

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK
DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas
aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* KULTUR
LABORATORIUM DAN SAMPEL PUS
RSUD Dr MOEWARDI**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :

**Nurrita Putri Anggraini
06130208N**

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

HALAMAN PERSETUJUAN

Tugas Akhir :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK
DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas
aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* KULTUR
LABORATORIUM DAN SAMPEL PUS
RSUD Dr MOEWARDI**

Oleh :
Nurrita Putri Anggraini
06130208N

Surakarta, Juli 2017

Menyetujui untuk Ujian Sidang Akhir

Pembimbing Utama



Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si.
NIS. 01201303251170

Pembimbing Pendamping



Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc.
NIS. 01201409161187

HALAMAN PENGESAHAN

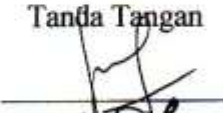



Tugas Akhir :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK
DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas
aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* KULTUR
LABORATORIUM DAN SAMPEL PUS
RSUD Dr MOEWARDI**

Oleh :

**Nurrita Putri Anggraini
06130208N**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal, 29 Juli 2017

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I : Dra. Nony Puspawati, M.Si.		29 Juli 2017
Penguji II : Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.		29 Juli 2017
Penguji III : Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc.		29 Juli 2017
Penguji IV : Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si.		29 Juli 2017

Mengetahui,



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

Ketua Program Studi
D-IV Analisis Kesehatan



Tri Mulyowati, SKM., M.Sc.
NIS. 01.2011.153

HALAMAN PERSEMBAHAN

PERSEMBAHAN

Tugas Akhir ini kupersembahkan untuk:

1. **ALLAH SWT** yang telah memberikan hidup dan memegang kematian setiap makhluk. Semoga dari awal proses sampai karya ini selesai dapat memberikan amalan bagi kita semua. Amin.
2. **Rasulullah SAW** semoga shalawat dan salam selalu tercurah kepada Beliau Nabi Muhammad SAW, keluarga serta sahabat.
3. **Ayah dan IbuTercinta** yang telah memberikan kasih sayang, cinta, pengorbanan, dan dukungan dalam hidupku, semoga butir-butir keringat, untaian doa dan kesabaran tiada henti
4. **Sahabat-sahabatku** terimakasih atas semangat, motivasi, perhatian, kasih sayang, canda tawa, arti kebersamaan selama ini. Semoga kita selalu bisa menjaga tali silaturahmi sampai kita tua nanti.
5. **Almamater** Universitas Setia Budi.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tugas akhir 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 tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, Juli 2017

Hormat saya,

Nurrita Putri Anggraini

06130208N

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikumWr. Wb

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah dan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tugas akhir yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* KULTUR LABORATORIUM DAN SAMPEL PUS RSUD Dr. MOEWARDI”

Tugas Akhir ini dibuat sebagai sebagian persyaratan sebagai Sarjana Sains Terapan D-IV Program Studi Analisis Kesehatan. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Setia Budi Surakarta, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan laporan penelitian tugas akhir ini.

Tugas akhir ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan (S.S.T) pada program studi Diploma IV di Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta. Penulis menyadari bahwa penyelesaian tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak-banyak terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sesuai dengan harapan.

2. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. dr. Marsetyawan HNE S., M.Sc. P.hD selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Ibu Tri Mulyowati, SKM., M.Sc selaku Ketua Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
5. Guruh Sri Pamungkas, S.Pt., M.Si., selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, nasehat, semangat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
6. Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc, selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
7. Kepala instalasi Laboratorium RSUD Dr Moewardi Surakarta beserta staff yang telah memberikan kesempatan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian.
8. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staff perpustakaan dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.
9. Kedua orang tua yang tercinta, Papa Sutarman, dan Mama Sri Suparni, adikku tersayang Muhammad Rafi Nugroho yang selalu menyebut namaku dalam setiap doanya, semoga setiap tetes keringatnya, setiap lelahnya dapat terwujud sebagai keberhasilanku. Keluarga besar yang selalu memberikan dorongan baik moril maupun materi dan tak pernah bosan mendoakan penulis dalam menempuh studi dan mewujudkan cita-cita.

10. Sahabat tercinta Magistia, Jessica, Putri, Nando yang dengan sabar menuntun dan menemani ketika diujung rasa letih dan buntu, yang selalu memberikan semangat.

11. Terima kasih untuk Tim Bakteriologi Rosya dan Klara atas kerjanya.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga Tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu Analisis Kesehatan serta bagi siapa saja yang membacanya.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Surakarta, Juli 2017

Penulis,

Nurrita Putri Anggraini

06130208N

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Tanaman Kepuh (<i>Sterculia foetida L.</i>).....	6
1.1 Klasifikasi.....	6
1.2 Nama Lain	6
1.3 Morfologi Tanaman.....	6
1.4 Kegunaan Tanaman.....	7
1.5 Kandungan Kimia Tanaman Kepuh.....	8
2. Simplisia.....	12
2.1 Pengertian Simplisia.....	12
2.2 Pengeringan dan Pencucian Simplisia.....	12
3. Metode Ekstraksi.....	13
3.1 Pengertian.....	13

3.2 Metode Ekstraksi Perkolasi	14
3.3 Pelarut.....	14
4. Bakteri	15
4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
5. Sterilisasi	25
6. Antibakteri.....	25
6.1 Aktivitas Antibakteri	25
7. Antibiotik.....	26
B. Landasan Teori	27
C. Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN	31
A. Waktu dan Tempat Penelitian	31
B. Rancangan Penelitian	31
C. Populasi dan Sampel.....	31
1. Populasi	31
2. Sampel	32
D. Variabel Penelitian	32
1. Identifikasi Variabel Utama	32
2. Klasifikasi Variabel Utama	32
2.1. Variabel Bebas	32
2.2. Variabel Tergantung.....	32
3. Definisi Operasional Variabel Utama	32
E. Bahan dan Alat	33
1. Bahan Penelitian.....	33
1.1. Sampel.....	33
1.2. Bakteri Uji	33
1.3. Media.....	34
1.4. Bahan Lain	34
2. Alat Penelitian	34
F. Prosedur Penelitian.....	34
1. Deskripsi Tanaman.....	34
2. Pembuatan Serbuk Daun Kepuh.....	35
3. Identifikasi Golongan Senyawa.....	35
3.1 Saponin.....	35
3.2 Flavonoid.....	35
3.3 Polifenol	35
3.4 Tannin.....	36
3.5 Triterpenoid	36
4. Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Kepuh.....	36
5. Pembuatan Ekstrak Perkolasi Daun Kepuh.....	36
6. Uji Bebas Etanol.....	37
7. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kepuh.....	37
8. Pembuatan Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	37
9. Pembuatan Media <i>Brain Heart Infusion</i> (BHI).....	38

10. Pembuatan Media <i>Vogel Johnson Agar</i> (VJA)	38
11. Pembuatan Media <i>Pseudomonas Selective Agar</i> (PSA)....	38
12. Identifikasi Bakteri dari Sampel Pus Pasien dan Kultur Laboratorium	39
12.1 Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Sampel Pus Pasien.....	39
12.2 Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Kultur Laboratorium	40
12.3 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dari Sampel Pus Pasien	41
12.4 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dari Kultur Laboratorium	41
13. Pengujian Aktivitas Bakteri.....	42
G. Teknik Analisa Data	42
1. Uji Normalitas	43
2. <i>Analysis of Varians</i> (One Way ANOVA).....	43
H. Skema Penelitian	44
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 45
1. Hasil Determinasi Daun Kepuh.....	45
2. Pengambilan Bahan	45
3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh	46
4. Hasil Pembuatan Perkolat Etanol 96% Daun Kepuh	46
5. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kepuh.....	47
6. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia	47
7. Isolasi Bakteri dan Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	49
7.1. Mikroskopis.....	49
7.2. Makroskopis	50
8. Isolat Bakteri dan Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	52
8.1. Mikroskopis.....	52
8.2. Makroskopis	52
9. Analisis Data	55
10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	56
 BAB V PENUTUP	 67
A. Kesimpulan.....	67
B. Saran	67
 DAFTAR PUSTAKA	 68
 LAMPIRAN.....	 74

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Penelitian	44
Gambar 2. Mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	49
Gambar 3. Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> di media PSA. A: Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> di media PSA kultur laboratorium. B: koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat pus pasien.....	50
Gambar 4. Hasil Uji Biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . A: Hasil uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> kultur laboratorium. B: Hasil uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat pus pasien. ...	51
Gambar 5. Mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Gambar 6. Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> kultur laboratorium dan isolat pus pasien di media VJA.....	53
Gambar 7. Uji Katalase	53
Gambar 8. Uji Koagulase.....	54
Gambar 9. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Kultur Laboratorium.....	58
Gambar 10. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Isolat Pus Pasien.....	60
Gambar 11. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien.....	62
Gambar 12. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien	64

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Kepuh	37
Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh	46
Tabel 3. Randemen Ekstrak.....	46
Tabel 4. Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kepuh	47
Tabel 5. Identifikasi Kandungan Kimia.....	47
Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Kultur Laboratorium.....	57
Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dari Kultur Laboratorium	58
Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Isolat Pus Pasien	59
Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dari Isolat Pus Pasien.....	60
Tabel 10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien	61
Tabel 11. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien	63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan	75
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian	76
Lampiran 3. Bukti Pengajuan Kelaikan Etik	77
Lampiran 4. Kelaikan Etik	78
Lampiran 5. Surat Pengantar Penelitian.....	79
Lampiran 6. Daun Kepuh dan Serbuk Daun Kepuh	80
Lampiran 7. Hasil Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	81
Lampiran 8. Hasil Isolasi yang diduga Positif <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	82
Lampiran 9. Penentuan Kadar Air	83
Lampiran 10. Hasil Ekstrak	84
Lampiran 11. Alat Penelitian dan Sampel Klinis.....	85
Lampiran 12. Uji Aktivitas Antibakteri	86
Lampiran 13. Uji Biokimia, Katalase, dan Koagulase.....	87
Lampiran 14. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kepuh.....	88
Lampiran 15. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> dari Kultur Laboratorium.....	89
Lampiran 16. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> dari Isolat Pus Pasien	90

Lampiran 17. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien.....	91
Lampiran 18. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (<i>Sterculia foetida</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien.....	92
Lampiran 19. Uji Normalitas Data.....	93
Lampiran 20. Uji ANOVA.....	94
Lampiran 21. Formulasi dan Pembuatan Media	97

INTISARI

Anggraini N.P., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Sampel Pus RSUD Dr. Moewardi. D-IV Program Studi Analis Kesehatan. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Setia Budi.

Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang digunakan sebagai antibakteri, yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, triterpenoid, tanin dan polifenol sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien.

Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak dengan cara perkolasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi. Pengenceran ekstrak daun kepuh dibuat dalam berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40% dan 50%) dengan menggunakan DMSO 2%. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* diisolasi ke media PSA dan VJA dari isolat pus pasien di RSUD Dr. Moewardi Surakarta sedangkan kultur laboratorium berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kepuh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium pada konsentrasi 50% sebesar 24,3 mm, sedangkan diameter zona hambat ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* isolat pus pasien sebesar 20,0 mm. Diameter zona hambat ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium pada konsentrasi 50% sebesar 22,3 mm, sedangkan zona hambat ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* isolat pus pasien sebesar 20,7 mm. Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat kedua bakteri kultur laboratorium lebih besar dari pada isolat pus pasien.

Kata kunci: ekstrak daun kepuh, antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Anggraini, N.P., 2017. Antibacterial Activity Test of *Sterculia foetida* L. Ethanol Leaf Extract Against *Pseudomonas aeruginosa* And *Staphylococcus aureus* both Laboratories Culture and RSUD Dr. Moewardi Sample Pus. D-IV Health Analyst Study Program, Health Science Faculty, Setia Budi University.

Sterculia foetida L. leaves are one of the traditional medicinal plants used as antibacterial containing saponins, flavonoids, triterpenoids, tannins and polyphenols compounds. Research aims to determine the antibacterial activity *Sterculia foetida* L. Ethanol leaf extract against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in laboratory cultures with pus patient isolates.

This method used to obtain the extract by percolation using 96% ethanol solvent. The antibacterial activity test was performed by diffusion method. Dilution of the leaves extract was made in various concentrations (10%, 20%, 30%, 40% and 50%) using 2% DMSO. *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were isolated to media PSA and VJA from both the isolated pus in Dr. Moewardi Surakarta hospital while the laboratories culture came from Setia Budi Surakarta University Microbiology Laboratory

The results showed that the leaves extract had an antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Inhibition zone resin of *Sterculia foetida* L. to *Pseudomonas aeruginosa* laboratories culture at concentration 50% equal to 24,3 mm, inhibition zone *Sterculia foetida* L. leaf extract to *Pseudomonas aeruginosa* pus patient isolate was 20,0 mm. Inhibition zone of *Sterculia foetida* L. to *Staphylococcus aureus* laboratories culture at concentration 50% equal to 22,3 mm, *Sterculia foetida* L leaf extract to *Staphylococcus aureus* pus patient isolate was 20,7 mm. This shows that the inhibition zone of both laboratories culture is greater than pus patient isolate.

Keywords: Leaves extract, antibacterial, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penggunaan bahan alam sebagai pengobatan sudah dikenal masyarakat sejak dahulu. Bahan alam sebagai obat ini bisa berasal dari tumbuhan, hewan maupun mineral. Indonesia merupakan tempat berbagai jenis tumbuhan obat, lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat terbesar diseluruh negara ini. Sekitar 1000 jenis tanaman telah terdata dan baru sekitar 300 jenis tanaman yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional. Beberapa contoh tanaman sebagai obat salah satunya adalah tanaman kepuh (Akbar, 2010).

Tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang merupakan sumber metabolit sekunder, yang juga terkenal karena kandungan *phenolic* yang dapat digunakan seperti antibakteri dan antioksidan (Shivarkumar dan Vidyasagar, 2014). Daun kepuh juga berkhasiat sebagai obat rematik, TBC, radang selaput lendir mata, dan kepala pusing. Ekstrak daun kepuh dapat diminum untuk mengobati demam dan memiliki aktivitas antiinflamatori dan analgesik. Tumbuhan kepuh yang lain seperti kulit batang, buah, dan biji juga dapat digunakan sebagai obat sakit perut, batuk, borok, kudis, kencing nanah dan raja singa (Asih *et al.*, 2010). Tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) memiliki kandungan senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan triterpenoid (Mari *et al.*, 2016). Daun kepuh diketahui mengandung 2,66% kalsium. Ekstrak etanol daun kepuh telah diketahui mengandung triterpenoid dan steroid, sedangkan pada bijinya mengandung 34% asam lemak (olein dan laurin)

kandungan daun kepuh dapat digunakan untuk mengobati infeksi (Asih *et al.*, 2010).

Infeksi merupakan salah satu permasalahan kesehatan yang sulit diatasi secara tuntas. Penyebab infeksi adalah mikroorganisme termasuk bakteri dan jamur. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dilaporkan masih menjadi masalah kesehatan penting di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia (Muhaimin *et al.*, 2003). Salah satu jenis infeksi yaitu infeksi pada luka bakar yang mengakibatkan pembedahan. Luka bakar merupakan kerusakan pada kulit yang disebabkan oleh kontak langsung dengan panas (api, benda panas), zat kimia dan listrik (Departemen Kesehatan Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1997). Luka bakar ini apabila tidak cepat diobati akan menimbulkan terjadinya infeksi karena adanya jaringan mati yang akan menjadi tempat yang subur untuk tumbuhnya bakteri. Akibat dari infeksi ini berupa timbulnya nanah (Kuntaman, 2007).

Tingkat suatu kegawatan yang terjadi dapat dipengaruhi oleh luas dan dalamnya permukaan tubuh yang mengalami luka bakar. Semakin luas dan dalam permukaan tubuh yang terlibat, semakin sulit dan lama proses penyembuhannya. Selain itu, luka yang dalam dan luas juga akan meningkatkan resiko terjadinya infeksi baik itu lokal maupun sistemik (Church *et al.*, 2006).

Luka bakar jika tidak diobati dengan benar maka akan sangat rentan oleh infeksi bakteri maupun jamur. Diperkirakan 75% kematian diakibatkan oleh infeksi luka bakar, baik sistemik maupun lokal (Bowler, 2001). Penelitian yang telah dilakukan ditemukan adanya pola-pola kuman tertentu yang biasanya sering

menjadi penyebab infeksi pada luka bakar. Bakteri penyebab infeksi pada luka bakar sering kali merupakan flora normal pada tubuh manusia. Flora normal pada kulit, saluran nafas, maupun saluran cerna manusia utamanya sering membentuk koloni pada luka luar. Beberapa bakteri aerob seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp diketahui sering menjadi kontaminan utama pada luka bakar disamping jamur seperti *Candida* spp., *Aspergillus*, dan *Fusarium* (Al' Akayleh, 1999).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif, aerob, dan bergerak dengan menggunakan flagel, dan merupakan bakteri oportunistik. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menimbulkan penyakit di berbagai jaringan antara lain pada saluran pernapasan, mata, saluran kemih, dan kulit (Todar, 2004).

Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi pneumonia nosokomial dan luka bernanah, menimbulkan pus hijau kebiruan. Penyakit yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dimulai dengan penempelan dan kolonisasi bakteri ini pada jaringan inang. Bakteri ini menggunakan fili untuk menempel pada permukaan inang (Jawetz *et al.*, 2012).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, bulat, tidak bergerak dan tidak berspora, umumnya bergerombol seperti anggur, serta menghasilkan pigmen yang berwarna kuning emas. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit (Radji, 2010).

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama pada manusia. Penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia yang dapat menyebabkan sepsis pada luka, bisul atau abses setempat, jerawat dan lesi-lesi kulit pada bayi

dengan tingkat keparahan yang beragam, dari infeksi kulit ringan hingga infeksi berat. *Staphylococcus aureus* juga mempunyai sifat hemolisa yaitu dapat menghemolisa darah merah. Infeksi yang ditimbulkan dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe (Jawetz *et al.*, 2005).

Luka bakar jika tidak segera diobati akan sangat rentan timbulnya infeksi. Infeksi yang timbul dapat dihambat dengan menggunakan tanaman daun kepuh yang akan dibuktikan dengan cara melakukan penelitian oleh penulis. Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, penulis tertarik untuk melakukan suatu penelitian mengenai Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada Kultur Laboratorium dan Sampel Pus RSUD Dr Moewardi.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan diameter zona hambat ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien?
2. Apakah ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui perbedaan diameter zona hambat ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien.
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi :

a. Bagi peneliti

Menambah wawasan ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) sebagai antibakteri untuk peningkatan pelayanan kesehatan.

b. Bagi masyarakat

Menambah wawasan tentang manfaat daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang dapat di gunakan sebagai obat tradisional pada bagian tubuh yang terluka atau luka bernanah.

c. Bagi ilmu pengetahuan

Menambah ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi sebagai salah satu alternatif untuk pencegahan infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.)

1.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari Kepuh adalah:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Malvales
Family	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Sterculia</i>
Species	: <i>Sterculia foetida</i> L.

(*National Tropical Botanical Garden*, 2016)

1.2 Nama Lain

Tanaman kepuh memiliki nama daerah: halumpang (Batak), kepuh, kepuh, atau jangkang (Jawa), thangkang (Madura), kekepahan (Bali), *kapasa* (Sumba), kalumpang (Makasar), alumpang (Bugis), fongol (Banda), kailupa furu (Ternate), dan kailupa buru (Tidore) (Depkes RI, 2001).

1.3 Morfologi Tanaman

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) memiliki tinggi mencapai 45 m, diameter 90-125 cm. Batang kepuh lurus, bercabang banyak dan bentuk percabangannya simpodial. Batangnya memiliki ciri khas tegak dengan kulit

mengelupas dan sering dijumpai memiliki batang kembar. Warna batang luar abu-abu, coklat muda sampai tua, dan secara ekologi perakaran kepuh yang kuat sehingga kepuh juga berfungsi sebagai pengatur siklus hidrologi mikro bagi sekitar tempat. Daun-daunnya berbentuk majemuk menjari, mempunyai tangkai 12,5-23 cm, terkumpul diujung ranting. Anak daun berjumlah 7-9, berbentuk jorong lonjong dengan ujung dan pangkal meruncing, panjang 10-17 cm.

Bunganya berkelamin satu, berumah satu biasanya terdapat pada ketiak daun yang masih muda dan mengeluarkan bau busuk. Bentuk bunga majemuk tersusun dalam malai dekat ujung ranting, panjang 10-15 cm, hijau atau ungu pudar dengan kelopak yang berbagi-5 laksana mahkota, taju hingga 1,3 cm, berwarna jingga. Buah kepuh berukuran relatif besar, berwarna hijau jika masih muda setelah matang berubah menjadi merah, kadang-kadang hitam dan membuka. Tempat tumbuh kepuh adalah dataran rendah dengan ketinggian kurang dari 1000 m dpl. Kepuh yang berbuah banyak akan dijumpai pada ketinggian 300-600 m dpl (Maryanti dan Rina, 2014).

1.4 Kegunaan Tanaman

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida* L.) mempunyai cukup banyak kegunaan, mulai dari bagian tanaman dari kulit batang, daun, buah hingga biji. Kulit pohon dan daun dapat digunakan sebagai obat untuk beberapa penyakit antara lain rheumatic, diuretic dan diaphoretic. Kulit buah kepuh juga dimanfaatkan sebagai bahan ramuan untuk membuat kue, sementara bijinya dapat dimakan dengan rasa gurih. Biji kepuh mengandung minyak nabati yang terdiri atas asam lemak yaitu asam sterkulat. Asam lemak ini dapat digunakan sebagai

ramuan berbagai produk industri seperti kosmetik, sabun, shampoo, pelembut kain, cat, dan plastik. Asam lemak minyak kepuh juga dapat digunakan sebagai zat adaptif biodisel yang memiliki titik tuang 180°C menjadi $11,250^{\circ}\text{C}$ (Maryanti dan Rina, 2014). Ekstrak daun kepuh dapat diminum untuk mengobati demam dan memiliki aktivitas antiinflamatori dan analgesik (Asih, 2010).

Tanaman Kepuh (*Sterculia foetida L.*) juga berfungsi sebagai mikro habitat hewan tertentu. Selain itu pohon kepuh memiliki tajuk dan perakaran yang cukup besar, maka dapat berfungsi sebagai pengatur siklus hidrologi karena akarnya dapat menahan air tanah dengan kapasitas yang cukup besar (Maryanti dan Rina, 2014).

1.5 Kandungan Kimia Tanaman Kepuh

Tanaman kepuh (*Sterculia foetida L.*) memiliki kandungan senyawa kimia seperti : saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan triterpenoid (Mari *et al.*, 2016). Ekstrak etanol daun kepuh telah diketahui mengandung triterpenoid dan steroid, sedangkan pada bijinya mengandung 34% asam lemak (olein dan laurin) kandungan daun kepuh dapat digunakan untuk mengobati infeksi (Asih *et al.*, 2010).

1.5.1 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin, yaitu Saponin yang berarti sabun karena sifatnya yang menyerupai sabun. Saponin merupakan senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah menyebabkan hemolisis sel darah merah. Sifat-sifat saponin adalah mempunyai rasa pahit, dalam larutan air membentuk busa yang

stabil, menghemolisa eritrosit, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksi steroid lainnya, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi, berat molekul yang relatif tinggi (Lenny, 2006).

Senyawa saponin dapat merusak membran. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.*, 2014).

1.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan dalam jaringan tanaman dan termasuk golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B dan cincin tengah berupa heterosiklik. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya dan berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

Senyawa ini dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol, warnanya berubah bila ditambah basa atau amonium,

jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau larutan (Harborne, 1987).

Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.*, 2012).

1.5.3 Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan dengan berat molekul rendah namun bersifat labil. Zat ini memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Polifenol berperan dalam memberi warna pada tumbuhan seperti warna daun saat musim gugur. Kelompok polifenol berperan sebagai antioksidan yang baik untuk kesehatan (Perwita, 2011).

Polifenol merupakan bahan polimer yang penting dalam tumbuhan dan mudah larut dalam air, karena senyawa polifenol berikatan dengan gula sebagai glikosida. Antioksidan pada polifenol memiliki aktivitas biologis sebagai penangkal radikal bebas dan dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Hernani dan Raharjo, 2005).

1.5.4 Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan di sintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristiknya yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Senyawa Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin

yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer gallic atau ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Tumbuhan yang memiliki tanin, terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan tumbuhan rusak maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tannin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi karena tanin mengikat kuat besi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA (Priya, 2014).

1.5.5 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan famili terbesar ketiga dari tripenoid. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk suatu ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas

dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Santoso, 2012).

2. Simplisia

2.1 Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan berdasarkan 3 golongan, yaitu:

- a. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni.
- b. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.
- c. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes RI 2000).

2.2 Pengeringan dan Pencucian Simplisia

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar oleh peptisida. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah

larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Gunawan dan Mulyani 2004).

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penurunan mutu atau perusakan simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik tidak akan berlangsung bila kadar air simplisia kurang dari 10%. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% (Prastowo, 2013).

Selama proses pengeringan hal yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara sewaktu proses pengeringan. Cara pengeringan simplisia dibagi menjadi 2 macam yaitu, pengeringan alamiah dengan menggunakan panas matahari langsung atau dengan diangin-anginkan tidak dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dengan oven atau mesin pengering yang sudah diatur suhu kelembaban, tekanan dan aliran udaranya (Gunawan dan Mulyani, 2004).

3. Metode Ekstraksi

3.1 Pengertian

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, semua atau sebagian pelarut diuapkan dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya (Ansel, 1989).

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian senyawa kimia yang terdapat di dalam bahan alam atau berasal dari dalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat (Emilan, 2011).

3.2 Metode Ekstraksi Perkolasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode perkolasi. Metode perkolasi adalah cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui simplisia yang telah di basahi. Perkolasi dibuat dengan cara menempatkan serbuk simplisia dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi yaitu gaya berat, daya larut, kekentalan, tegangan, permukaan, osmosis, difusi, adhesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi) (Depkes, 1986).

Proses perkolasi terdiri dari 3 tahap, yaitu: pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) yang dilakukan terus menerus sampai diperoleh ekstrak/perkolat yang jumlahnya 1-5 kali dari volume bahan (Perwita, 2011).

3.3 Pelarut

Pelarut yang dipakai harus diperhatikan sifat kandungan kimia (metabolit sekunder) yang akan diekstraksi. Sifat kandungan kimia yang penting adalah sifat kepolaran, dapat dilihat dari gugus polar senyawa tersebut yaitu gugus OH,

COOH. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar, dan senyawa non polar akan lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Derajat kepolaran tergantung pada ketetapan dielektrik, makin besar tetapan dielektrik makin polar pelarut tersebut. Syarat sebuah pelarut yang digunakan untuk ekstraksi antara lain berkapasitas besar, selektif, volabilitas cukup rendah (kemudahan menguap/titik didihnya cukup rendah) cara memperoleh penguapannya adalah dengan cara penguapan pada temperature 60°C dan destilasi, harus dapat diregenerasi, relative tidak mahal, viskositas cukup rendah (Emilan, 2011).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Pelarut tersebut bersifat semi polar yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Pada umumnya zat aktif yang terkandung dalam suatu tanaman bersifat polar sehingga pelarut etanol mampu berpenetrasi ke dalam sel daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan dapat menarik zat-zat aktif yang terkandung dalam tanaman kepuh. Pemilihan pelarut etanol karena etanol bersifat lebih selektif, netral, absorpsi baik, dapat memberikan perlindungan terhadap kontaminasi mikroba dan membantu pemisahan bahan yang diekstraksi (Ansel, 1989).

4. Bakteri

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terabatasi membran di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya secara khas, berbentuk bola seperti batang atau spiral. Bakteri yang khas berdiameter sekitar 0,5-1,0 μm , dan panjangnya 1,5-2,5 μm . Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu suatu proses aseksual. Beberapa bakteri dapat tumbuh pada suhu 0°C, ada yang tumbuh dengan baik pada sumber air panas yang suhunya

90°C atau lebih. Kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu di antara kedua ekstrim ini (Irianto, 2013).

4.1 *Pseudomonas aeruginosa*

4.1.1 Klasifikasi

Menurut Soedarto (2015), klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

4.1.2 Definisi

Pseudomonas aeruginosa adalah organisme yang berperan penting dalam infeksi nosokomial (infeksi di rumah sakit). Bakteri ini adalah bakteri komensial normal di traktus gastrointestinal manusia tetapi dapat membentuk koloni di bagian tubuh lain jika daya tahan tubuh pejamu terganggu, seperti pada kondisi luka bakar dan ulkus tungkai bawah, traktus respiratorius penderita fibrosis kistik atau bronkiektasis, dan traktus urinarius pasien yang menggunakan kateter uretra menetap (Elliot *et al.*, 2013).

4.1.3 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan organisme bersifat aerob obligat yang tumbuh pada sebagian besar medium (Elliot *et al.*, 2013). Bakteri

Pseudomonas aeruginosa berbentuk batang dan motil, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini bersifat gram-negatif dan tampak dalam bentuk tunggal, berpasangan dan kadang-kadang rantai pendek (Jawetz *et al.*, 2010).

4.1.4 Kultur

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur. *Pseudomonas aeruginosa* dalam kultur dapat membentuk berbagai tipe koloni, dari tipe koloni yang berbeda juga mungkin memiliki aktivitas biokimia dan enzim yang berbeda serta pola sensitivitas yang berbeda terhadap antimikroba.

Pseudomonas aeruginosa tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C; kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dari grup fluoresens. Bakteri tersebut bersifat oksidase-positif. *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi karbohidrat, tetapi banyak jalur yang mengoksidasi glukosa. *Pseudomonas aeruginosa* biasanya di dasarkan pada morfologi koloni, kepositifan oksidase, adanya pigmen khas, dan pertumbuhan pada suhu 42°C (Jawetz *et al.*, 2010).

4.1.5 Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa relatif no-patogen, bakteri ini umumnya menyebabkan infeksi pada pasien rawat inap, terutama pada pasien dengan gangguan sistem imun (Elliott *et al.*, 2013). *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik hanya jika mencapai daerah yang tidak memiliki pertahanan normal, misalnya, membran mukosa dan kulit yang terluka oleh cedera jaringan langsung, saat penggunaan kateter urin atau intravena; atau jika terdapat neutropenia, seperti pada kemoterapi kanker. Bakteri melekat dan membentuk koloni pada membran

mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal, dan menyebabkan penyakit sistemik. Proses tadi dibantu oleh pili, enzim, dan toksin yang telah disebut sebelumnya. Lipopolisakarida berperan langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia dan sindrom gawat napas dewasa. *Pseudomonas aeruginosa* dan *pseudomonas* lain resisten terhadap banyak obat antimikroba sehingga bakteri ini menjadi dominan dan penting ketika bakteri flora normal yang lebih sensitif tertekan (Jawetz *et al.*, 2010)

4.1.6 Gambaran Klinis

Pseudomonas aeruginosa menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menimbulkan pus hijau kebiruan; jika bakteri masuk melalui pungsi lumbal menyebabkan meningitis, dan jika bakteri masuk melalui kateter dan peralatan atau larutan irigasi menyebabkan infeksi saluran kemih. Jika bakteri mencapai saluran napas, khususnya dari alat bantu napas yang terkontaminasi, menyebabkan pneumonia nekrotikans. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan otitis eksterna invasif (maligna) pada pasien diabetes. Hal tersebut lazim terjadi pada pasien leukemia atau limfoma yang telah mendapatkan obat antineoplastik atau terapi radiasi dan pada pasien luka bakar berat. Pada kebanyakan infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, gejala dan tanda tidak spesifik dan berkaitan dengan organ yang terkena (Jawetz *et al.*, 2010).

4.1.7 Penyakit Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*

a. Infeksi pada Luka Bakar

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri oportunistik yang sering ditemukan pada penderita luka bakar, khususnya luka bakar yang sangat parah.

Selain infeksi lokal, sebagaimana yang telah dijelaskan, infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat berkembang menjadi infeksi sistemik di berbagai organ tubuh lain, terutama ketika daya tahan tubuh menurun atau ketika penderita juga mengidap berbagai penyakit lain seperti kanker, diabetes, neutropenia atau menderita luka bakar yang parah. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan bakteremia, septisemia, dan beberapa infeksi lain seperti pneumonia, endokarditis dan infeksi saluran kemih (Radji, 2010).

Infeksi luka bakar yang luas dapat menyebabkan seseorang mengalami trauma yang dapat berdampak pada fisik maupun psikologis. Luka bakar yang tidak diobati akan menyebabkan komplikasi, infeksi, dan perdarahan. Penanganan pada penyembuhan luka bakar bertujuan untuk mencegah terjadinya infeksi sekunder (Septiningsih, 2008).

b. Epidemiologi

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya terjadi pada penderita yang mempunyai daya tahan tubuh yang menurun, misalnya penderita luka bakar atau sakit berat, pasien yang mengonsumsi obat immunosupresan atau pasien yang menggunakan alat-alat bantu medis. *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditemukan dilingkungan rumah sakit dan peralatan yang digunakan di dalam rumah sakit, seperti kateter, peralatan suntik dan infus, peralatan makanan, peralatan mandi, dan alat kesehatan lainnya (Radji, 2010).

Pseudomonas aeruginosa memiliki kemampuan untuk tumbuh dengan nutrien minimal, misalnya di dalam air dan dengan keberadaan beberapa

desinfektan, sifat ini merupakan hal yang sangat berperan penting sebagai patogen rumah sakit (Elliott *et al.*, 2013).

c. Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium untuk menentukan keberadaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* perlu dilakukan untuk memastikan penyebab infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* dapat diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, dan dapat tumbuh pada suhu 42°C. koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbau seperti buah-buahan dan berwarna spesifik (Radji, 2010).

4.2 *Staphylococcus aureus*

4.2.1 Klasifikasi

Menurut Todar (2012), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacilliales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

4.2.2 Definisi

Staphylococcus aureus adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 µm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Kokus tunggal,

berpasangan, tetrad. *Staphylococcus aureus* bersifat non motil dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al.*, 2005).

4.2.3 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan Gram-positif berbentuk bulat, bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase, berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora. Koloni berwarna kuning pada media yang kaya nutrisi, koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur (Radji, 2010)

4.2.4 Kultur

Staphylococcus aureus dapat tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi anaerob atau mikroaerofilik. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul dan mengilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat (Jawetz *et al.*, 2010).

4.2.5 Patogenesis

Staphylococcus aureus memproduksi koagulase yang mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin dan dapat membantu organisme lain untuk membentuk barisan perlindungan. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel penjamu dan protein matriks (misalnya fibroonektin, kolagen) yang membantu organisme ini untuk melekat. Bakteri ini memproduksi enzim litik ekstraselular (misalnya lipase), yang memecah jaringan pejamu dan

membantu invasi. Beberapa strain memproduksi eksotoksin poten, yang menyebabkan sindrom syok toksik (Gillespie dan Bamford, 2008).

4.2.6 Gambaran Klinis

Infeksi stafilokokus lokal tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, atau abses. Terdapat reaksi inflamasi yang kuat, terlokalisir dan nyeri yang mengalami supurasi sentral dan sembuh dengan cepat jika pus dikeluarkan (didrainase). Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya pasca operasi infeksi stafilokokus atau infeksi yang menyertai trauma (osteomielitis kronik setelah patah tulang terbuka, meningitis yang menyertai patah tulang tengkorak) (Jawetz *et al.*, 2005).

4.2.7 Penyakit Infeksi *Staphylococcus aureus*

a. Impetigo

Impetigo adalah penyakit infeksi kulit yang menimbulkan bintil-bintil berisi nanah (Radji, 2010). Impetigo merupakan penyakit infeksi menular pada kulit yang superficial, yaitu menyerang pada epidermis kulit yang menyebabkan terbentuknya lepuhan-lepuhan kecil berisi nanah (pustula) seperti tersundut rokok atau api. Penyakit ini merupakan salah satu contoh pioderma yang sering dijumpai pada ilmu penyakit kulit dan kelamin. Impetigo terbagi dua jenis yaitu impetigo bulosa yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan non-bulosa yang disebabkan oleh *Streptococcus β hemolitikus*. Infeksinya adalah kurangnya hygiene dan terganggunya fungsi kulit (Aprilina, 2012).

b. Pemeriksaan Laboratorium

Bahan untuk pemeriksaan laboratorium dapat diperoleh dari usap tenggorokan, darah, nanah, sputum, atau cairan spinal. Pemeriksaan yang

dilakukan secara langsung dapat berasal dari nanah atau sputum langsung dibuat preparat dan diperiksa dengan pewarnaan Gram. Di bawah mikroskop, bakteri yang bersifat Gram-positif ini akan terlihat tersusun sendiri, berpasangan, atau bergerombol menyerupai buah anggur (Radji, 2010).

4.2.8 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah suhu, pH, Tekanan osmotik, oksigen.

a. Suhu

Sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada suhu tubuh manusia. Akan tetapi, beberapa bakteri dapat tumbuh dalam lingkungan ekstrem yang berada di luar batas pertahanan organisme eukariot. Bakteri digolongkan menjadi tiga bagian besar berdasarkan perbedaan suhu tumbuh: Psikrofil (hidup di udara dingin), Bakteri psikrofil adalah bakteri yang tumbuh pada suhu 0°C dengan suhu optimum 15°C dan tidak tumbuh pada suhu kamar (25°C). Bakteri ini sering ditemukan dilaut dalam dan di daerah kutub, serta sering menimbulkan masalah pada pengawetan makanan. Mesofil (hidup di udara bersuhu sedang), bakteri mesofil adalah bakteri yang tumbuh optimal pada suhu 25-40°C dan merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan. Suhu optimum bakteri patogen umumnya sekitar 37°C dan suhu inkubator untuk menginkubasi biakan bakteri ini diatur sekitar 37°C. Bakteri mesofil termasuk sebagian besar bakteri yang menyebabkan kerusakan dan penyakit. Termofil (hidup di udara panas), bakteri termofil adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu tinggi. Sebagian besar bakteri ini dapat

tumbuh pada suhu 50-60°C. Suhu seperti ini dapat terjadi di dalam tanah yang disinari matahari dan dalam sumber air panas.

b. pH

pH adalah derajat keasaman suatu larutan. Kebanyakan bakteri tumbuh subur pada pH 6,5-7,5. Sangat sedikit bakteri yang dapat tumbuh pada pH asam (di bawah pH 4). Beberapa bakteri disebut dengan *asidofil* karena dapat menoleransi keasaman.

c. Tekanan Osmotik

Bakteri memperoleh semua nutrisi dari cairan disekitarnya. Bakteri membutuhkan air untuk pertumbuhan. Tekanan osmotik yang tinggi dapat menyebabkan air keluar dari dalam sel. Sebagian besar bakteri harus tumbuh dalam media yang berair. Sebagai contoh, konsentrasi agar yang digunakan untuk memadatkan media pertumbuhan bakteri adalah 1,5% (agar merupakan kompleks polisakarida yang diisolasi dari ganggang laut). Jika konsentrasi agar lebih tinggi, tekanan osmotik akan meningkat sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri. Jika tekanan osmotik di sekitar sel lebih rendah (misalnya dalam air suling), air akan masuk ke dalam sel bakteri melalui dinding sel bakteri.

d. Oksigen

Bakteri yang menggunakan oksigen menghasilkan lebih banyak energi dari nutrisi yang diperoleh dari pada mikroba yang tidak menggunakan oksigen (anaerob). Bakteri yang membutuhkan oksigen untuk hidup disebut bakteri aerob obligat. Bakteri aerob obligat memiliki kelemahan, yaitu oksigen sangat sedikit terlarut di dalam media dan air di lingkungan bakteri tersebut (Radji, 2010)

5. Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, virus) yang terdapat pada/di dalam suatu benda. Proses ini melibatkan aplikasi biocidal agent atau proses fisik dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Sterilisasi didesain untuk membunuh atau menghilangkan bakteri (Pratiwi, 2008).

6. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri pada umumnya, khususnya pada bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Antibakteri berdasarkan toksisitas selektif, dapat berupa zat yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik, selain itu bakteri yang dapat membunuh bakteri disebut bakterisida (Ganiswara, 1995).

6.1 Aktivitas Antibakteri

6.1.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas bakteri digunakan untuk mengukur respon pertumbuhan populasi bakteri terhadap zat antimikroba yang diujikan agar mendapat pengobatan yang efektif dan efisien. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi dan difusi Metode dilusi dilakukan dengan cara mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dapat dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008).

6.1.2 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Sensitivitas bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat. Teknik dengan metode difusi agar sebagai berikut:

a. Teknik Cakram Kertas

Teknik cakram kertas adalah metode yang paling sering digunakan. Medium agar dalam cawan petri kemudian diinokulasikan dengan bakteri uji, kemudian diletakkan cakram kertas yang telah ditambahkan zat uji ke dalam agar dan diinkubasi, jika terdapat aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling kertas cakram.

b. Teknik Sumuran

Agar padat yang telah diinokulasi bakteri dibuat lubang yang jumlah dan letaknya disesuaikan dengan tujuan penelitian. Zat uji diinjeksikan ke lubang kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona inhibisi disekeliling lubang.

c. Teknik Silinder

Silinder gelas diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Zat uji dimasukkan ke dalam silinder dan kemudian diinkubasi. Aktivitas antibakteri dari zat uji akan terlihat zona bening disekitar silinder (Rostinawati, 2009).

7. Antibiotik

Antibiotik adalah suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Antibiotik memegang peranan

penting dalam mengontrol populasi mikoba di dalam tanah, air, limbah, dan lingkungan. Dari berbagai jenis antibiotik yang telah ditemukan, hanya beberapa golongan antibiotik yang dapat digunakan dalam pengobatan (Radji, 2010).

Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya. Berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya antibiotik dapat dibedakan menjadi antibiotik bersepektrum sempit (*narrow spectrum*) dan antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibiotik bersepektrum sempit hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram negatif saja atau Gram positif saja. Sedangkan antibiotik berspektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan Gram positif maupun Gram negatif (Pratiwi, 2008).

B. Landasan Teori

Tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) memiliki banyak kegunaan mulai dari tiap bagiannya. Kulit pohon dan daun dapat digunakan sebagai obat beberapa penyakit seperti rheumatic, diuretic, dan diaphoretic (Maryanti dan Rina, 2014). Tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa kimia seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan triterpenoid (Mari *et al.*, 2016).

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan berdasarkan 3 golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI 2000).

Simplisia dicuci terlebih dahulu sebelum dilakukan penyarian untuk membersihkan kotoran dan kemudian dikeringkan (Prastowo, 2013).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Ansel, 1989). Ekstraksi adalah suatu proses penyarian senyawa kimia yang terdapat di dalam bahan alam atau berasal dari dalam sel dengan menggunakan pelarut dan metode yang tepat (Emilan, 2011). Metode ekstraksi yang dipakai yaitu perkolasi. Metode perkolasi adalah cara ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui simplisia yang telah dibasahi (Depkes, 1986). Proses perkolasi terdiri dari 3 tahap, yaitu: pengembangan bahan, tahap maserasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) yang dilakukan terus menerus sampai diperoleh ekstrak/perkolat yang jumlahnya 1-5 kali dari volume bahan (Perwita, 2011).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Pelarut tersebut bersifat semi polar yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Pada umumnya zat aktif yang terkandung dalam suatu tanaman bersifat polar sehingga pelarut etanol mampu berpenetrasi ke dalam sel daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan dapat menarik zat-zat aktif yang terkandung dalam tanaman kepuh. Pemilihan pelarut etanol karena etanol bersifat lebih selektif, netral, absorpsi baik, dapat memberikan perlindungan terhadap kontaminasi mikroba dan membantu pemisahan bahan yang diekstraksi (Ansel, 1989).

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatasi membran di dalam sitoplasmanya (Irianto, 2013).

Pseudomonas aeruginosa adalah organisme yang berperan penting dalam infeksi nosokomial (infeksi di rumah sakit). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan organisme bersifat aerob obligat yang tumbuh pada sebagian besar medium (Elliot *et al.*, 2013). *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C; kemampuannya untuk tumbuh pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dari grup fluoresens. Bakteri tersebut bersifat oksidase-positif (Jawetz *et al.*, 2010).

Staphylococcus aureus merupakan Gram-positif berbentuk bulat, bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase, berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora. Koloni berwarna kuning pada media yang kaya nutrisi, koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur (Radji, 2010). *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi anaerob atau mikroaerofilik. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul dan mengilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat (Jawetz *et al.*, 2010).

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri pada umumnya, khususnya pada bakteri yang bersifat patogen pada manusia (Ganiswara, 1995). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi dan difusi (Jawetz *et al.*, 2012). Metode dilusi dilakukan dengan cara mengukur Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau

Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode difusi dapat dilakukan dengan cakram kertas, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2008).

Antibiotik adalah suatu metabolit yang diperoleh atau dibentuk oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Radji, 2010).

C. Hipotesis

1. Ada perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dengan *Staphylococcus aureus* isolate pus pasien.
2. Ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dengan isolate pus pasien.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Juni 2017. Tempat penelitian yang digunakan untuk penelitian yaitu di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

B. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional* yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kepuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari masing-masing kultur laboratorium dan isolat pus pasien. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengekstrak daun kepuh yang telah dibuat menjadi beberapa konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40% dan 50%), kemudian diuji daya hambat antibakterinya. Zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol positif (antibiotik) Ciprofloxacin dan Gentamisin dan kontrol negatif (DMSO 2%).

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah daun kepuh yang berasal dari tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di daerah Surakarta, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kepuh yang diambil secara acak dengan memilih daun.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dapat di definisikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas dan variabel tergantung.

2.1. Variabel Bebas

Variabel bebas untuk penelitian ini adalah ekstrak etanolik daun batang kepuh (*Sterculia foetida* L.).

2.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat yang terbentuk dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari masing-masing kultur laboratorium dan sampel isolat pus pasien.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

- a. Sampel uji adalah daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) diperoleh dari tanaman kepuh (*Sterculia foetida* L.) yang tumbuh di Surakarta, Jawa Tengah yang diambil secara acak dengan memilih daun. Proses

pengambilan dilakukan pada keadaan maksimal proses fotosintesis antara pukul 10:00 dan 12:00.

- b. Serbuk daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) adalah daun yang diambil kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada daun kepuh, setelah itu dikeringkan dengan sinar matahari tidak langsung hingga kering, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.
- c. Ekstrak etanolik daun kepuh adalah ekstrak yang diperoleh dari sumber penyarian daun kepuh dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 96%.
- d. Aktivitas antibakteri adalah uji yang ditentukan dari metode difusi dengan mengukur luas zona inhibisi dengan menggunakan kontrol positif antibiotik dan kontrol negatif DMSO 2%.

E. Bahan dan Alat

1. Bahan Penelitian

1.1. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.)

1.2. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta dan Isolasi sampel pus dari RSUD Dr Moewardi.

1.3. Media

Media yang digunakan adalah medium *Mueller Hilton Agar* (MHA), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), medium *Kligler Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Simmons Citrat Agar* (Citrat), NaCl 0.9%, *Emersi oil*, *xylol*.

1.4. Bahan Lain

Bahan-bahan lain yang digunakan seperti: Spirtus, cat Gram A (Kristal violet), Gram B (Lugol Iodine), Gram C (Alkohol), Gram D (Safranin), minyak imersi, aquades, Etanol 95%, larutan H₂O₂ 3%, NaCl fisiologis (NaCl 0,9%), Standard Mc Farland 0,5, larutan plasma citrat, larutan kalium telurit, H₂SO₄ pekat dan anhidra asetat (AC₂O).

2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah: nampan, kain, blender, ayakan, alat perkolator, *becker glass*, evaporator, oven, neraca analitik, cawan petri steril, kapas, lidi steril, pipet ukur steril, *cliniplette*, *yellow tip*, api spiritus, inkas, tabung reaksi steril, jarum ose, object glass, mikroskop, inkubator, *autoclave*, kompor, botol sampel steril, *boorproof*, mistar, alat pelindung diri lengkap.

F. Prosedur Penelitian

1. Deskripsi Tanaman

Tahap pertama penelitian adalah melakukan deskripsi tanaman kepuh. Deskripsi Tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran

tanaman dengan ciri-ciri morfologi baik secara makroskopis maupun secara mikroskopis tanaman kepuh. Determinasi tanaman dilakukan di perpustakaan dan di buktikan di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi.

2. Pembuatan Serbuk Daun Kepuh

Empat kilogram daun kepuh dicuci bersih supaya bersih dari kotoran dan debu kemudian dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari tidak langsung dengan cara dikering angin-anginkan selama kurang lebih 7 hari hingga kering. Daun batang yang sudah kering kemudian dihaluskan dan kemudian di ayak.

3. Identifikasi Golongan Senyawa

3.1 Saponin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambah 10 ml aquadest panas dalam tabung reaksi, dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian ditambah beberapa tetes HCl 2N. Hasil positif jika terbentuk busa stabil (Setyawati *et al.*, 2014).

3.2 Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambah 2 ml etanol 95%, 0,05 gram serbuk seng dan 2 ml HCl 2N. Larutan didiamkan selama 1 menit dan kemudian ditambah 2 ml HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk warna merah jingga atau kuning (Rumanggit *et al.*, 2015).

3.3 Polifenol

Sebanyak 2 ml sampel dilarutkan dalam aquadest 10 ml, dipanaskan 5 menit dan disaring, filtrat ditambah 4-5 tetes FeCl_3 5%. Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih *et al.*, 2016).

3.4 Tannin

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambah 2 ml air dan kemudian ditambah beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna biru kehitaman (Sastrawan *et al.*, 2013).

3.5 Triterpenoid

Uji triterpenoid menggunakan metode Lieberman-Burchard (LB). Dua mg ekstrak kering dilarutkan di anhidrat asetat, dipanaskan sampai mendidih, didinginkan dan kemudian 1 ml H_2SO_4 pekat ditambahkan di tabung reaksi, jika terbentuk warna atau ungu maka terdapat kandungan triterpenoid (Balafif *et al.*, 20013).

4. Penentuan Nilai Kadar Air Serbuk Daun Kepuh

Penetapan kadar air daun kepuh dengan menimbang bahan sebanyak 20 gram dan dimasukkan dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan *xylene* 100 ml atau sampai semua bahan terendam. Pasang alat destilasi *Bidwell Sterling* dan dipanaskan dengan api kecil, pemanasan dihentikan apabila sudah tidak ada air yang menetes lagi pada tabung *receiver* kemudian baca volume air yang telah terdestilasi pada skala *receiver*.

5. Pembuatan Ekstrak Perkolasi Daun Kepuh

Serbuk daun kepuh ditimbang 500 gram. Serbuk yang sudah di timbang masuk ke *beaker glass* dan ditambah dengan etanol, ditutup dan didiamkan selama 24 jam, kemudian dimasukkan ke dalam bejana silindris yang diberi sekat berpori. etanol dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk secara terus menerus dengan kecepatan 1 ml/menit dan diatur supaya cairan yang keluar seimbang

dengan cairan yang ditambahkan dari atas perkolator. Perkolasi dihentikan jika cairan yang keluar tidak berwarna dan jika diuapkan tidak meninggalkan sisa.

6. Uji Bebas Etanol

Ekstrak daun Kepuh yang telah dipekatkan dilakukan uji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan Asam Asetat dan Asam Sulfat pekat kemudian dipanaskan. Hasil positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol.

7. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kepuh

Preparasi ekstrak perkolat daun kepuh dibuat dalam beberapa konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dilakukan dengan cara dilarutkan dengan DMSO 2%. Dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Kepuh

Konsentrasi ekstrak daun Kepuh	Ekstrak daun Kepuh (gram)	DMSO 2% (ml)
10%	0,3	2,7
20%	0,6	2,4
30%	0,9	2,1
40%	1,2	1,8
50%	1,5	1,5

8. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang bahan *Mueller Hinton Agar* (MHA) 28,5 gram, dimasukkan ke dalam panci dan ditambah aquadest sebanyak 750 ml selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dimasukkan ke dalam becker glass kemudian dituang ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan ditutup dengan kapas lalu disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121⁰C selama 15 menit. Didinginkan sampai suhu \pm 50⁰C

selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah dingin, medium padat dibungkus dengan kertas dan disimpan di dalam kulkas.

9. Pembuatan Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Ditimbang bahan *Brain Heart Infusion* (BHI) sebanyak 1,85 gram, dimasukkan ke dalam panci dan ditambah aquadest sebanyak 50 ml selanjutnya dipanaskan. Dimasukkan ke dalam becker glass kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml dan disumbat dengan kapas lalu disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin dibungkus dengan kertas kemudian disimpan dalam kulkas.

10. Pembuatan Media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Ditimbang bahan *Vogel Johnson Agar* (VJA) sebanyak 3,05 gram dimasukkan ke dalam panci dan ditambah aquadest sebanyak 50 ml selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dimasukkan ke dalam becker glass kemudian dituang ke dalam tabung reaksi dan disumbat dengan kapas, disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditambah kalium tellurit. Setelah memadat, dibungkus dengan kertas dan disimpan di dalam kulkas.

11. Pembuatan Media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA)

Ditimbang bahan *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) sebanyak 4,53 gram dimasukkan ke dalam panci kemudian ditambah aquadest sebanyak 50 ml selanjutnya dipanaskan hingga larut. Dimasukkan ke dalam becker glass kemudian dituang ke tabung reaksi masing-masing 10 ml dan di sumbat dengan kapas kemudian disterilkan dalam autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Didinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah memadat, dibungkus dengan kertas dan disimpan di dalam kulkas.

12. Identifikasi Bakteri dari Sampel Pus Pasien dan Kultur Laboratorium

12.1 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dari Sampel Pus Pasien

- a. Sampel diinokulasi secara goresan menggunakan kapas lidi steril dan jarum ose steril pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- b. Pertumbuhan koloni diamati pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), hasil positif jika terdapat pigmen *pyocyanin* (hijau-biru) dan pigmen *Pyoverdin* (hijau-kuning). Koloni yang tumbuh dilanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) dan uji biokimia yaitu pada medium *Kligler Iron Agar* (KIA) dengan cara tusuk gores, medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) dengan cara ditusuk, medium *Lysine Iron Agar* (LIA) dengan cara tusuk gores, medium Citrat dengan cara digores. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- c. Hasil pada medium *Brain Heart Infusion* (BHI) ditandai dengan terjadinya kekeruhan, maka dilanjutkan dengan melakukan pengecatan Gram.
- d. Pengecatan Gram: koloni bakteri yang telah dibuat preparat ditetesi dengan Gram A (Kristal violet) dengan waktu 60 detik, Gram B (Lugol Iodine) 60 detik, preparat dicuci dengan Gram C (Alkohol) 15-30 detik, warnai kembali dengan Gram D (Safranin) 60 detik, kemudian bilas dan keringkan. Hasil dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Hasil pengecatan Gram pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu bersifat Gram negatif yang berwarna merah dan berbentuk batang.

- e. Pembacaan hasil pada uji biokimia pada medium Kligler Iron Agar (KIA) yaitu menunjukkan hasil (K/K S-), *Sulfida Indol Motility* (SIM) menunjukkan hasil (- - +), *Lysine Iron Agar* (LIA) menunjukkan hasil (K/K S-), dan *Simmons Citrat Agar* (Citrat) menunjukkan hasil (+).

12.2 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* Kultur Laboratorium

- a. Sampel diinokulasi secara goresan menggunakan jarum ose steril pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- b. Pertumbuhan koloni diamati pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), hasil positif jika terdapat pigmen *pyocyanin* (hijau-biru) dan pigmen *Pyoverdin* (hijau-kuning). Koloni yang tumbuh dilanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) dan uji biokimia yaitu pada medium *Kligler Iron Agar* (KIA) dengan cara tusuk gores, medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) dengan cara ditusuk, medium *Lysine Iron Agar* (LIA) dengan cara tusuk gores, medium Citrat dengan cara digores. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- c. Hasil pada medium *Brain Heart Infusion* (BHI) ditandai dengan terjadinya kekeruhan, maka dilanjutkan dengan melakukan pengecatan Gram.
- d. Pengecatan Gram: koloni bakteri yang telah dibuat preparat ditetesi dengan Gram A (Kristal violet) dengan waktu 60 detik, Gram B (Lugol Iodine) 60 detik, preparat dicuci dengan Gram C (Alkohol) 15-30 detik, warnai kembali dengan Gram D (Safranin) 60 detik, kemudian bilas dan keringkan. Hasil dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Hasil pengecatan

Gram pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu bersifat Gram negatif yang berwarna merah dan berbentuk batang.

- e. Pembacaan hasil pada uji biokimia pada medium *Kligler Iron Agar* (KIA) yaitu menunjukkan hasil (K/K S-), *Sulfida Indol Motility* (SIM) menunjukkan hasil (- - +), *Lysine Iron Agar* (LIA) menunjukkan hasil (K/K S-), dan *Simmons Citrat Agar* (Citrat) menunjukkan hasil (+).

12.3 Identifikasi *Staphylococcus aureus* dari Sampel Pus Pasien

- a. Sampel diinokulasi secara goresan menggunakan kapas lidi steril dan jarum ose steril pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- b. Pertumbuhan koloni diamati pada medium *Vogel Johnson Agar*(VJA), hasil positif jika koloni berwarna hitam. Koloni yang tumbuh dilanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) Pertumbuhan koloni kemudian dilakukan pengecatan Gram dan diamati dibawah mikroskop.
- c. Koloni yang tumbuh diuji katalase, larutan H₂O₂ 3% ditetaskan di *object glass* kemudian ambil 1 ose koloni kemudian diamati adanya gelembung.
- d. Koloni yang tumbuh diuji koagulase, ditambahkan 1 tetes larutan plasma citrat kemudian ditambahkan 1 tetes suspensi bakteri kemudian diamati dengan mikroskop adanya penggumpalan antara suspensi bakteri dengan serum kelinci.

12.4 Identifikasi *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium

- a. Sampel diinokulasi secara goresan menggunakan jarum ose steril pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

- b. Pertumbuhan koloni diamati pada medium *Vogel Johnson Agar*(VJA), hasil positif jika koloni berwarna hitam. Koloni yang tumbuh dilanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) Pertumbuhan koloni kemudian dilakukan pengecatan Gram dan diamati dibawah mikroskop.
- c. Koloni yang tumbuh diuji katalase, larutan H₂O₂ 3% diteteskan di *object glass* kemudian ambil 1 ose koloni kemudian diamati adanya gelembung.
- d. Koloni yang tumbuh diuji koagulase, ditambahkan 1 tetes larutan plasma citrat kemudian ditambahkan 1 tetes suspensi bakteri kemudian diamati adanya penggumpalan antara suspensi bakteri dengan serum kelinci.

13. Pengujian Aktivitas Bakteri

Suspensi bakteri di swab merata pada permukaan media *Muller Hilton Agar* (MHA) kemudian didiamkan 5 menit. Media MHA tersebut dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *boorproof*. Sumuran tersebut diisi dengan konsentrasi ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing 50 µl kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan.

G. Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur murni dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan isolat pasien dari RSUD Dr Moewardi secara difusi teknik sumuran dianalisis dengan menggunakan uji statistik.

1. Uji Normalitas

Uji normalitas adalah salah satu uji asumsi klasik yang bertujuan untuk membuktikan bahwa data yang akan diuji berdistribusi normal atau terjadi penyimpangan distribusi. Apabila nilai $p > 0,05$ maka asumsi normalitas terpenuhi atau diterima sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka asumsi normalitas tidak terpenuhi atau ditolak. Dalam penelitian ini uji normalitas dilakukan dengan uji *Kolmogorov-Smirnov Test* (Ghozali, 2011).

2. Analisis of Varians (One Way ANOVA)

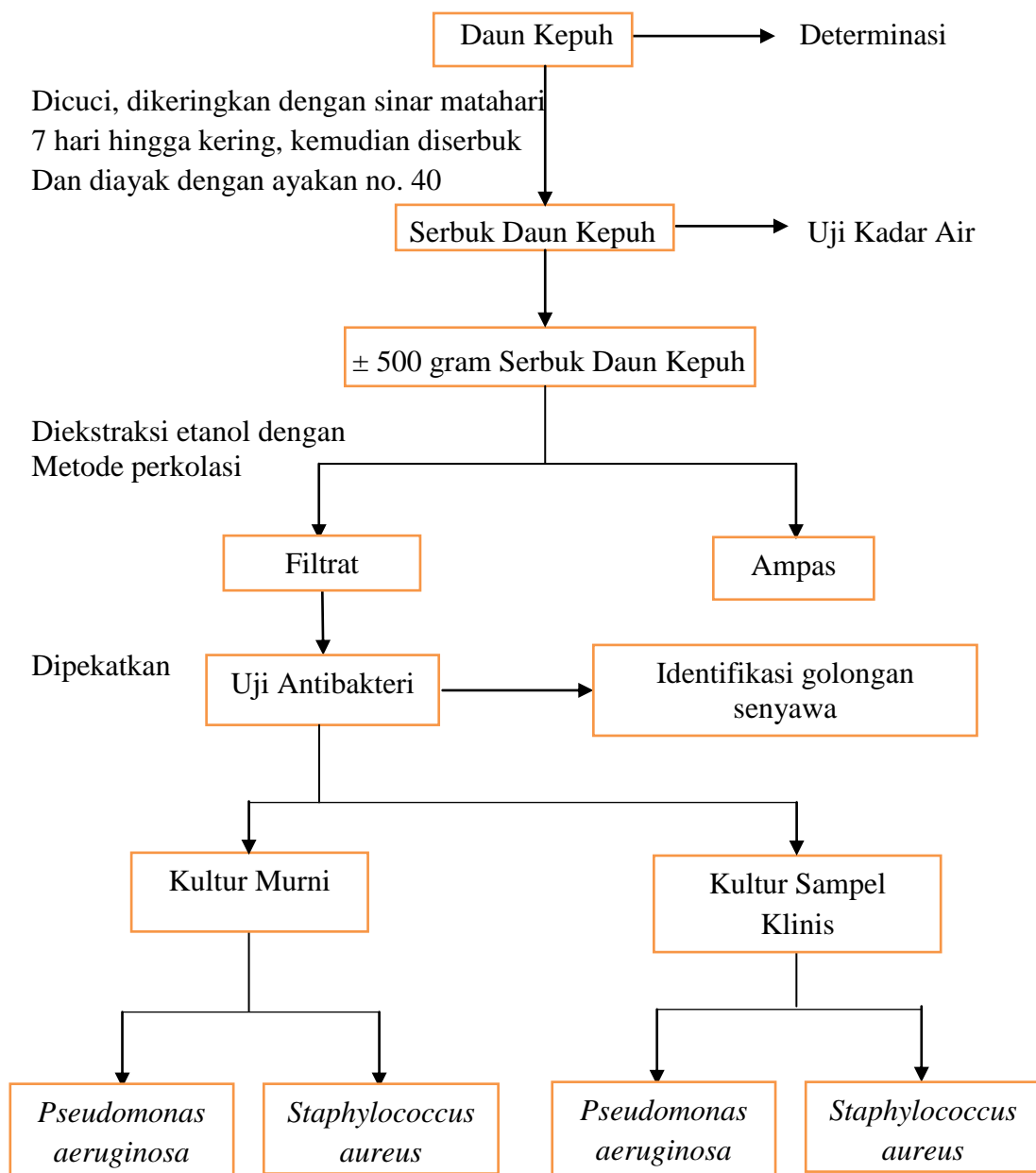
Analisis of Varians (One Way Anova) satu jalan dengan software SPSS 17. dengan syarat bila skala pengukuran variabel numerik, data berdistribusi normal dan varians datanya sama (Ghozali, 2011). Berdasarkan uji statistik tersebut maka dapat diputuskan:

- a. Bila nilai $p \leq \alpha (0,05)$, maka hipotesis penelitian diterima (menolak H_0) yang berarti ada perbedaan varians datanya.
- b. Bila nilai $p \geq \alpha (0,05)$, maka hipotesis penelitian ditolak (menerima H_0) yang berarti tidak ada perbedaan varians datanya.

Analisis data dengan statistik tersebut dilakukan untuk mengetahui ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur dari laboratorium dan sampel pus RSUD Dr. Moewardi. Kemudian ada beda atau tidak diameter zona hambat dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur murni dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi

Surakarta dan sampel pus dari RSUD Dr Moewardi serta kontrol positif dan kontrol negatif.

H. Skema Penelitian



Gambar 1. Skema Penelitian

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Determinasi Daun Kepuh

Determinasi tumbuhan daun kepuh telah dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistemika Tumbuhan, Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologi dan mengetahui kebenaran tumbuhan yang diteliti. Habitus tanaman kepuh berupa pohon menahun yang berakar tunggang dan batang berkayu dengan percabangan monopodial. Daun tanaman Kepuh majemuk menjari, ibu tangkai berukuran 9-45 cm, anak daun berukuran 5-9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset dan ujung meruncing. Tanaman kepuh memiliki bunga majemuk dengan kelopak bercangap berwarna merah tua pada bagian tabung, lobi mula-mula berupa warna kuning kehijauan di bagian pangkal dan sepanjang marginal, benang sari berukuran 12-15 cm dan capella sebanyak 5 Berdasarkan hasil determinasi, dapat dipastikan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan kepuh. Hasil determinasi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1 (satu).

2. Pengambilan Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kepuh yang diambil di sekitar Surakarta, Jawa Tengah. Bagian yang diambil adalah daun yang segar dan tidak terserang hama penyakit. Pengambilan dilakukan secara acak.

3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Bidwel Sterling* dengan pelarut *xylene*. Serbuk sebanyak 20,9348 gram ditambah dengan 100 ml *xylene* rangkaian alat dipasang kemudian air dialirkan dan dipanaskan dengan api spiritus. Skala *receiver* menunjukkan 2 ml.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Kepuh

Berat bahan	Skala (ml)	Kadar Air (%)
20,9348	2	9,5

Penetapan kadar air pada pengujian dalam serbuk daun kepuh adalah 9,5%. Penentuan kadar air bertujuan untuk menentukan proporsi atau presentase air dalam sampel yang diuji. Kadar air yang baik pada tanaman diisyaratkan kurang dari 10% (Prastowo, 2013).

4. Hasil Pembuatan Perkolat Etanol 96% Daun Kepuh

Serbuk daun kepuh ditimbang 500 gram kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dibasahi dengan etanol 96%. Serbuk yang telah dibasahi dengan etanol dimasukkan ke dalam perkolator yang dibawahnya telah diberi gelas wol kemudian diatasnya ditutup dengan plastik dan didiamkan selama 24 jam. Hasil yang kental dialirkan kebawah, kemudian dari atas ditambah etanol 96% sampai warna jernih. Cairan tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *vakum rotary evaporator* pada suhu 50°C dan 60 rpm, hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dikentalkan dengan oven pada suhu 40°C. (Depkes, 1986)

Perhitungan randemen ekstrak daun kepuh dapat dilihat pada Lampiran 10.

Tabel 3. Randemen Ekstrak

Serbuk Kasar (gram)	Serbuk Halus (gram)	Ekstrak yang didapat (gram)	Randemen (%)
1300	500	35	7

5. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kepuh

Tabel 4. Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kepuh

Tes Bebas Alkohol	Pustaka	Hasil
Ekstrak+H ₂ SO _{4conc} +CH ₃ COOH, kemudian dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Loomis,1978)	Tidak adanya bau ester yang khas dari etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 4. menunjukkan bahwa ekstrak daun kepuh sudah terbebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

6. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia

Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia pada serbuk maupun ekstrak daun kepuh. Hasil analisis kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun kepuh secara kualitatif berdasarkan pengamatan dan pustaka.

Tabel 5. Identifikasi Kandungan Kimia

Senyawa	Hasil			Pustaka
	Pereaksi	Ekstrak	Ket	
Saponin	Ekstrak + 10 ml aquadest, kocok +HCl 2N	Terbentuk busa stabil	+	Hasil positif terbentuknya busa stabil (Setyawati <i>et al.</i> , 2014)
Flavonoid	Ekstrak + 2 ml etanol 95% + serbuk seng + 2ml HCl pekat	Merah jingga	+	Hasil positif terbentuk warna merah jingga atau ungu (Rumanggit <i>et al.</i> , 2015)
Polifenol	Ekstrak + 10 ml aquadest, dipanaskan dan disaring, filtrat + 3 tetes FeCl ₃ 5%	Hijau kehitaman	+	Hasil positif terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman (Ningsih <i>et al.</i> , 2016)
Tannin	Ekstrak + aquadest + 2 tetes FeCl ₃ 1%	Biru kehitaman	+	Hasil positif terbentuk warna biru kehitaman (Sastrawan <i>et al.</i> , 2013)
Triterpenoid	Ekstrak + anhidra asetat, dipanaskan-didinginkan + H ₂ SO ₄ pekat	Merah	+	Hasil positif terbentuk warna merah (Balafit <i>et al.</i> , 2013)

Menurut Mari *et al.*, (2016) tanaman kepuh mempunyai kandungan senyawa kimia aktif saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan triterpenoid.

Senyawa saponin merupakan glikosida yang larut dalam air dan etanol. Senyawa ini dapat bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membrane sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan dapat menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting yang terdapat dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida (Virginita, 2015)

Menurut Ajizah, (2004) dalam Virginita, (2015) Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel. Sebagian besar struktur sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.*, 2012).

Menurut Tukiran *et al.*, (2014) Senyawa fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Senyawa fenol kebanyakan memiliki gugus hidroksil lebih dari satu sehingga disebut polifenol. Flavonoid dan polifenol berkhasiat sebagai antioksidan (Rohyani *et al.*, 2015).

Menurut Robinson, (1995) dalam Nuria *et al.*, (2009) Senyawa tannin mampu merusak membran sel bakteri. Mekanisme kerja tannin sebagai anti bakteri adalah menghambat enzim reserve transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk

Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan merusak permeabilitas membran sel sehingga mengakibatkan sel bakteri kurang nutrisi (Waluyo, 2014).

7. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

7.1. Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Bakteri dari media BHI ratakan di *object glass* yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi sebentar. Pengecatan dilakukan dengan cat gram A, B, C dan D kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.



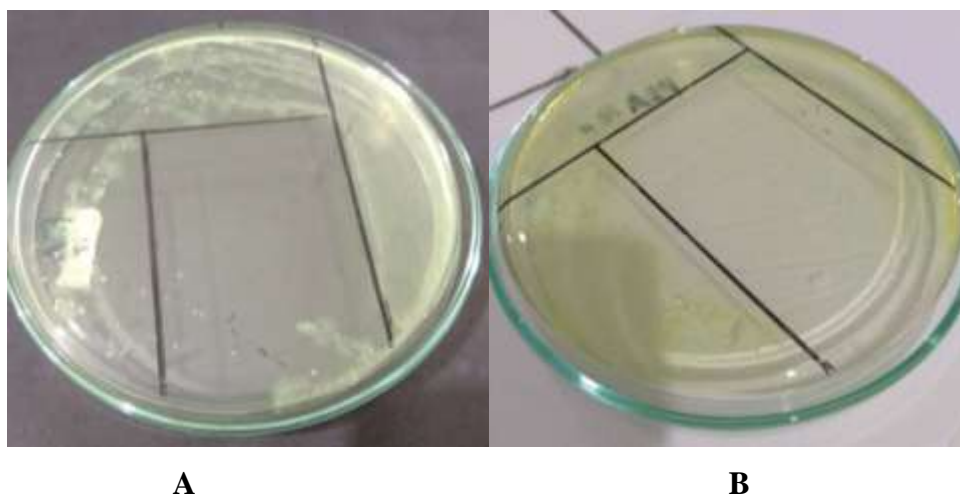
Gambar 2. Mikroskopis *Pseudomonas aeruginosa*

Gambar 2 menunjukkan gambar *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah di cat gram dan diamati dengan mikroskop. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang, tunggal, berpasangan dan kadang-kadang rantai pendek. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bersifat gram negatif (Jawetz *et al.*, 2010)

7.2. Makroskopis

- a. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dan isolat pus pasien dengan media PSA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dan isolat pus pasien secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media PSA. Bakteri diinokulasikan pada media BHI sebagai media pengaya. Bakteri dari media BHI diinokulasikan pada media PSA kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam

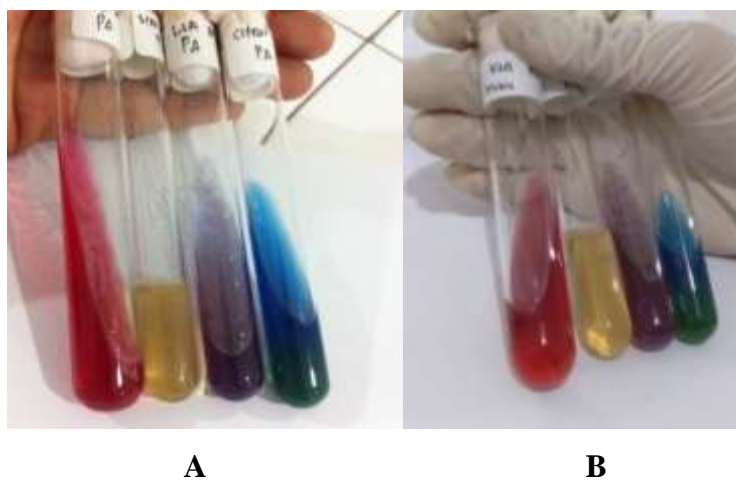


Gambar 3. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* di media PSA. **A:** Koloni *Pseudomonas aeruginosa* di media PSA kultur laboratorium. **B:** koloni *Pseudomonas aeruginosa* isolat pus pasien

Gambar 3 menunjukkan koloni *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dan isolat pus pasien pada media PSA dengan koloni halus bulat, kadang-kadang menghasilkan bau yang manis tapi menyerupai anggur dengan fluoresensi kehijauan. Bakteri ini sering menghasilkan piosianin (pigmen kebiru-biruan yang tak berfluoresensi) (Palupi, 2016).

b. Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan media uji Biokimia

Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media Uji Biokimia. Bakteri dari kultur diinokulasikan secara goresan pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA). Koloni yang tumbuh di media PSA diinokulasikan pada media uji biokimia (KIA, SIM, LIA, Citrat) selanjutnya diinokulasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.



Gambar 4. Hasil Uji Biokimia *Pseudomonas aeruginosa*. **A:** Hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium. **B:** Hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* isolat pus pasien.

Hasil uji biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur murni dan isolat pasien yang ditanam pada medium KIA menunjukkan hasil K/K S(-), medium LIA menunjukkan hasil K/K S(-), medium SIM menunjukkan - - +, dan medium Citrat menunjukkan hasil (+). Uji biokimia merupakan uji aktivitas enzim dari sel bakteri dan digunakan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap berbagai macam zat (Purnama, 2013).

8. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

8.1. Mikroskopis

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis dilakukan dengan pengecatan gram. Bakteri dari media BHI diratakan di *object glass* yang kering dan bebas lemak secara aseptis kemudian di fiksasi. Pengecatan dilakukan dengan cat gram A, B, C dan D kemudian diamati dengan mikroskop perbesaran 100x dengan minyak imersi.



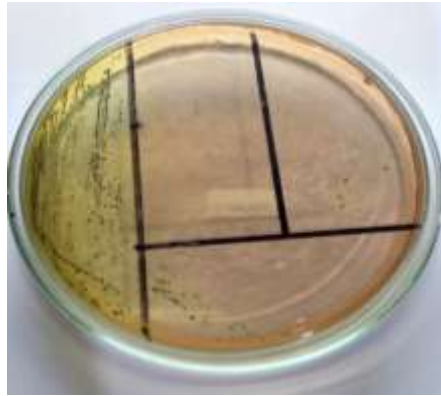
Gambar 5. Mikroskopis *Staphylococcus aureus*

Gambar 5 menunjukkan gambar *Staphylococcus aureus* yang sudah di cat gram dan diamati dengan mikroskop. *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus tunggal, berpasangan (Jawetz *et al.*, 2010) membentuk kelompok seperti buah anggur, *staphylococcus aureus* bersifat gram positif (Elliot *et al.*, 2013)

8.2. Makroskopis

- a. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat pus pasien dengan media VJA

Isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan kultur di media VJA. Bakteri diinokulasi pada media BHI sebagai media pengaya. Bakteri dari media BHI diinokulasi pada media VJA kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.



Gambar 6. Koloni *Staphylococcus aureus* kultur laboratoriumi dan isolat pus pasien di media VJA

Koloni *Staphylococcus aureus* tumbuh pada media VJA dengan koloni berbentuk bulat, warna koloni hitam, tepi koloni halus, dan permukaan koloni cembung (Jawetz *et al.*, 2010).

b. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Katalase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji katalase. Larutan H₂O₂ 3% ditetaskan di *object glass* kemudian ambil 1 ose koloni lalu amati adanya gelembung.



Gambar 7. Uji Katalase

Gambar 7 menunjukkan uji katalase pada *Staphylococcus aureus* positif terbentuk gelembung. Fungsi uji katalase adalah untuk membedakan antara

staphylococcus dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel (Dewi, 2013).

c. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Uji Koagulase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara makroskopis dilakukan dengan uji koagulase. Koloni yang tumbuh di media VJA diinokulasikan ke media BHI kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. 1 ml larutan plasma citrat ditambah 1 ml suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam hasilnya terbentuk koagulan.



Gambar 8. Uji Koagulase

Gambar 8 menunjukkan uji koagulase pada *Staphylococcus aureus* positif. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh

bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum (Dewi, 2013)

9. Analisis Data

a. Uji Normalitas

Sebelum melakukan uji analisis terhadap data secara statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan model *One Sample Kolmogorov-Smirnov Test*, yaitu salah satu uji asumsi klasik yang bertujuan untuk membuktikan bahwa data yang akan diuji berdistribusi normal. Apabila nilai $p > 0,05$ maka asumsi normalitas terpenuhi atau diterima sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka normalitas ditolak.

Hasil uji normalitas dengan model *One Sample Kolmogorov-Smirnov Test*, diketahui bahwa nilai probabilitas (Sig.) percobaan laboratorium 0,928 dan nilai isolate pus pasien 0,991 dengan demikian $p > 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa data kedua variabel yang diperoleh terdistribusi normal dengan nilai signifikan $> 0,05$ dan memenuhi syarat untuk uji analisis *Analisis of Varians (One Way ANOVA)*.

b. Analisis of Varians (One Way ANOVA)

Uji *Analisis of Varians (One Way Anova)* digunakan untuk menguji ada tidaknya perbedaan antara aktivitas antibakteri dan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolate pus pasien.

Hasil uji *Analisis of Varians (One Way Anova)* dinyatakan tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* laboratorium dengan nilai signifikan menunjukkan $p (0,186) \geq \alpha (0,05)$. Tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* isolat pasien dengan nilai signifikan menunjukkan $p (0,829) \geq \alpha (0,05)$. Ada perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dengan isolat pasien dengan nilai signifikan menunjukkan $p (0,014) \leq \alpha (0,05)$. Tidak ada perbedaan diameter zona hambat dari terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dengan isolat pus pasien dengan nilai signifikan menunjukkan $p (0,231) \geq \alpha (0,05)$.

10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dengan isolat pus pasien dengan metode difusi menggunakan konsentrasi ekstrak (10%, 20%, 30%, 40% dan 50%) dengan menggunakan kontrol positif antibiotik Ciprofloxacin dan Gentamisin dan kontrol negatif DMSO 2% kemudian diinkubasi 37⁰C selama 24 jam dan dilihat ada tidaknya zona hambat disekitar sumuran. Perlakuan tersebut dilakukan 3 kali pengulangan.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kepuh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kultur laboratorium dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari Kultur Laboratorium

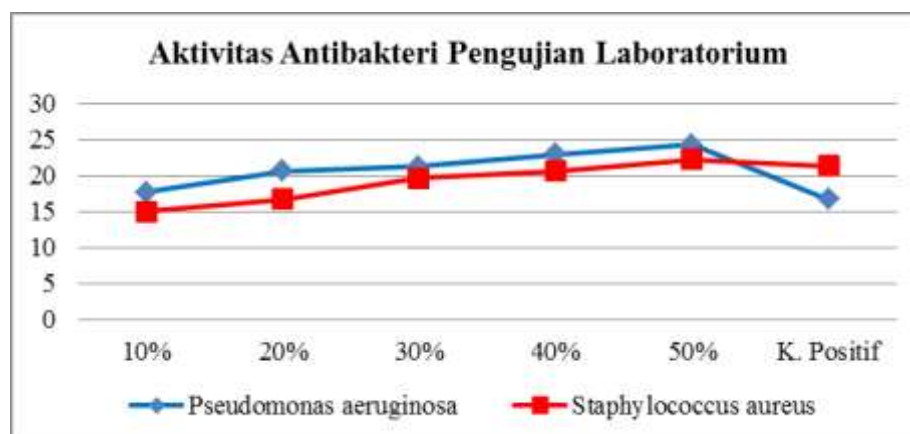
Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas</i>	10%	18	17	18	17,7
<i>aeruginosa</i> Murni	20%	20	21	21	20,7
	30%	22	22	20	21,3
	40%	23	24	22	23,0
	50%	24	25	24	24,3
Kontrol + (Gentamisin)		16	17	17	16,7
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	-

Pada table 6 bahwa hasil pengukuran memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun kepuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanol 10% dengan rata-rata hambatan 17,7 mm dengan kontrol positif Gentamisin 16,7 mm pada pengukuran 24 jam. Sedangkan ekstrak etanolik daun kepuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanol 50% dengan rata-rata hambatan 24,3 mm dengan kontrol positif Gentamisin 16,7 mm pada pengukuran 24 jam. Menurut Yanti dan Mitika, (2017) diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda.

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Staphylococcus aureus</i> Murni	10%	15	15	15	15,0
	20%	17	17	16	16,7
	30%	19	20	20	19,7
	40%	20	21	21	20,7
	50%	22	23	22	22,3
Kontrol + (Ciprofloxacin)		20	23	21	21,4
Kontrol – (DMSO2%)		-	-	-	-

Pada tabel 7 menunjukkan bahwa hasil pengukuran memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun kepuh terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanol 10% dengan rata-rata hambatan 15,0 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin 21,4 mm. Sedangkan ekstrak etanol daun kepuh terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanol 50% dengan rata-rata hambatan 22,3 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin 21,4 mm pada pengukuran 24 jam. Untuk melihat perbandingan dari aktivitas antibakteri yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 9. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium

Jika dibandingkan antara aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengujian laboratorium, maka dapat dilihat bahwa aktivitas tersebut lebih tinggi terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Menurut penelitian Andriani *et al*, (2016) ada beberapa faktor penyebab terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri. Salah satunya adalah kepekaan terhadap bahan antimikroba.

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari Isolat Pus Pasien

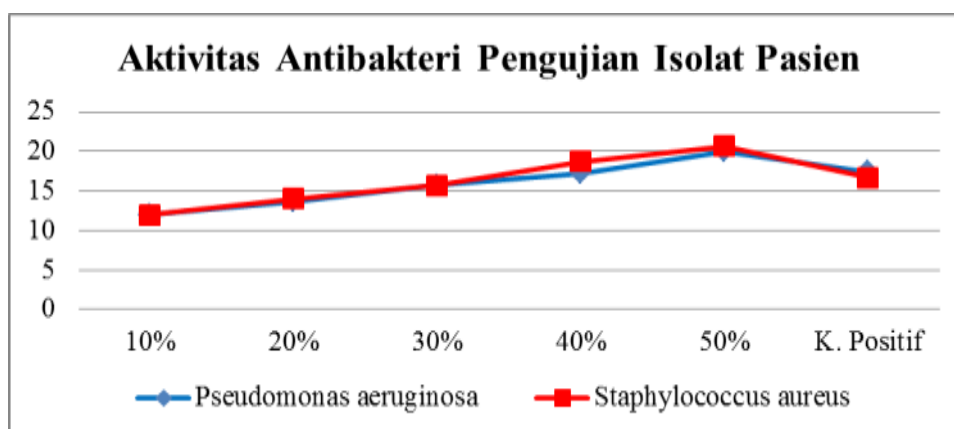
Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	13	14	13,7
	30%	16	15	16	15,7
	40%	18	17	17	17,3
	50%	20	20	20	20,0
Kontrol + (Gentamisin)		16	18	18	17,4
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	

Pada tabel 8 bahwa hasil pengukuran memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanol 10% dengan rata-rata hambatan 12,0 mm dengan kontrol positif Gentamisin sebesar 17,4 mm. Sedangkan ekstrak etanolik daun kepuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanol 50% dengan rata-rata hambatan 20,0 mm dengan kontrol positif Gentamisin 17,4mm pada pengukuran 24 jam. Menurut Wulandari *et al*, (2014) hal ini didukung bahwa banyaknya kandungan senyawa aktif antibakteri yang tergantung dalam ekstrak, berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan.

Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Staphylococcus aureus</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	14	14	14,0
	30%	16	15	16	15,7
	40%	19	18	19	18,7
	50%	20	21	21	20,7
Kontrol + (Ciprofloxacin)		17	16	17	16,7
Kontrol - (DMSO 2%)		-	-	-	

Pada tabel 9 bahwa hasil pengukuran memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 10% dengan rata-rata hambatan 12,0 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin 16,7 mm. Sedangkan ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanol 50% dengan rata-rata hambatan 20,7 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin 16,7 mm pada pengukuran 24 jam. Selengkapnya, untuk melihat perbandingan dari aktivitas antibakteri yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 10. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* Isolat Pus Pasien

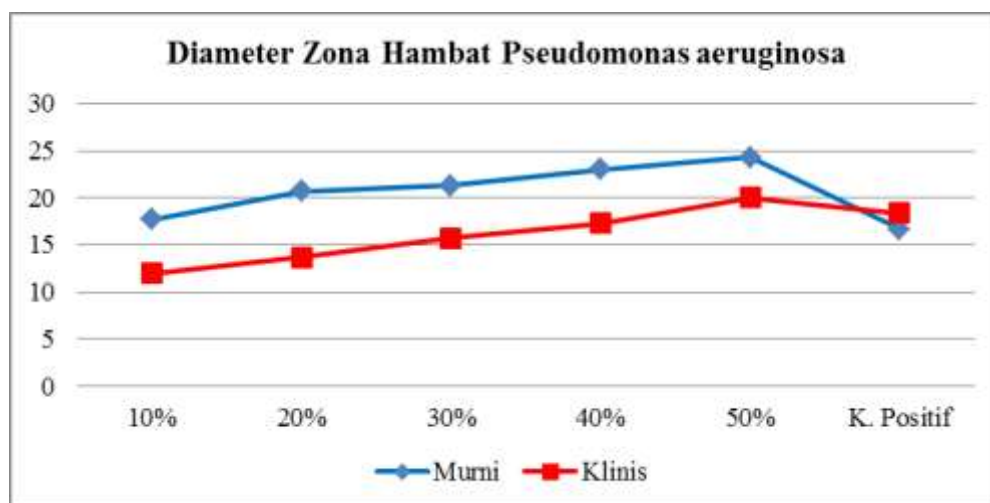
Jika dibandingkan antara aktivitas antibakteri ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengujian isolat pasien, maka dapat dilihat bahwa aktivitas tersebut terlihat rata-rata memiliki nilai yang sama.

Tabel 10. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Murni	10%	18	17	18	17,7
	20%	20	21	21	20,7
	30%	22	22	20	21,3
	40%	23	24	22	23,0
	50%	24	25	24	24,3
Kontrol + (Gentamisin)		16	17	17	16,7
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	13	14	13,7
	30%	16	15	16	15,7
	40%	18	17	17	17,3
	50%	20	20	20	20,0
Kontrol + (Gentamisin)		19	18	18	18,4
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	

Pada tabel 10 bahwa hasil pengukuran pada pengujian laboratorium memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanol 10% dengan rata-rata hambatan 17,7 mm dan paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 50% dengan rata-rata hambatan 24,3 mm dengan kontrol positif Gentamisin 16,7 mm pada pengukuran 24 jam.

Hasil pengukuran pada pengujian isolat pasien memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 10% dengan rata-rata hambatan 12,0 mm sedangkan yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 50% dengan rata-rata hambatan 20,0 mm dengan kontrol positif Gentamisin 18,4 mm pada pengukuran 24 jam. Selengkapnya, untuk melihat perbandingan dari perbedaan zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 11. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jika dibandingkan antara perbedaan zona hambat ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan pengujian laboratorium dan isolat pus pasien, maka dapat dilihat bahwa perbedaan zona hambat tersebut terlihat lebih tinggi terhadap pengujian laboratorium. Menurut Radji (2011) hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan struktur kimia komponen

penyusun dinding sel bakteri uji yang kinerjanya mampu diganggu oleh ekstrak daun kepuh.

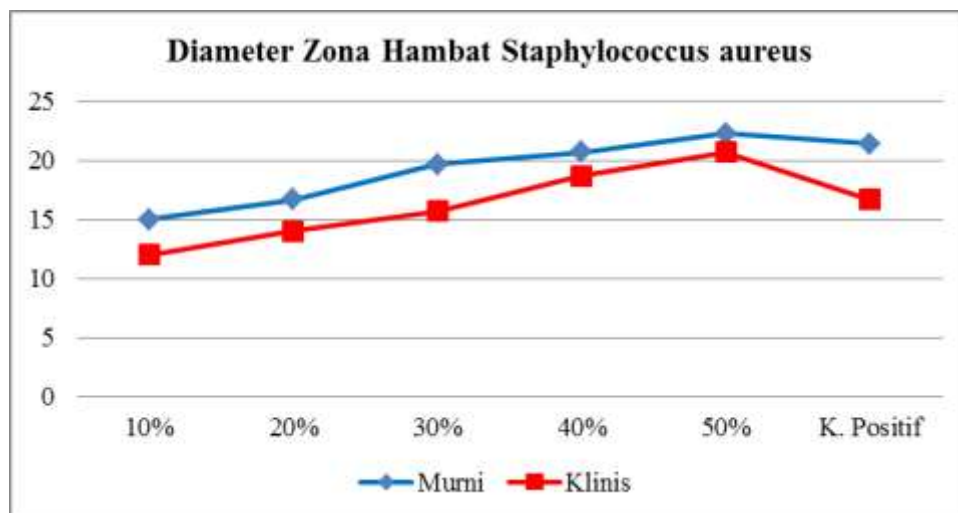
Tabel 11. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Staphylococcus aureus</i> Murni	10%	15	15	15	15,0
	20%	17	17	16	16,7
	30%	19	20	20	19,7
	40%	20	21	21	20,7
	50%	22	23	22	22,3
Kontrol + (Ciprofloxacin)		20	23	21	21,4
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	14	14	14,0
	30%	16	15	16	15,7
	40%	19	18	19	18,7
	50%	20	21	21	20,7
Kontrol + (Ciprofloxacin)		17	16	17	16,7
Kontrol – (DMSO 2%)		-	-	-	

Pada tabel 11 bahwa hasil pengukuran pada pengujian laboratorium memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 10% dengan rata-rata hambatan 15,0 mm sedangkan yang paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanol 50% dengan rata-rata hambatan 22,3 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin 21,4 mm pada pengukuran 24 jam.

Hasil pengukuran pada pengujian isolat pasien memperlihatkan bahwa ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* yang paling sempit daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 10% dengan rata-rata hambatan 12,0 mm sedangkan paling luas daya hambatnya adalah ekstrak etanolik 50% dengan rata-rata hambatan 20,7 mm dengan kontrol positif Ciprofloxacin

16,7 mm pada pengukuran 24 jam. Selengkapnya, untuk melihat perbandingan dari perbedaan zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 12. Zona Hambat dari Ekstrak Etanolik Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jika dibandingkan antara perbedaan zona hambat ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* berdasarkan pengujian laboratorium dan isolat pus pasien, maka dapat dilihat bahwa perbedaan zona hambat tersebut terlihat lebih tinggi terhadap pengujian laboratorium. Menurut penelitian Ariyanti *et al*, (2012) rata-rata diameter zona hambat mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi bahan antibakteri maka aktivitas antibakteri akan semakin kuat.

Berdasarkan penelitian Jannata *et al*, (2014), pengukuran kekuatan antibiotik-antibakteri berdasarkan metode David-Stout, menyatakan bila diameter zona bening ≤ 5 mm menunjukkan aktivitas antibakteri lemah, diameter 5-10 mm menunjukkan aktivitas antibakteri sedang, diameter 10-20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri kuat, dan diameter > 20 mm menunjukkan aktivitas

antibakteri sangat kuat. Berdasarkan standar ini, maka daya hambat aktivitas ekstrak etanolik daun kepuh terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk kategori kuat dan *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam kategori sangat kuat.

Kemampuan aktivitas antibakteri terendah ekstrak etanolik daun kepuh terjadi pada konsentrasi 10% lalu mengalami peningkatan rata-rata diameter zona hambatan pada konsentrasi 50%, walaupun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dari kedua konsentrasi tersebut. Menurut Elifah (2010) dalam Ariyanti *et al*, (2012), diameter daya hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda.

Hasil penelitian ini menggunakan uji statistik Anova satu jalan (*One Way Anova*). Kriteria ujinya adalah diameter zona hambat dalam berbagai konsentrasi pada ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) dinyatakan tidak ada perbedaan yang nyata (signifikan), kecuali uji diameter zona hambat pada sampel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ada perbedaan yang nyata (signifikan). Uji normalitas dengan model *Kolmogorov-Smirnov Test* terlebih dahulu untuk mengetahui apakah data dari ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* terdistribusi normal atau tidak normal.

Pada uji ANOVA (*One Way Anova*), diperoleh hasil dengan nilai signifikan $\geq 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata pada ekstrak

etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* pada kultur laboratorium dan isolate pus pasien. Demikian juga tidak ada perbedaan yang nyata pada ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan diameter zona hambat dengan kultur laboratorium dan isolat pus pasien. Namun berbeda dengan hasil yang diperoleh pada ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan diameter zona hambat dengan kultur laboratorium dan isolat pus pasien ada perbedaan yang nyata pada konsentrasi 50%. Pada *Pseudomonas aeruginosa* memiliki daya hambat 50% 24,3 mm sedangkan isolat pus pasien daya hambat 50% 20,0 mm

Aktivitas ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*. Menurut Radji (2011) hal ini disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri. Dinding sel bakteri gram positif terdiri atas lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel gram negatif terdiri atas satu sel atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik seperti, pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya.

BAB V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis yang telah diuraikan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) ada perbedaan diameter zona hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dengan isolat pus pasien.
2. Ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) ada aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dengan isolat pus pasien.

B. Saran

Berdasarkan analisis data dan kesimpulan dari hasil penelitian, maka dapat dikemukakan beberapa saran yang dapat dipertimbangkan untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pembuatan ekstrak daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) dengan menggunakan pelarut yang berbeda terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) terhadap bakteri patogen lain yang dapat menginfeksi kesehatan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, H.R. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans) Berpotensi sebagai Antioksidan*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Al'Akayleh, A.T. 1999. *Invasive Burn Wound Infection*. Annals of Burns and Fire Disasters. Vol. XII; no 4.
- Aprilina, M.S., Nastiti, D.P., Putri andani, A.D., Hestiningih, R. 2012. "Metode Plester Herbal Berbahan Bunga Teratai (*Nelumbium nelumbo* Druce) Bagi Penderita Impetigo". Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro, Semarang.
- Andriani, C.R., Oesman, F., Nursanty. R. 2016. "Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*". Jurnal Kedokteran Syiah Kuala. Vol 16 (1).
- Ansel, H.C., 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Antika Wella, Gustina Indriati, Irdawati. 2014. "Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bunga Tanjung (*Mimusops elengi* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*". Padang. Program Studi Pendidikan Biologi Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan (STKIP) PGRI SUMATERA BARAT.
- Ariyanti, Ni Kadek, Ida Bagus Gede Darmayasa, Sang Ketut Sudirga. 2012. "Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922". Jurnal Biologi. Volume XVI No.1 Juni 2012 (1): 1 – 4. ISSN : 1410 5292.
- Asih, I.A.R Astiti, IW.G. Gunawan, dan N.M. Desi Ariani. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksana Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) Serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas. Jurnal Kimia 4(2):135-140 (diakses pada 3 Desember 2016).
- Balafit, Ragaya Abd. R., Yayuk Andayani dan Erin Ryantin Gunawan. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid dari Hasil Faksinasi Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). Chem. Prog. 6(2): 56-61.
- Bowler, P.G, Duerden, B.I, Armstrong, D.G. 2001. *Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management*. Clinical Microbiology Reviews. April vol 14 (2); halaman: 244-269.

- Church, Deirdre, Elsayed, sameer, Reid, Owen, Winston, Brent, Lindsay, Robert. 2006. *Burn Wound Infection*. Clinical Microbiology Reviews. April vol. 19, No. 2; halaman: 403-434.
- Departemen Kesehatan Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1997. *Kompedia Obat Bebas*. Jakarta.
- Depkes. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2001. *Investaris Tanaman Obat Indonesia (1)*. Jilid 2. Jakarta RI.
- Dewi, A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillindari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*. ISSN : 0126 – 0421.
- Elliot T. Worthington T. Husman O. Gill M. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi*. Edisi IV. Pendit B.U, penerjemah; Puspawati N., Suyono Y.J., Djayasaputra L., editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Lecture Notes Medical Microbiology & Infection*.
- Emilan, T., A. Kurnia, B. Utami, L.N.Diyani dan A. Maulana. 2011. “Konsep Herbal Indonesia: Pemastia Mutu Produk Herbal”. Depok: Program Studi Megister Ilmu Herbal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Ganiswara, S.E. 1995. *Trease and Evans Pharmacognosy Basic of Therapeutics*. London.
- Ghozali, Imam. 2011. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program IBM SPSS 19*. Cetakan V. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Gillespie, S.H., Bamford, K.B. 2008. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi Ketiga (Alih bahasa: dr. Stella Tinia H) Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Gunawan dan Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alami(Farmakogonosi) jilid 1*. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Press, Bandung. Halaman 5;234.

- Hernani dan Raharjo, M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Bogor: Swadaya.
- Irianto K. 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Jannata, R. H., A. Gunadi dan T. Ermawati, 2014. Antibacterial Activity of Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris* Mill.) Extract on The Growth of *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 2 (no.1). Universitas Jember, Jember.
- Jawetz E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2005. *Microbiology Kedokteran*. Jakarta: Selemba Medika.
- Jawetz E., Melnick., and Adelberg. 2007. *Medical Microbiology 24th edition*. USA: Mc-Graw Hill companies.
- Jawetz E., Melnick., and Adelberg. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-25 (Alih bahasa: dr. Aryandhito Widhi Nugroho). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E., Melnick J.L., Brooks K.C., Carroll J., Moerse T.A. 2012. *Medical Microbiology*. US: McGraw-Hill Companies.
- Jayanegara, A. dan A. Sofyan. 2008. "Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan secara In Vitro Menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol sebagai Determinan". *Media Peternakan* ISSN 0126-0472 31 (1): 44-52.
- Kuntaman. 2007. *Penyakit Infeksi di Indonesia*. Di edit oleh: Nasronudin, Hadi, U., Vitanata, Bramantono, E.A.T., Suharto, Soewandojo, E. Airlangga University Press, Surabaya, Hal. 177-178.
- Lenny, S., 2006. *Isolat dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp*, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Loomis, S.L. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi III. Donatus, I.A, penerjemah. Insitut Keguruan dan Ilmu Pengetahuan. Semarang: Semarang Press.
- Mari, Kavitha, Vadivu, R.V., dan Radha, R. 2016. Phytochemical Screening on the Successive Extract of Bark of *Sterculia foetida* Linn. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 2 (4): 288-294.
- Maryanti, Alin dan Rina Laksmi hendrati. 2014. *Budidaya Kepuh (Sterculia foetida Linn) untuk Antisipasi Kondisi Kering*. Bogor: IPP Press.

- Muhaimin, M., Liang, O.B., Ratnaningsih, E., Purwantini, E and Retnoningrum, D.S. 2003. Optimasi Proses Overproduksi, Pemurnian dan Karakterisasi Protein Mga Sebagai Molekul Target Untuk Pencegahan Infeksi Oleh *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Matematika dan Sains*. Vol. 8, No 3. Hal. 117-123.
- Munawaroh, Safaatul dan Prima, Astuti Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Pelarut Etanol dan n-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* 2(1): 73-78.
- National Tropical Botanical Garden. 2016. *Sterculia foetida* [online]. (http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=10732, diakses pada 22 November 2016).
- Ningsih, Dian Riana, Zufahair, dan Dwi Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Molekul* 11(1): 101-111.
- Nuria, Maulita Cut, Faizatun, A, dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal*. VOL 5. NO 2, 2009: HAL 26 – 37.
- Palupi, I.N. 2016. “Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*” Skripsi. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Perwita, F.A. 2011. “Teknologi Ekstraksi Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) Dalam Etanol 70% Dengan Metode Perkolasi” Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prastowo, Eko Andri. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Prayudhani Maya Firdausi, Utami Sri Hastuti, Endang Suarsini. 2012. “Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil (*Manilkara kauki* L Dubar) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*”. *SMK Negeri 1 Pasuruan dan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang*.

- Priya, P. 2014. *Antioxidant and Antibacterial Properties of Manilkara zapota (L) Royen Flower. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2014. ISSN-09751556.
- Purnama, W.B. 2013. “Aktivitas Antibakteri Glukosa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, Dan *Echerichia coli*” Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radji, M. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Redha, Abdi 2010. “ Flavonoid Struktur, Sifat Oksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis .” *Jurnal Berlian* 9 (2) : 196-202.
- Rumanggit, Hanna M, Max R.J Runtuwene, dan Sri Sudewi, 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellaodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* 4(3): 183-192.
- Rohyani, I. S., Aryanti, E., dan Suropto. 2015. Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal yang Sering Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat di Pulau Lombok. *Jurnal*. Vol 1 (2): 388-391.
- Rostinawati. 2009. Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten dan *Staphylococcus aureus* Resisten *Metisilin* [penelitian mandiri]. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.
- Santoso, R. M., Praharani, D., dan Purwanto. 2012. *Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (Momordica charantia) dalam Menghambat Pertumbuhan Streptococcus viridans*. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Gigi:Universitas Jember.
- Sastrawan, Idza N, Meiske Sangi, dan Vanda Kamu. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH.*Jurnal Ilmiah Sains* 13(2):110-115.
- Septiningsih, E. 2008. Efek Penyembuhan Luka Bakar Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) dalam Sediaan Gel pada Kulit Punggung Kelinci New Zealand. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Setyawati, Widiastuti Agustina Eko, Sri Retno Dwi Ariani, Ashadi, Bakti Mulyani, dan Cici Putri Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*: 271-280.

- Shivarkumar, S.P. dan M, Vidyasagar, G. 2014. Green Synthesis, Characterization and antimicrobial activity of Silver Nanoparticles by using *Sterculia foetida* L. young Leaves aqueous extract. *International Journal of Green Chemistry and Bioproces*. ISSN 2277-7199 Volume 4, No. 1 : 1-5.
- Soedarto. 2015. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: CV Sagungseto.
- Todar, K. 2012. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal Disease* [online]. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>, diakses pada 5 Desember 2015.
- Todar, K. 2004. *Textbook of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa*. USA: University of Wisconsin-Madison Departemen of Bacteriology.
- Tukiran, Suyatno, Hadayati, N. 2014. Skrining Fitokimia Pada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), Dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.). Jurnal. Prosiding Seminar Nasional Kimia. ISBN: 978-602-0951-00-3.
- Virginita, D.P dan Purwati, D.M. 2015. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* Secara *IN VITRO*. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada Vol 13 Nomor 1.
- Waluyo, joko. 2014. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia foetida* L.) dan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acne*. Saintika 16(1): 10-17.
- Wulandari, D., Sarwiyono., Suryowardoyo, P. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor Dengan Pelarut Etanol Dan Dekok Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. Jurnal.
- Yanti, Y.N dan Mitika, S. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, 2 (1), 158-168.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan



N0. : 147/DET/UPT-LAB/23/V/2017

Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Nurrita Putri A

NIM : 16130208 N

Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kepuh / *Sterculia foetida* L.**

Hasil determinasi berdasarkan : **Baker : Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27b – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811b – 825b – 826b
– 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834a – 835a – 836a – 837a – 838b – 839b – 840b –
845b – 846a. familia 94. Sterculiaceae. 1a – 2a. 15. Sterculia. *Sterculia foetida* L.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, menahun.

Akar : Tunggang

Batang : Berkayu, percabangan monopodial.

Daun : Majemuk menjari, ibu tangkai 9 – 45 cm, anak daun 5 – 9 cm, bertangkai pendek, bulat memanjang sampai lanset, ujung meruncing.

Bunga : Majemuk, kelopak bercangap, tabung kelopak merah tua, lobi mula-mula kuning kehijauan di pangkal dan sepanjang marginal, benang sari 12– 15, carpella 5.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surakarta, 23 Mei 2017

Fim determinasi

Dra. Kartimah Wiryoendjojo, SU.

Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian



Nomor : 191 / H6 – 04 / 16.01.2017
 Lamp. : - helai
 Hal : Ijin Penelitian

Kepada :
Yth. Direktur
RSUD. DR. MOEWARDI
Di Surakarta

Dengan Hormat,

Guna memenuhi persyaratan untuk keperluan penyusunan Tugas Akhir (TA) bagi Mahasiswa Semester Akhir Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, yang pelaksanaannya di RSUD. dr. Moewardi Surakarta, terkait bidang yang ditekuni dalam melaksanakan kegiatan tersebut bersamaan dengan ini kami menyampaikan ijin bahwa :

NAMA : NURRITA PUTRI ANGGRAINI
NIM : 06130208 N
PROGDI : D-IV Analis Kesehatan
JUDUL : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus* Kultur Murni dan Sampel Klinis Di RSUD. dr. Moewardi. (Sampel Pus Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus*)

Untuk ijin Penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus* Kultur Murni dan Sampel Klinis Di RSUD. dr. Moewardi. (Sampel Pus Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus*) di Instansi Bapak / Ibu.

Demikian atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Surakarta, 16 Januari 2017

Dekan



Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D.

Lampiran 3. Bukti Pengajuan Kelaikan Etik

Form A2

http://komisietika.net/admin/ec/bukti_pengajuan.php?id=NDY30A


KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. Moewardi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret



BUKTI PENGAJUAN KELAIKAN ETIK

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa data yang saya isikan adalah benar.

Peneliti : NURRITA PUTRI ANGGRAINI
: 06130208N
Judul Penelitian : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KEPUH (*Sterculia foetida* L.)
: TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus* KULTUR
MURNI DAN SAMPEL KLINIS RSUD Dr MOEWARDI
Lokasi Tempat Penelitian : LABORATORIUM MIKROBIOLOGI RSUD Dr MOEWARDI



06130208N-4678

Mengetahui
Petugas

Nuris pranita

Surakarta : 18 Jan 2017

Peneliti

Nurrita Putri Anggraini
(NURRITA PUTRI ANGGRAINI)
06130208N

Lampiran 4. Kelaikan Etik



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital
 RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine Sebelas Maret University
 Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 56 / II / HREC /2017

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University Of Surakarta
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

after reviewing the proposal design, here with to certify
 setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KEPUH (STERCULIA FOETIDA L.)
 TERHADAP PSEUDOMONAS AERUGINOSA DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS KULTUR
 MURNI DAN SAMPEL KLINIS RSUD DR MOEWARDI

Principal investigator : Nurrita Putri Anggraini
 Peneliti Utama 06130208N

Location of research : RSUD Dr MOEWARDI
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan laik etik

Issued on : 09 Februari 2017

Chairman
Ketua

 Dr. Harto Wicakso, dr., Sp.F, MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 5. Surat Pengantar Penelitian



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH
Dr. MOEWARDI

Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kode pos 57126 Telp (0271) 634 634,
 Faksimile (0271) 637412 Email : rsm@jatengprov.go.id
 Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

Surakarta, 14 Februari 2017

Nomor : 136/DIK/II/2017
 Lampiran : -
 Perihal : Pengantar Penelitian

Kepada Yth. :
Ka. Instalasi Lab. Mikrobiologi & Parasitologi Klinik

RSUD Dr. Moewardi
 di-
SURAKARTA

Memperhatikan Surat dari Dekan FIK-USB Surakarta Nomor : 191/H6-04/16.01.2017; perihal Permohonan Ijin Penelitian dan disposisi Direktur tanggal 18 Januari 2017, maka dengan ini kami menghadapkan siswa:

Nama : Nurrita Putri Angraini
NIM : 06130208 N
Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta

Untuk melaksanakan penelitian dalam rangka pembuatan **Skripsi** dengan judul : "**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia Foetida L.*) terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus* Kultur Murni dan Sampel Klinis RSUD Dr. Moewardi**".

Demikian untuk menjadikan periksa dan atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala
 Bagian Pendidikan & Penelitian,

Slamet Gunanto, SKM. M.Kes
 NIP. 19660310 198902 1 002

Tembusan Kepada Yth.:

1. Wadir Umum RSDM (sebagai laporan)
2. Arsip

RSDM Cepat, Tepat, Nyaman dan Mudah

Lampiran 6. Daun Kepuh dan Serbuk Daun Kepuh



Daun Kepuh



Serbuk daun kepuh

Lampiran 7. Hasil Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

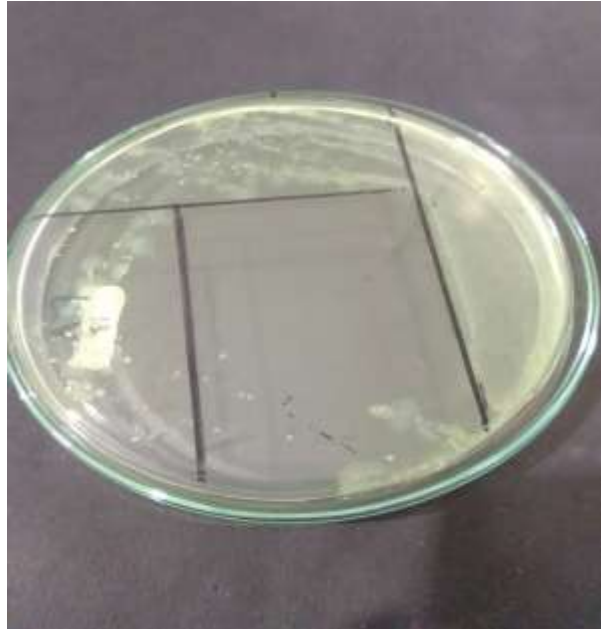


Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

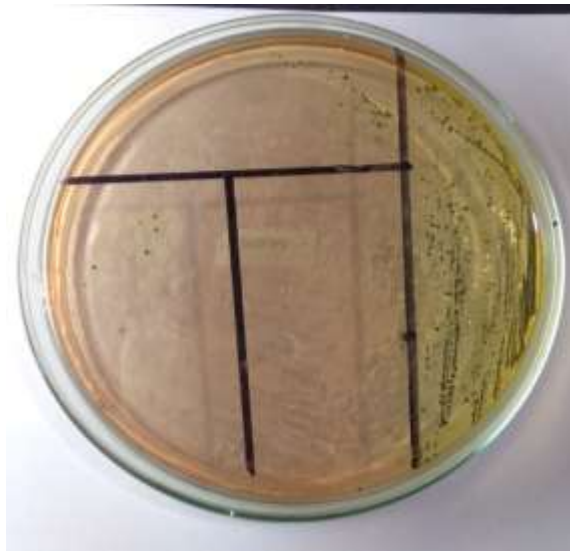


Bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 8. Hasil Isolasi yang diduga Positif *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*



Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA



Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media VJA

Lampiran 9. Penentuan Kadar Air



Penampung air berskala

Perhitungan kadar air (Thermovolumetri)

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Skala}}{\text{BeratBahan}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{2}{20,9348} \times 100\% = 9,5\%$$

Lampiran 10. Hasil Ekstrak



Perkolasi



Hasil perkolasi



Ekstrak



Konsentrasi ekstrak

Perhitungan Randemen

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{beratekstrakyangdiperoleh}}{\text{beratbahanyangdiekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{35 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% = 7\%$$

Lampiran 11. Alat Penelitian dan Sampel Klinis



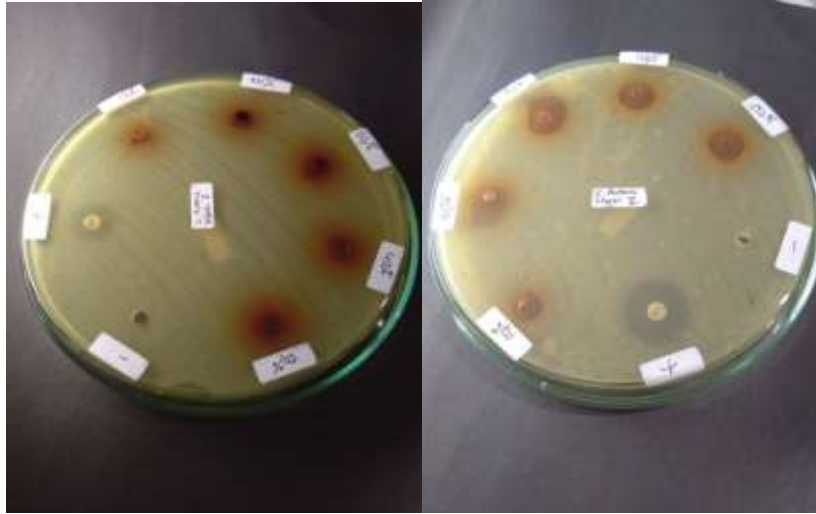
Evaporator



Autoclav

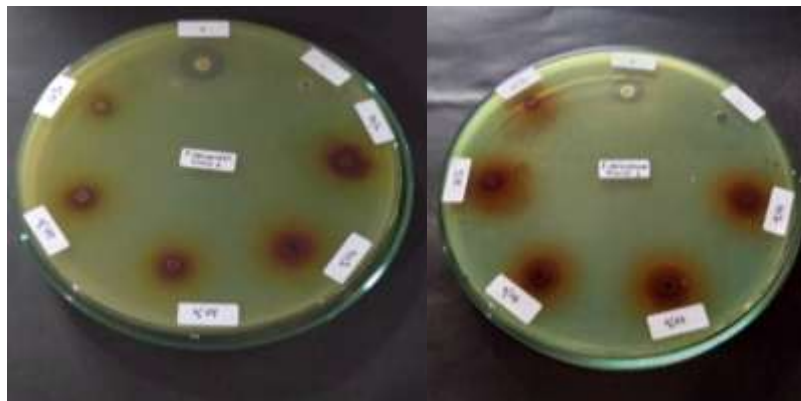


Sampel Pus

Lampiran 12. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri
Staphylococcus aureus isolate pus
pasien

Uji aktivitas antibakteri
Staphylococcus aureus laboratorium



Uji aktivitas antibakteri
Pseudomonas aeruginosa isolat pus
pasien

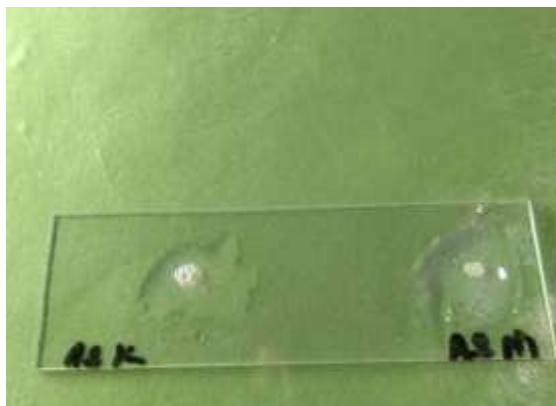
Uji aktivitas antibakteri
Pseudomonas aeruginosa laboratorium

Lampiran 13. Uji Biokimia, Katalase, dan Koagulase



Uji Biokimia *Pseudomonas aeruginosa* isolate pus pasien

Uji Biokimia *Pseudomonas aeruginosa* laboratorium



Uji Katalase



Uji Koagulase

Lampiran 14. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kepuh

SAPONIN

FLAVONOID

TANIN

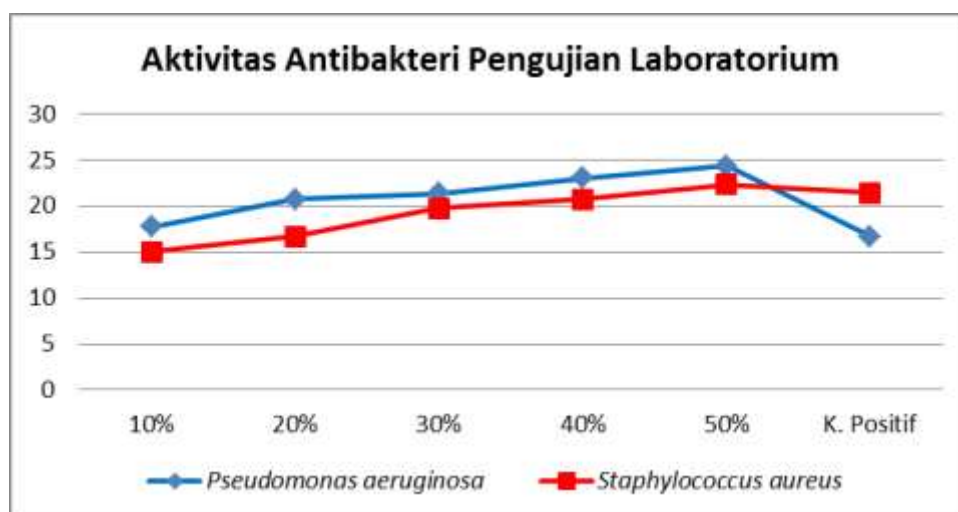


POLIFENOL

TRITERPENOID

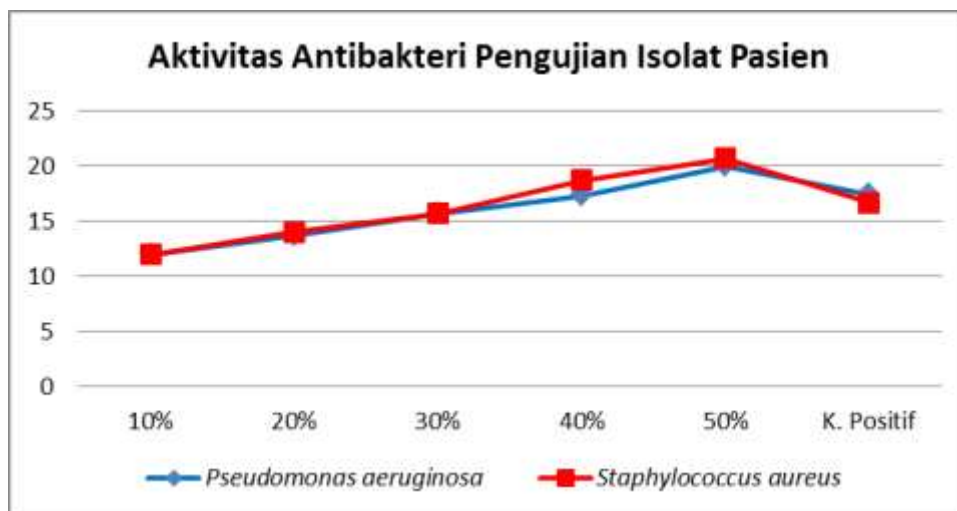
Lampiran 15. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Murni	10%	18	17	18	17,7
	20%	20	21	21	20,7
	30%	22	22	20	21,3
	40%	23	24	22	23,0
	50%	24	25	24	24,3
	Kontrol +	16	17	17	16,7
	Kontrol -	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> Murni	10%	15	15	15	15,0
	20%	17	17	16	16,7
	30%	19	20	20	19,7
	40%	20	21	21	20,7
	50%	22	23	22	22,3
	Kontrol +	20	23	21	21,4
	Kontrol -	-	-	-	-



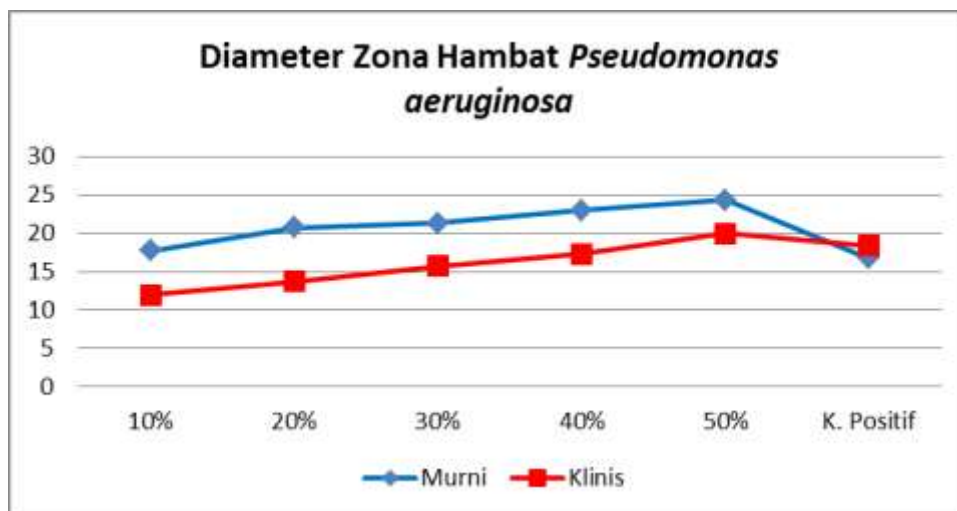
Lampiran 16. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dari Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	13	14	13,7
	30%	16	15	16	15,7
	40%	18	17	17	17,3
	50%	20	20	20	20,0
	Kontrol +	16	18	18	17,4
	Kontrol -	-	-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	14	14	14,0
	30%	16	15	16	15,7
	40%	19	18	19	18,7
	50%	20	21	21	20,7
	Kontrol +	17	16	17	16,7
	Kontrol -	-	-	-	



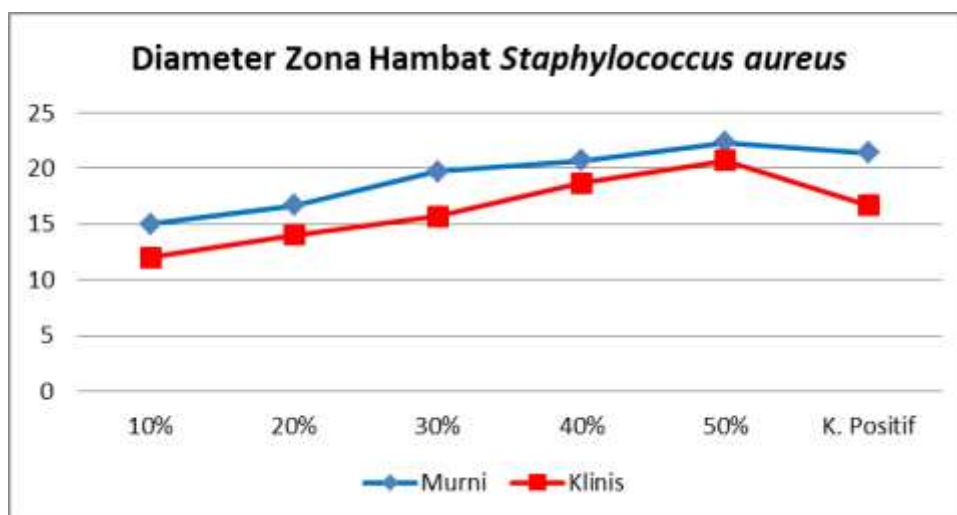
Lampiran 17. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Murni	10%	18	17	18	17,7
	20%	20	21	21	20,7
	30%	22	22	20	21,3
	40%	23	24	22	23,0
	50%	24	25	24	24,3
	Kontrol +	16	17	17	16,7
	Kontrol -	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	13	14	13,7
	30%	16	15	16	15,7
	40%	18	17	17	17,3
	50%	20	20	20	20,0
	Kontrol +	19	18	18	18,4
	Kontrol -	-	-	-	-



Lampiran 18. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Kepuh Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium dan Isolat Pus Pasien

Jenis	Konsentrasi	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-Rata Diameter Zona Hambatan (mm)
		R1	R2	R3	
<i>Staphylococcus aureus</i> Murni	10%	15	15	15	15,0
	20%	17	17	16	16,7
	30%	19	20	20	19,7
	40%	20	21	21	20,7
	50%	22	23	22	22,3
	Kontrol +	20	23	21	21,4
	Kontrol -	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> Klinis	10%	12	12	12	12,0
	20%	14	14	14	14,0
	30%	16	15	16	15,7
	40%	19	18	19	18,7
	50%	20	21	21	20,7
	Kontrol +	17	16	17	16,7
	Kontrol -	-	-	-	-



Lampiran 19. Uji Normalitas Data

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Murni	Klinis
N		10	10
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	60.40	47.90
	Std. Deviation	8.796	9.398
Most Extreme Differences	Absolute	.172	.138
	Positive	.100	.138
	Negative	-.172	-.106
Kolmogorov-Smirnov Z		.544	.437
Asymp. Sig. (2-tailed)		.928	.991

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 20. Uji ANOVA

Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus* Laboratorium Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Staphylococcus aureus	5	56.60	8.961	4.007	45.47	67.73	45	67
Pseudomonas aeruginosa	5	64.20	7.596	3.397	54.77	73.63	53	73
Total	10	60.40	8.796	2.782	54.11	66.69	45	73

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.487	1	8	.505

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	144.400	1	144.400	2.093	.186
Within Groups	552.000	8	69.000		
Total	696.400	9			

Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus* Isolat Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Staphylococcus aureus	5	48.60	10.479	4.686	35.59	61.61	36	62
Pseudomonas aeruginosa	5	47.20	9.365	4.188	35.57	58.83	36	60
Total	10	47.90	9.398	2.972	41.18	54.62	36	62

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.167	1	8	.693

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.900	1	4.900	.050	.829
Within Groups	790.000	8	98.750		
Total	794.900	9			

Pseudomonas aeruginosa Laboratorium dengan isolat
Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Staphylococcus aureus Murni	5	64.20	7.596	3.397	54.77	73.63	53	73
Staphylococcus aureus Klinis	5	47.20	9.365	4.188	35.57	58.83	36	60
Total	10	55.70	12.037	3.807	47.09	64.31	36	73

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.276	1	8	.614

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	722.500	1	722.500	9.938	.014
Within Groups	581.600	8	72.700		
Total	1304.100	9			

Staphylococcus aureus Laboratorium dengan isolat
Oneway

Descriptives

Pengamatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Staphylococcus aureus Murni	5	56.60	8.961	4.007	45.47	67.73	45	67
Staphylococcus aureus Klinis	5	48.60	10.479	4.686	35.59	61.61	36	62
Total	10	52.60	10.113	3.198	45.37	59.83	36	67

Test of Homogeneity of Variances

Pengamatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.145	1	8	.713

ANOVA

Pengamatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	160.000	1	160.000	1.683	.231
Within Groups	760.400	8	95.050		
Total	920.400	9			

Lampiran 21. Formulasi dan Pembuatan Media

1. Pseudomonas Selective Agar (PSA)

Gelatin peptone	20,0 g/l
Magnesium chloride	1,4 g/l
Pottasium sulphate	10,0 g/l
Cetrimide	0,3 g/l
Agar	3 g/l
pH	7,2±0,2 @ 25°C

Cara pembuatan :

Suspensikan 44,3 gram media dalam 1000 ml aquades selanjutnya dipanaskan hingga media larut sempurna. Tuang dalam tabung reaksi dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan media sampai suhu ±50°C kemudian tuang ke dalam cawan petri steril.

2. Brain Heart Infusion (BHI)

Brain Infusion Solids	12,5 g/l
Brain Heart Infusion Solide	5,0 g/l
Protease peptone	10,0 g/l
Glukose	2,0 g/l
Sodium chloride	5,0 g/l
Disodium hydrogen phosphatase	2,5 g/l
Agar	10,0 g/l
pH	7,2±0,2 @ 25°C

Cara pembuatan :

Suspensikan 37 gram media dalam 1000 ml aquades. Larutkan dan tuang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Kliger's Iron Agar (KIA)

'Lab-lemco' Powder	3,0 g/l
Yeast extract	3,0 g/l
Peptone	20,0 g/l
Sodium chloride	5,0 g/l
Lactose	10,0 g/l
Glukose	1,0 g/l
Ferric citrate	0,3 g/l
Sodium thiosulfate	0,3 g/l
Phenol red	0,05 g/l
Agar	12,0 g/l
pH	7,2±0,2 @ 25°C

Cara pembuatan :

Suspensikan 55 gram media dalam 1000 ml aquades. didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring.

4. Media Sulfida Indol Motility (S.I.M)

Tryptone	20,0 g/l
Peptone	6,1 g/l
Ferrous ammonium sulphate	0,2 g/l
Sodium thiosulphate	0,2 g/l
Agar	3,5 g/l
pH	7,2±0,2 @25°C

Cara pembuatan :

Suspensikan 30 gram media dalam 1000 aquades. didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Media Lysine Iron Agar (LIA)

Bacteriological peptone	5,0 g/l
Yeast extract	3,0 g/l
Glucose	1,0 g/l
L-lysine	10,0 g/l
Ferric ammonium citrate	0,5 g/l
Sodium thiosulphate	0,04 g/l
Bromocresol purple	0,02 g/l
Agar	14,5 g/l
pH	6,7±0,2 @25°C

Cara pembuatan

Suspensikan 34 gram media dalam 1000 ml aquades. didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring.

6. Media Citrat (Simons Citrate Agar)

Magnesium sulphate	0,2 g/l
Ammonium dyhydrogen phosphate	0,2 g/l
Sodium ammonium phosphate	0,8 g/l
Sodium citrate tribasic	2,0 g/l
Sodium chloride	5,0 g/l
Bromotymol blue	0,08 g/l
Agar	15,0 g/l
pH	7,0±0,2 @25°C

Cara pembuatan :

Suspensikan 23 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring.

7. Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrate infusion from	300,0 g/l
Casein hydrolysate	7,5 g/l
Starch	1,5 g/l
Agar	17,0 g/l

pH $7,3 \pm 0,2 @ 25^{\circ}\text{C}$

Cara pembuatan :

Suspensikan 38 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autovlave pada suhu 121°C selama 15 menit.

8. Standar Mac. Farland

Suspensi Standart Mac. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8CFU/ml .

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat $1\% \text{ b/v } 9,5 \text{ ml}$

Larutan Barium Klorida $1,175\% \text{ v/v } 0,5 \text{ ml}$

Cara pembuatan :

Campur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8CFU/ml .

9. Komposisi Cat Gram

Cat Gram A (warna ungu)

Kristal violet 2 gram

Etil Alkohol 95% 20 ml

Amonium oksalat $0,8 \text{ gram}$

Aquadest 80 ml

Cat Gram B (warna coklat)

Yodium	1 gram
Kalium Iodida	2 gram
Aquadest	300 ml
Cat Gram C (tak berwarna)	
Aceton	50 ml
Etil alkohol	10 ml
Cat Gram D (warna merah)	
Safranin	0,25 gram
Etil alkohol	10 ml
Aquadest	90 ml

10. Komposisi reagen Erlich

Erlich A

Paradimethyl Amino benzaldehyde	2 gram
Alkohol 95%	190 ml
HCl _{conc}	40 ml

Erlich B

Kalium Persulfat ($K_2S_2O_8$) jenuh dalam aquadest