonoid

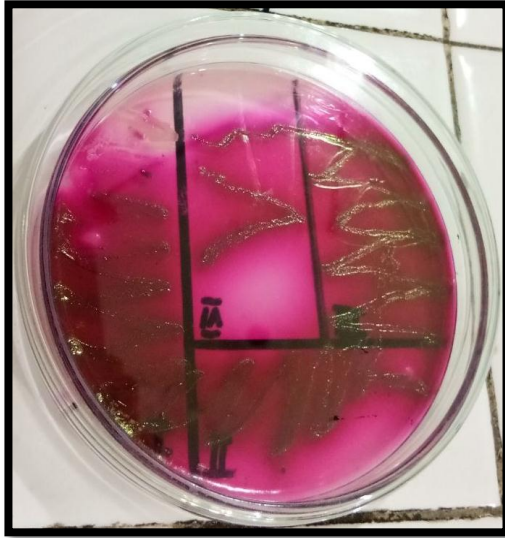


Fenolik



Tanin

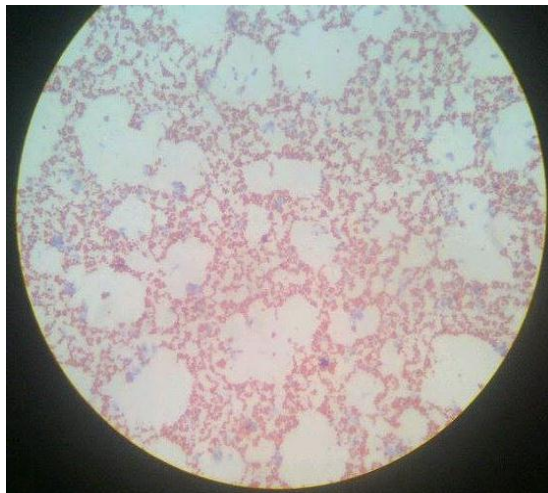
Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli*



Identifikasi makroskopis *Escherichia coli* dalam media Endo Agar (EA)

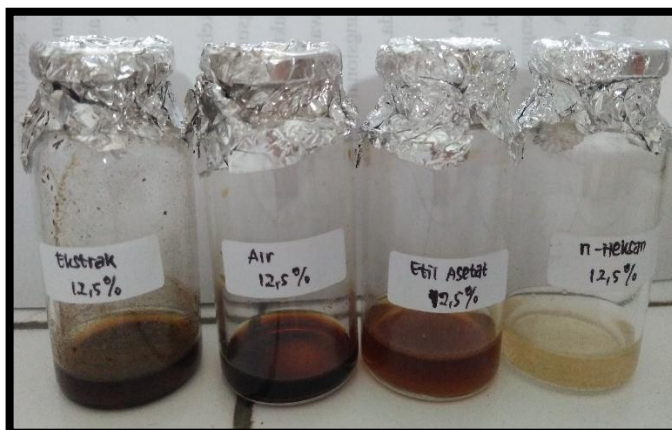
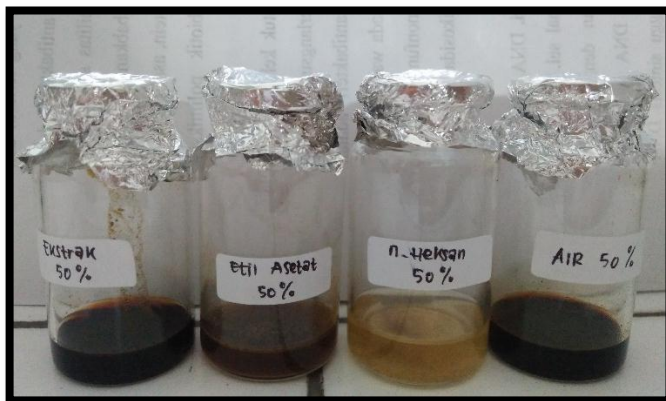


Identifikasi biokimia *Escherichia coli* dengan media SIM, KIA, LIA dan CITRAT

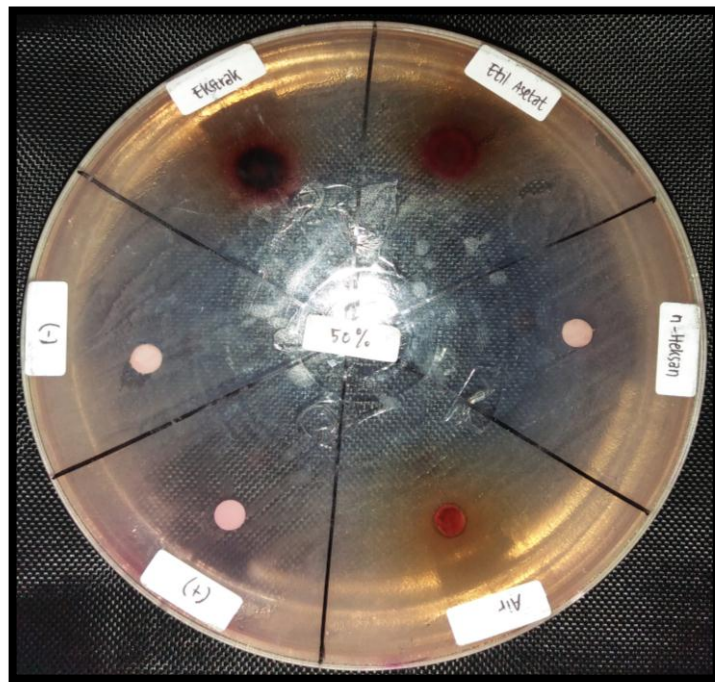


Identifikasi *Escherichia coli* secara mikroskopis dengan pewarnaan gram

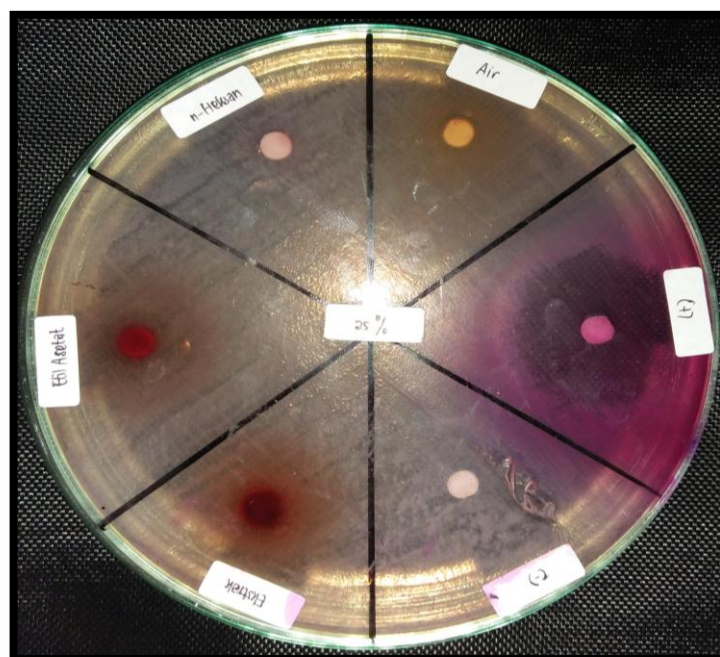
Lampiran 8. Pengenceran 50%, 25%, 12,5% dari fraksi n-heksan, etil asetat dan air



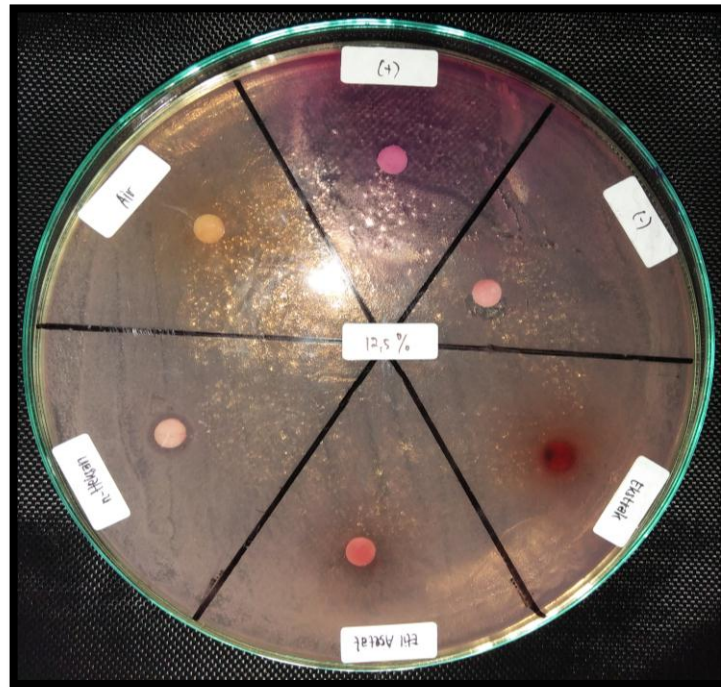
Lampiran 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun jambu air secara difusi terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922



Uji aktivitas antibakteri metode difusi konsentrasi 50%



Uji aktivitas antibakteri metode difusi konsentrasi 25%

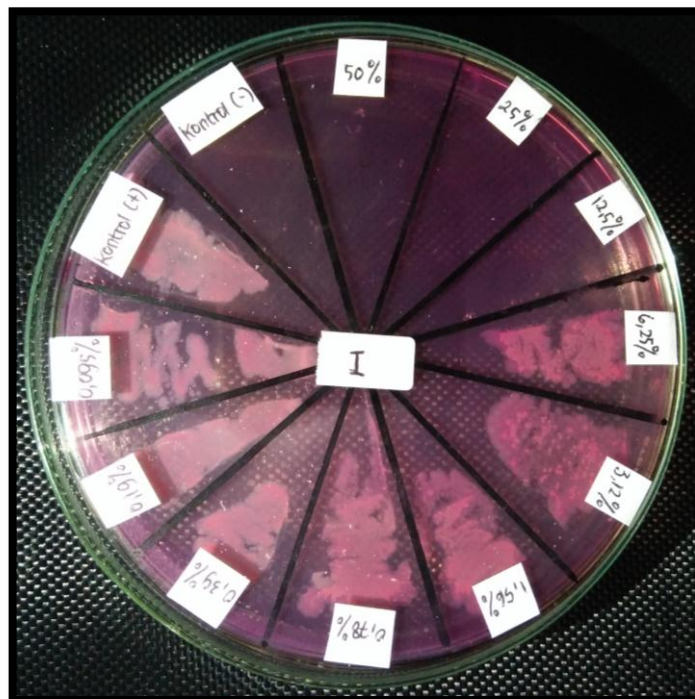


Uji aktivitas antibakteri metode difusi konsentrasi 12,5%

Lampiran 10. Hasil inkubasi fraksi teraktif etil asetat daun jambu air terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi



Fraksi etil asetat pada pengenceran tabung



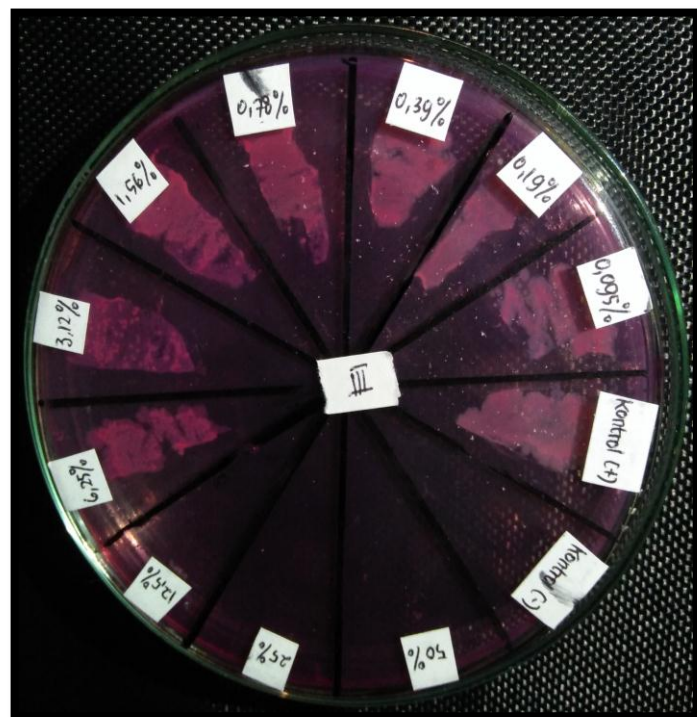


Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu air terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media EA

Lampiran 11. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase (% b/b)
5000	1820	36,40

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah :

$$\% \text{ bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ bobot kering} = \frac{1820}{5000} \times 100\% = 36,40\%$$

Lampiran 12. Hasil prosentase ekstrak etanol daun jambu air

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Prosentase (% b/b)
750	250	33,33

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

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{250}{750} \times 100\% = 33,33\%$$

Lampiran 13. Hasil perhitungan persen rendemen fraksi *n*-heksana daun jambu air

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,157	0,738	7,26
10,283	0,733	7,12
10,125	0,736	7,27
Rata - rata		7,21

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun jambu air :

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{0,738}{10,157} \times 100\% = 7,26\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{0,733}{10,283} \times 100\% = 7,12\%$$

$$\% \text{ Rendemen III} = \frac{0,736}{10,125} \times 100\% = 7,27\%$$

Prosentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana dari daun jambu air adalah=

$$\frac{7,26 + 7,12 + 7,27}{3} = 7,21\% \text{ b/b}$$

Lampiran 14. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun jambu air (*Syzygium aqueum*)

Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun turi

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
10,157	2,460	24,21
10,283	2,455	23,87
10,125	2,457	24,26
Rata - rata		24,11

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun jambu air :

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{2,460}{10,157} \times 100\% = 24,21\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{2,455}{10,283} \times 100\% = 23,87\%$$

$$\% \text{ Rendemen III} = \frac{2,457}{10,125} \times 100\% = 24,26\%$$

Prosentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat dari daun jambu air adalah=

$$\frac{24,21 + 23,87 + 24,26}{3} = 24,11\% \text{ b/b}$$

Lampiran 15. Hasil perhitungan rendemen fraksi air dari daun jambu air
(Syzygium aqueum)

Hasil perhitungan rendemen fraksi air dari daun jambu air

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase (% b/b)
10,157	3,796	37,37
10,283	3,793	36,87
10,125	3,794	37,47
Prosentase rendemen rata-rata		37,23

Perhitungan rendemen fraksi air dari daun jambu air :

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{3,796}{10,157} \times 100\% = 37,37\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{3,793}{10,283} \times 100\% = 36,87\%$$

$$\% \text{ Rendemen III} = \frac{3,794}{10,125} \times 100\% = 37,47\%$$

Prosentase rata-rata rendemen fraksi air dari daun jambu air adalah =

$$\frac{37,37 + 36,87 + 37,47}{3} = 37,23\% \text{ b/b}$$

Lampiran 16. Perhitungan konsentrasi fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air secara difusi

1. Konsentrasi 50 %.

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

$$\frac{10\text{ ml}}{1000\text{ ml}} \times 500\text{ g} = 5\text{ g}$$

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

2. Konsentrasi 25 %.

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

$$\frac{10\text{ ml}}{1000\text{ ml}} \times 250\text{ g} = 2,5\text{ g}$$

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

3. Konsentrasi 12,5 %.

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

$$\frac{10\text{ ml}}{1000\text{ ml}} \times 125\text{ g} = 1,25\text{ g}$$

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

Keterangan :

Untuk fraksi air dilarutkan dalam aquadest steril.

Lampiran 17. Perhitungan Konsentrasi Ciprofloxacin secara difusi

1 tablet mengandung 500 mg Ciprofloxacin

Larutan antibiotic Ciprofloxacin dibuat dengan konsentrasi 0,5%

$$= \frac{0,5 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{5 \text{ mg}}{1 \text{ mL}}$$

Ditimbang 5 mg tablet Ciprofloxacin dimasukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan aquades steril sampai 1 mL.

Lampiran 18. Pembuatan konsentrasi fraksi teraktif secara dilusi

Larutan stock = 50% b/v
 = 50 gram/100 mL
 = 1 gram/2 mL

Ditimbang 1 gram fraksi etil asetat dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan DMSO 1% ad 2 mL.

Tabung 1 sebagai kontrol negatif (-) yang berisi fraksi etil asetat

Tabung 12 sebagai kontrol positif (+) yang berisi suspensi bakteri + media ad 1 mL.

1. Konsentrasi 50%

Dipipet 0,5 mL dari larutan stock lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2, kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

2. Konsentrasi 25%

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

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

$$V_1 = \frac{1 \cdot 25\%}{50\%}$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

3. Konsentrasi 12,5%

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

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

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

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

4. Konsentrasi 6,25%

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

$$V_1 \cdot 12,5\% = 1 \cdot 6,25\%$$

$$V_1 = \frac{1,6,25\%}{12,5\%}$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (12,5%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

5. Konsentrasi 3,12%

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

$$V_1 \cdot 6,25\% = 1 \cdot 3,12\%$$

$$V_1 = \frac{1,3,125\%}{6,25\%}$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (6,25%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

6. Konsentrasi 1,56%

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

$$V_1 \cdot 3,125\% = 1 \cdot 1,56\%$$

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

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

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (3,12%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

7. Konsentrasi 0,78%

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

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

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

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (1,56%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

8. Konsentrasi 0,39%

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

$$V_1 \cdot 0,78\% = 1 \cdot 0,39\%$$

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

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (0,78%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

9. Konsentrasi 0,195%

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

$$V_1 \cdot 0,39\% = 1 \cdot 0,195\%$$

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

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (0,39%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

10. Konsentrasi 0,095%

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

$$V_1 \cdot 0,195\% = 1 \cdot 0,095\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 0,095\%}{0,195\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,195%) kemudian ditambah media BHI sampai volume 1 mL.

Lampiran 19. Hasil Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT

Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



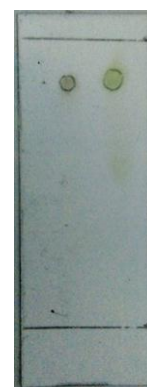
S P

UV 254 nm



S P

UV 366 nm



S P

Pereaksi Semprot Sitroborat

Keterangan:

S : Sampel

P : Standar kuersetin

Perhitungan Rf Flavonoid

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

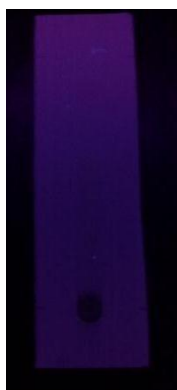
$$R_f \text{ kuersetin} = \frac{4,2\text{cm}}{5 \text{ cm}} = 0,85$$

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

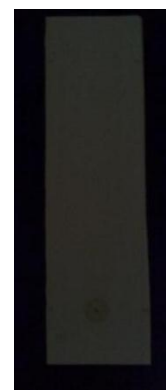
Hasil Identifikasi tanin fraksi etil asetat daun jambu air



UV 254 nm



UV 366 nm

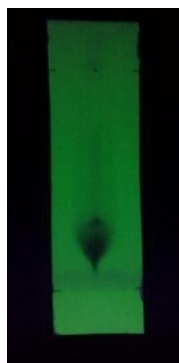
Pereaksi semprot FeCl₃

Hasil identifikasi tanin fraksi etil asetat daun jambu air pada fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak toluen:etil asetat (3:1)

Perhitungan Rf Tanin

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

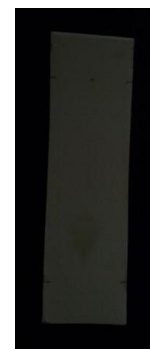
$$R_f \text{ sampel} = \frac{3.4 \text{ cm}}{5 \text{ cm}} = 0,68$$

Hasil identifikasi fenolik fraksi etil asetat daun jambu air

UV 254 nm



UV 366 nm

Pereaksi semprot FeCl₃

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 R_f fenolik

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

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

Lampiran 20. Hasil uji statistik

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DayaHambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17.8371
	Std. Deviation	9.76824
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.140
	Negative	-.068
Kolmogorov-Smirnov Z		.904
Asymp. Sig. (2-tailed)		.387

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Daya Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.819	13	28	.638

ANOVA

DayaHambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3909.035	13	300.695	2694.342	.000
Within Groups	3.125	28	.112		
Total	3912.159	41			

Homogeneous Subsets

DayaHambat

Tukey HSD^a

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
DMSO 1%	3	.0000											
Air 12,5%	3		7.3333										
n-Heksana 12,5%	3			10.1667									
Ekstrak 12,5%	3				12.3333								
Air 25%	3					13.3333							
Etil asetat 12,5%	3					14.1667							
n-Heksana 25%	3						15.1667						
Air 50%	3							19.0000					
Ekstrak 25%	3								20.1667				
Etil asetat 25%	3								21.0000	21.0000			
n-Heksana 50%	3									21.3333			
Ekstrak 50%	3										26.8333		
Etil asetat 50%	3											28.0000	
Ciprofloxacin	3												40.8867
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.177	1.000	1.000	.177	.992	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

