

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) TERHADAP
BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 DENGAN METODE DIFUSI**



Oleh:

**Hastungkara Shinta Mayangsari
18123674A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) TERHADAP
BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 DENGAN METODE DIFUSI**



Oleh :

**Hastungkara Shinta Mayangsari
18123674A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN
KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) TERHADAP BAKTERI
Escherichia coli ATCC 25922 DENGAN METODE DIFUSI**

Oleh :

Hastungkara Shinta Mayangsari
18123674A

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



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

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

Pembimbing,

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

Penguji:

1. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt
2. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
4. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

1.
2.
3.
4.

Halaman Persembahan

“Sesungguhnya sesudah kesulitan akan ada kemudahan”

(QS Al-Insyirah)

“Keberhasilan adalah kemampuan untuk melewati dan mengatasi dari suatu kegagalan-kegagalan berikutnya tanpa harus kehilangan semangat”

(Winston Churchill)

“ Ilmu lebih baik daripada harta. Ilmu menjaga engkau dan engkau menjaga harta. Ilmu itu penghukum (hakim) dan harta itu terhukum. Harta itu kurang apabila dibelanjakan tetapi ilmu bertambah apabila dibelanjakan”

(Sayyidina Ali bin Abi Thalib)

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

Bapak, mama, adik ku, mz ardi, dan keluargaku

Makasih untuk semua doa dan dukungan yang diberikan,

teman dan sahabat yang selalu mendukungku,

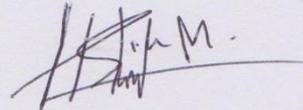
agama, almamater, bangsa dan negriku.

PERNYATAAN

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

Saya siap menerima sanksi baik akademis maupun hukum apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain.

Surakarta, 14 Juni 2016



Hastungkara Shinta Mayangsari

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan kekuatan serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERIEKSTRAK DAN FRAKSIDARIDA UNKEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) TERHADAP BAKTERIE *Escherichia coli* ATCC 25922 DENGAN METODE DIFUSI”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelas Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi
2. Prof. DR. RA. Oetari, SU. MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt selaku pembimbing utama dan Reslely Harjanti, M.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah dengan sabar membimbing, mengarahkan, memberi nasehat, dan meluangkan waktunya untuk membimbing penulis saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberi masukan dan kesempurnaan dalam skripsi ini.

5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Orangtua ku Dr. Slamet MD, M.Hum dan Yekti Retno Nugrahanti, S.Sn., S.Pd. beserta adikku Diwangkara Ridho Arisandi tersayang atas doa, dukungan, dan kasih sayangnya selama disusunnya skripsi ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta, 14 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Kegunaan Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Kepundung.....	7
1. Sistematika kepundung.....	7
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi kepundung.....	7
4. Kandungan kimia.....	8
4.1 Saponin.....	9
4.2 Flavonoid.....	9
4.3 Tanin.....	10

4.4 Alkaloid.....	10
5. Kegunaan tanaman.....	11
B. Simplisia.....	11
1. Pengertian simplisa.....	11
2. Pengeringan simplisa.....	11
3. Tahapan pembuatan simplisa.....	12
C. Penyarian.....	13
1. Ekstraksi.....	13
2. Ekstrak.....	13
3. Maserasi.....	13
4. Fraksinasi.....	14
5. Cairan penyari untuk ekstraksi.....	14
5.1 Etanol.....	15
5.2 <i>n</i> -heksana.....	15
5.3 Etil asetat.....	16
5.4 Air.....	16
D. <i>Escherichia coli</i>	16
1. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	16
2. Sistematika <i>Escherichia coli</i>	17
3. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	17
4. Sifat <i>Escherichia coli</i>	18
5. Toksin <i>Escherichia coli</i>	18
E. Antibakteri.....	19
1. Pengertian antibakteri.....	19
2. Mekanisme kerja antibakteri.....	19
3. Uji aktivitas antibakteri secara difusi.....	21
F. Media.....	23
1. Pengertian media.....	23
2. Macam-macam media.....	23
3. Sterilisasi.....	24
G. Kotrimoksazol.....	24
H. Landasan Teori.....	25
I. Hipotesis.....	29

BAB III METODOLOGI PENELITIAN30

A. Populasi dan Sampel.....	30
B. Variabel Penelitian.....	30
1. Identifikasi variabel utama.....	30

2.	Klasifikasi variabel utama.....	31
3.	Definisi operasional variabel utama.....	32
C.	Alat dan Bahan.....	33
1.	Alat.....	33
2.	Bahan.....	33
D.	Jalannya Penelitian.....	34
1.	Determinasi tanaman.....	34
2.	Pengambilan bahan.....	34
3.	Pengeringan bahan.....	34
4.	Pembuatan serbuk simplisia.....	34
5.	Penetapan susut pengeringan.....	35
6.	Pembuatan ekstrak etanol daun kepundung.....	35
7.	Uji bebas etanol.....	36
8.	Penetapan persen rendemen.....	36
9.	Identifikasi kandungan kimia.....	36
9.1	Identifikasi flavonoid.....	36
9.2	Identifikasi alkaloid.....	36
9.3	Identifikasi tanin.....	37
9.4	Identifikasi saponin.....	37
10.	Sterilisasi.....	37
11.	Pembuatan fraksi <i>n</i> -heksana daun kepundung.....	37
12.	Pembuatan fraksi etil asetat daun kepundung.....	38
13.	Pembuatan fraksi air daun kepundung.....	38
14.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	38
15.	Identifikasi makroskopis.....	38
16.	Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram.....	39
17.	Identifikasi secara biokimia.....	40
17.1	Media SIM (<i>Sulfida Indol Motility</i>).....	40
17.2	Media KIA (<i>Kliger Iron Agar</i>).....	40
17.3	Media LIA (<i>Lysine Iron Agar</i>).....	40
17.4	Media <i>Citrate</i>	41
18.	Pengujian aktivitas antibakteri.....	41
E.	Analisis Hasil.....	45
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		46
A.	Penyiapan Bahan Tanaman.....	46
1.	Determinasi daun kepundung.....	46
2.	Hasil pengambilan dan pengeringan daun kepundung.....	47
3.	Hasil pembuatan susut pengeringan serbuk.....	47
4.	Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun kepundung.....	48

5. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun kepundung....	49
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia.....	49
7. Fraksinasi.....	51
B. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	52
1. Hasil pembuatan suspensi.....	52
2. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	52
2.1 Hasil identifikasi secara makroskopis.....	52
2.2 Hasil identifikasi secara mikroskopis.....	52
2.3 Hasil identifikasi secara biokimia.....	53
3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri.....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun kepundung (<i>Baccaurea Racemosa</i> Muell. Arg)	8
Gambar 2. Diagram skema pembuatan ekstrak daun kepundung	42
Gambar 3. Diagram skema pembuatan fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun kepundung	43
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun kepundung dengan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%	44
Gambar 5. Histogram rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil bobot kering terhadap bobot basah daun kepundung	47
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan dengan menggunakan alat <i>moisture balance</i>	48
Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak daun kepundung	49
Tabel 4. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun kepundung.....	49
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia	50
Tabel 6. Hasil rendemen fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.....	51
Tabel 7. Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri <i>Escherichia coli</i>	54
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi	57

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Hasil determinasi daun kepundung.....	62
Lampiran 2.	Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kepundung.....	63
Lampiran 3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung menggunakan alat <i>moisture balance</i>	64
Lampiran 4.	Penetapan prosentase rendemen ekstrak etanol 70% daun kepundung.....	65
Lampiran 5.	Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air.....	66
Lampiran 6.	Pembuatan larutan DMSO 1%.....	68
Lampiran 7.	Pembuatan larutan uji ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% secara difusi.....	69
Lampiran 8.	Perhitungan antibiotik kotrimoksazol.....	72
Lampiran 9.	Foto tanaman kepundung, serbuk, dan ekstrak.....	73
Lampiran 10.	Foto alat-alat yang digunakan.....	74
Lampiran 11.	Foto identifikasi senyawa yang terkandung dalam daun kepundung.....	76
Lampiran 12.	Foto fraksinasi daun kepundung.....	77
Lampiran 13.	Foto biakan bakteri <i>Escherichia coli</i> , Mc. Farland, dan suspensi bakteri.....	78
Lampiran 14.	Foto identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia.....	79
Lampiran 15.	Foto hasil uji aktivitas antibakteri daun kepundung terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan metode difusi.....	80
Lampiran 16.	Formulasi dan pembuatan media.....	84
Lampiran 17.	Hasil analisa statistik data zona hambatan.....	87

INTISARI

MAYANGSARI, H S.,2016 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Dengan Metode Difusi, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) memiliki senyawa antimikroba yang berkhasiat untuk mengatasi diare. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak dan fraksi daun kepundung sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Daun kepundung diekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dilanjutkan ke fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengukur diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 50%, 25%, dan 12,5%. Kontrol positif yang digunakan adalah kotrimoksazol dan kontrol negatif DMSO 1%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kepundung memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Diameter zona hambat ekstrak daun kepundung rata-rata pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% berturut-turut 17,0 mm; 16,3 mm; 15,7 mm. Fraksi etil asetat memiliki diameter zona hambat rata-rata pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% berturut-turut 8,0 mm; 23,0 mm; 26,3 mm. Fraksi air memiliki diameter zona hambat pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% berturut-turut 14,3 mm; 13,7 mm; 13,7 mm. Aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu fraksi etil asetat daun kepundung yang mengandung flavonoid dan saponin.

Kata kunci: Daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg), fraksi etil asetat, fraksi air, *Escherichia coli* ATCC 25922, antibakteri, difusi.

ABSTRACT

MAYANGSARI, H.S., 2016. ANTIBACTERIAL ACTIVITY ASSAY OF KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) LEAF EXTRACT AND FRACTION AGAINST *Escherichia coli* ATCC 25922 USING DIFFUSION METHOD, Thesis, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Kepundung leaf (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) effective to treat diarrhea. It contained saponin, flavonoid, tannin, and alkaloid. The aim of this study was to determine the effectiveness of extract and fractions of *kepundung* leaf as an antibacterial against *Escherichia coli*.

Kepundung leaf was extracted using maceration method using ethanol 70% then it fractionated by *n*-hexane, ethyl acetate, and water. The antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 was tested by the diffusion method. The inhibition zone diameter was measured using concentrations of 50%, 25% and 12.5%. Cotrimoxazole was used as positive control was and DMSO 1% was used as negative control.

The study showed that *kepundung* leaf extract had antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922. The inhibitory zone diameter of extract at 12,5%, 25%, and 50% was 17,0 mm; 16,3 mm; 15,7 mm. Ethyl acetate fraction had an average of inhibitory zone diameter at 12,5%, 25%, and 50% was 8,0 mm; 23,0 mm; 26,3 mm. The most effective of antibacterial antiactivity was ethyl acetate fraction of *kepundung* leaf contained flavonoids and saponins.

Keywords: *Kepundung* leaf (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg), ethyl acetate fraction, water fraction, *Escherichia coli* ATCC 25922, antibacterial, diffusion.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang dengan pesat. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Hal ini ditunjang dengan keadaan udara di Indonesia yang panas, lembab dan berdebu sehingga mikroba dapat tumbuh dengan subur. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang berkembang biak di dalam jaringan tubuh manusia (Djide dan Sartini 2008).

Penyakit infeksi yang banyak dijumpai di Indonesia adalah Diare. Diare adalah suatu kondisi ketika konsistensi feses lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Diare merupakan salah satu penyebab terjadinya kematian, karena penderita mengalami dehidrasi. Bakteri penyebab diare meliputi *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter* (Tjay dan Raharja 2007).

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Maksum 2002).

Banyak tanaman obat yang menurut sejarah telah digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri-bakteri yang mulai kebal dengan obat-obat kimia. Penelitian yang dilakukan oleh WHO, para

ilmuwan di Eropa dan Asia mengungkapkan bahwa kenyataannya banyak tanaman obat yang memiliki khasiat antibakteri yang kuat, dalam banyak contoh sama dengan atau bahkan melebihi kemampuan antibiotik (Green 2005).

Seiring perkembangan zaman pemakaian dan penggunaan obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang sangat pesat. Obat-obat tradisional kembali digunakan dalam kehidupan masyarakat Indonesia sebagai salah satu alternatif pengobatan. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alam murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah2005).

Pengobatan tradisional telah lama digunakan dan merupakan bagian integral dari budaya suatu daerah (Permatasari *et al.* 2015). Faktor penting yang mendukung antara lain, keterampilan, sumber daya flora, keadaan tanah dan iklim, perkembangan industri obat modern dan tradisional, meningkatnya minat konsumen di dalam negeri dan luar negeri, serta harga yang semakin terjangkau (Supriadi *et al.* 2001).

Salah satu tanaman yang berpotensi dapat dikembangkan menjadi obat yaitu kepondung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.). Tanaman kepondung bermanfaat untuk mengobati diare. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman ini yaitu saponin, flavonoid dan tanin, daunnya juga mengandung alkaloid (Hutapea *et al.* 1993).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri dari genus *Baccaurea*. Beberapa tumbuhan dari genus *Baccaurea* yang telah diteliti memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah rambai

(*Baccaurea motleyana*), ceria (*Baccaurea polyneura* Hook. f.), belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.), dan tampoi (*Baccaurea macrocarpa*).

Tanaman dari genus *Baccaurea* yang telah diteliti antara lain penelitian yang dilakukan oleh Yunus (2014) melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) yang diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% berturut-turut sebesar 0, 0,433, dan 6,40 mm, fraksi n-heksan sebesar 3,55, 6,55 dan 8,77 mm, fraksi etil asetat sebesar 16,55, 19,05 dan 22,01 mm, dan pada fraksi metanol sebesar 6,92, 9,78 dan 12,32 mm, sedangkan ekstrak metanol pada bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% sebesar 5,01, 7,82, dan 9,21 mm, fraksi n-heksan sebesar 8,22, 11,36 dan 13,66 mm, fraksi etil asetat sebesar 15,41, 20,25 dan 23,92 mm, dan pada fraksi metanol sebesar 9,78, 13,43 dan 15,02 mm.

Susanti (2014) melaporkan bahwa aktivitas antibakteri kulit buah ceria (*Baccaurea polyneura* Hook.f.) yang diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian dari ekstrak metanol, dan ketiga fraksi yaitu: kloroform, etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan nilai MIC adalah 0,44% , 0,405%, 0,407%, dan 0,415%, dan terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 0,438%, 0,391%, 0,421%, dan 0,412%. Dari keempat sampel uji tersebut yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri uji adalah pada fraksi kloroform yaitu terhadap *Escherichia coli* sebesar 0,405% dan pada *Staphylococcus aureus* sebesar 0,391%.

Heni (2015) melaporkan bahwa aktivitas antibakteri dari kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) yang diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri, fraksi etil asetat memiliki kemampuan penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 100 mg/mL sebesar 3,51 mm, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Sedangkan ekstrak metanol, fraksi n-heksana dan fraksi metanol tidak aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Sisillia (2012) melaporkan potensi ekstrak kulit batang buah rambai (*Baccaurea motleyana*) yang telah diuji secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan zona hambat masing-masing sebesar adalah 8.67, 4.10, dan 8.23 mm pada konsentrasi 50 mg/mL secara berturut-turut.

Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas, genus *Baccaurea* kemungkinan besar memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu genus *Baccaurea* yang belum diteliti aktivitas antibakterinya yaitu daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi. Pelarut yang digunakan pelarut etanol 70 %, karena pelarut etanol 70% dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia (DepKes RI 2008). Kemudian selanjutnya dilakukan dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi merupakan cara untuk mengetahui diameter zona hambat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode sumuran dimana didasarkan pada kemampuan bakteri tersebut berdifusi dalam media agar dan kemampuan senyawa-senyawa antibakteri untuk menghasilkan diameter zona hambatan di sekeliling sumuran (Nurainy *et al.* 2008).

A. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat disusun perumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah ekstrak dan fraksi dari daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?
2. Berapa diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?
3. Manakah dari ekstrak dan fraksi tersebut yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922?

B. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Mengetahui diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksidaun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. Mengetahui ekstrak dan fraksi terhadap aktivitas antibakteri dari daun kepundung terhadap bakteri *Escherichia col* ATCC 25922*i*.

C. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang aktivitas bagian daun tanaman kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dapat menyebabkan diare.

Penelitian ini juga bertujuan untuk memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang obat tradisional yang saat ini mulai berkembang pesat di khalayak masyarakat Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kepundung

1. Sistematika kepundung

Sistematika tanaman kepundung menurut Hutapea *et al.* (1993), sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
SubDivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: Baccaurea
Jenis	: <i>Baccaurea racemosa</i> Muell, Arg. (Hutapea <i>et al.</i> 1993)

2. Nama daerah

Kepundung mempunyai beberapa nama daerah di Indonesia yaitu, Sumatera: kepundung (Melayu); Jawa: menteng (Sunda), kepundung (Jawa) (Hutapea *et al.* 1993).

3. Morfologi kepundung

Kepundung merupakan pohon penghasil buah. Sepintas buah kepundung menyerupai buah duku, tetapi tajuk pohonnya berbeda. Buah kepundung memiliki rasa masam (kecut).



Gambar 1. Tanaman daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg)

Tinggi pohon kepundung sekitar 10-25 m, batangnya tegak, berkayu, bulat, kasar, percabangan simpodial, putih kecoklatan. Daun tunggal, tersebar, lonjong, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal membulat, pertulangan menyirip, panjang daun sekitar 7-20 cm, dengan lebar 3-7,5 cm, tangkai silindris, warna hijau muda. Bunga majemuk, berkelamin satu, tumbuh di batang atau di cabang, tangkai silindris, panjang ± 10 cm, kelopak bunga berbentuk mangkok, benang sari empat sampai enam, bunga betina lebih besar dari bunga jantan, mahkota terbagi menjadi lima berwarna kuning. Buah buni, bulat, berdiameter ± 2 cm, masih muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna kuning. Biji bulat, berdiameter $\pm 0,5$ cm, berwarna putih kekuningan. Memiliki akar tunggang dan berwarna putih kotor. (Hutapea *et al.* 1993).

4. Kandungan kimia

Tanaman kepundung (*Baccaurea Racemosa* Muell.Arg.) kulit batang dan daunnya mengandung saponin, flavonoid dan tanin, daunnya juga mengandung alkaloid (Hutapea *et al.* 1993).

4.1 Saponin. Merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Senyawa ini dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995). 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 tersebut 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). Penyarian saponin akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antibakteri jika menggunakan pelarut polar seperti etanol 70% (Harborne 1987).

4.2 Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson 1995).

Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid merupakan metabolit sekunder turunan fenol, warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau larutan. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon (Harborne 1987). Senyawa golongan flavonoid dari golongan dari

beberapa bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Mulyono 2013).

4.3 Tanin. Tanin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Fungsi tanin sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan mendenaturasi protein. Tanin larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Robinson 1995).

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 tanin 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 perkusor ribonukleotida DNA (Priya *et al* 2014).

4.4 Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa siklik yang mengandung atom hidrogen. Alkaloid bermanfaat dalam hal pengobatan karena memiliki efek fisiologis yang kuat dan selektivitas senyawa (Marek *et al.* 2007). Beberapa

senyawa dari alkaloid dapat digunakan sebagai penolak serangga dan senyawa antifungus (Robinson 1995).

5. Kegunaan tanaman

Daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) berkhasiat untuk mengobati diare dan peluruh haid (Hutapea *et al.* 1993).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes 1985).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang atau bakteri, menghentikan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia secara alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung. Pengeringan alamiah

lainnya yaitu dengan cara diangin-anginkan dan tidak dipanaskan di bawah sinar matahari langsung.

Pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan alat pengering yang harus diperhatikan yaitu jenis bahan, suhu pengeringan, dan waktu pengeringan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi. Pengeringan yang paling banyak dilakukan yaitu pengeringan secara alamiah yang menggunakan panas sinar matahari langsung (Gunawan & Mulyani 2004).

3. Tahapan pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (DepKes RI2007).

C. Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut dimana zat yang diinginkan larut, sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

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

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair, dibuat dengan diambil sari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Air, eter atau campuran etanol dan air digunakan sebagai cairan penyari (DepKes RI 1979). Cairan penyari harus stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 2000).

3. Maserasi

Metode maserasi (*macerace* : mengairi, melunakkan) merupakan metode ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan

masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi. Cairan yang digunakan bisa berupa air, campuran air dan etanol, atau pelarut lain.

Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes 1986).

4. Fraksinasi

Fraksinasi diperlukan karena ekstrak etanol sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, semi polar akan masuk ke pelarut semi polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar (Mukhriani 2014; Tiwari *et al.* 2011).

5. Cairan penyari untuk ekstraksi

Penyarian ekstrak daun kepundung dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dan dilanjutkan dengan fraksinasi-heksana, etil asetat, dan air. Pelarut etanol 70% digunakan karena merupakan

penyari serbaguna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne 1987). Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun kepundung mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dengan dilakukan fraksinasi akan diketahui fraksi yang paling efektif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

5.1 Etanol. Etanol dapat melarutkan senyawa-senyawa seperti tanin, alkaloid basa, saponin, minyak atsiri, kurkumin, antrakuinon, flavonoid, steroid, dan glikosida. Etanol sebagai penyari dapat memperbaiki stabilitas bahan-abahan terlarut, karena etanol mempunyai sifat yang mampu menghambat enzim, kapang, dan kuman sulit tumbuh dalam etanol lebih dari 20% (Depkes 1986). Pelarut etanol lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Hampir semua komponen diidentifikasi dari tanaman yang aktif terhadap mikroorganisme adalah senyawa organik aromatik atau jenuh, mereka paling sering diperoleh melalui etanol atau ekstraksi metanol. Metanol lebih polar daripada etanol, tetapi metanol bersifat sitotoksik jika digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Tiwari *et al.* 2011).

5.2 n-heksana. Pelarut n-heksana adalah pelarut non polar yang dapat merusak jaringan daun sehingga dapat terbuka dan senyawa metabolit sekunder pada daun dapat terekstrak (Harborne 1987). Pelarut n-heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan yang jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. n-heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan

kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Kristijono 2008).

5.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan, tidak higroskopis, dan memiliki toksisitas rendah (Wardhani & Sulistyani 2012). Etil asetat bersifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa aglikon maupun glikon flavonoid. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid (Putri *et al.* 2013).

5.4 Air. Air digunakan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat ikut tersari sehingga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes 1986; Tiwari *et al.* 2011).

D. *Escherichia coli*

1. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Escherichia coli ATCC 25922 merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Maksum 2002).

2. Sistematika bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schimomyceyes
Bangsa	: Eubacterials
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Escherichia
Jenis	: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Songer & Post 2005).

3. Morfologi *Escherichia coli* ATCC 25922

Escherichia coli ATCC 25922 merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak di usus, bergerak dengan flagel. *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas, yang dapat meningkatkan sekresi air dan klorida dalam lumen usus dan menyebabkan hipermotilitas yang akan menyebabkan diare ringan pada anak-anak (Jawetz *et al.* 1986).

Escherichia coli ATCC 25922 menjadi patogen apabila mencapai jaringan di luar saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru, atau selaput otak yang dapat menyebabkan peradangan pada tempat tersebut (Bonang & Koeswardoyo 1982).

Escherichia coli ATCC 25922 dapat memecahkan karbohidrat dengan membentuk asam dan gas, tidak menyebabkan hemolisa pada lempeng agar dari darah. Agar Mc Conkey menunjukkan produksi asam sebagai penggunaan laktosa dari medium. Pada biakan *Endo Agar* akan membentuk koloni berwarna merah dengan kilap logam yang permanen (Volk & Wheller 1988).

4. Sifat *Escherichia coli* ATCC 25922

Bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat diketahui sifat fisiologinya dengan inokulasi pada media-media yang dilakukan secara: mikroskopis, makroskopis, dan uji biokimia. Sifat fisiologisnya yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922 secara khas memberikan hasil positif pada uji indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol serta menghasilkan gas dari glukosa (Jawetz et al. 2013).

5. Toksin *Escherichia coli* ATCC 25922

Toksin *Escherichia coli* ATCC 25922 dibagi menjadi empat yaitu 1.) *Escherichia coli* ATCC 25922 enterotoksigenic (ETEC) memproduksi toksin LT (termolabil) dan toksin ST (termostabil). Produksi kedua macam toksin ini diatur oleh plasmid yang mampu pindah dari satu kuman ke sel kuman lainnya (Karsinah et al. 1994). Toksin-toksin ini bekerja pada eterosit untuk menstimulasi sekresi cairan, menyebabkan terjadinya diare. 2.) *Escherichia coli* ATCC 25922 enteroinvatif (EIEC) menyebabkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan shigella. Bakteri menginvasi sel mukosa, menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa. 3.) *Escherichia coli* ATCC 25922 enteropathogenic (EPEC) merupakan *Escherichia coli* ATCC 25922 yang pertama dikenali sebagai patogen primer yang menyebabkan wabah diare di tempat perawatan anak. Penempelan berhubungan dengan hilangnya mikrovili dan disebabkan oleh pengaturan ulang dari aktin sel penjamu. 4.) *Escherichia coli* ATCC 25922 enterohemoragic (EHEC) memproduksi verotoksin yang bekerja pada sel vero in vitro. Diare berdarah disebabkan dapat dipersulit oleh

hemolisis dan gagal ginjal akut. Organisme ini ditransmisikan ke manusia melalui buruknya higienitas di tempat produksi makanan (Gillespie & Bamford 2008).

E. Antibakteri

1. Pengertian antibakteri

Antibakteri adalah senyawa atau zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Daya kerja antibiotik yaitu tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Sedangkan antiseptik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman (Rostinawati 2009).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (Jawetz *et al.* 1986). Pertama, menghambat metabolisme sel bakteri. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara 1995).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan. Dimana polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer

glikopeptida. Salah satu kerja antibakteri adalah menghambat sintesis dinding sel. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara 1995).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Membran biologi terdiri atas lipid, protein, dan lipoprotein. Membran sel berperan sebagai pembatas (*barrier*) difusi molekul air, ion, nutrien, dan sistem transport. Membran memelihara integritas komponen seluler. Kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya (Ganiswara 1995).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri. Dalam hidupnya bakteri mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Berbagai macam enzim yang berada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi kerjanya suatu penghambat. Beberapa agen bakteri bertindak menghambat fungsi ribosom. Ribosom bakteri mengandung dua sub unit yaitu sub unit 50S dan 30S, dan ini memungkinkan untuk tempat aksi antibiotik untuk satu sub unit atau keduanya (Ganiswara 1995).

Kelima, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Agen antimikroba dapat menghambat sintesis asam nukleat dan dapat mencegah DNA dari fungsinya dengan mengganggu polymerase yaitu suatu enzim yang mengkatalisis proses sintesis DNA yang terlibat dalam replikasi dan transkripsi DNA. Protein, DNA, dan RNA memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Hal ini

berarti gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Ganiswara 1995).

3. Uji aktivitas antibakteri secara difusi

Uji aktivitas antibakteri yaitu suatu uji aktivitas untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi atau pengenceran (Bonang dan Koeswardono 1982).

Metode difusi yaitu suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cawan berliang renik yang mengandung obat dalam jumlah tertentu dan ditempatkan pada pembenihan yang telah ditanami biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986).

Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Muller Hinton* yang ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya yaitu terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harmita 2004).

Prinsip dari metode difusi adalah bakteri ditanam pada media yang cukup subur sehingga mampu tumbuh optimal, kemudian diletakkan disk yang mengandung obat yang dimasukkan ke dalam agar dan diamati pengaruhnya terhadap pertanaman bakteri yang diperiksa. Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi yaitu pradifusi, ketebalan medium agar, ketebalan inokulum, komposisi media agar, suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan pengaruh pH.

Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi difusi dari zat uji ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter hambat. Makin tebal media yang digunakan makin kecil diameter hambat yang terjadi (Bonang dan Koeswardono 1982).

Dalam metode difusi ada berbagai cara yaitu, pertama, Cara *Kirby Bauer*. Kuman dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml dioleskan pada permukaan media agar hingga rata kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibiotik di atasnya.

Kedua, cara sumuran. Prinsipnya sama dengan *Kirby Bauer*, tetapi disk antibiotik diganti dengan larutan antibiotik yang diteteskan pada sumuran yang dibuat dengan diameter tertentu pada media agar.

Ketiga, Cara *Pour Plate*. Pada cara ini suspensi kuman dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml ditambahkan pada media agar yang masih mencair. Setelah media mengeras, diletakkan kertas samir (disk) antibiotik (Anonim 1986).

Keuntungan metode difusi adalah dapat dengan mudah menentukan potensi antibakteri dengan mengukur diameter zona radikal dan zona iradikal dibanding dengan metode dilusi yang pengamatannya sulit karena warna ekstrak sangat berpengaruh. Zona radikal adalah suatu daerah di sekitar sumuran yang sama sekali tidak terlihat pertumbuhan bakteri, sedangkan zona irradikal adalah daerah di sekitar sumuran yang pertumbuhan bakterinya dihambat oleh zat antimikroba tetapi tidak dimatikan.

Kekurangan metode ini adalah aktivitas antibakterinya dapat dipengaruhi oleh tebal tipisnya medium dan faktor difusibilitas obat karena suspensi bakteri tidak tersebar merata seperti metode dilusi (Jawetz *et al.* 1986).

F. Media

1. Pengertian media

Media yaitu bahan-bahan yang terdiri dari zat kimia organik atau anorganik yang telah melalui proses pengolahan tertentu dan dapat digunakan untuk menumbuhkan atau mengembangbiakkan mikroba. Syarat media yang digunakan dalam mikrobiologi harus mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba. Media tersebut harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan mikroba, steril, tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diinginkan dan tidak bersifat toksik (Suriawiria 1986).

2. Macam-macam media

Media dibagi menjadi beberapa macam menurut konsistensinya yaitu medium cair, medium padat, dan medium setengah padat. Pertama, medium cair seperti kaldu nutrient atau kaldu glukosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar.

Kedua, medium padat dapat ditumbuhkan bahan pematat ke dalam medium kaldu. Biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni.

Ketiga, medium setengah padat digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Medium ini mengandung gelatin ataupun agar-agar namun konsentrasi lebih kecil daripada medium padat (Hadioetomo 1985).

3. Sterilisasi

Bahan-bahan yang digunakan dalam mikrobiologi harus steril, artinya bahan atau peralatan tersebut bebas dari mikroba, baik dalam bentuk vegetatif maupun spora. Proses sterilisasi dalam bidang mikrobiologi sangat dianjurkan karena semua bahan atau peralatannya harus steril. Tindakan steril dapat dilakukan dengan cara:

Pertama, sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar UV, dan dengan radiasi.

Kedua, sterilisasi secara kimia yaitu memakai bahan kimia misal dengan penggunaan disinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin.

Ketiga, sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri (Suriawiria 1986).

Media yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven suhu 170°-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung sterilisasi di inkas menggunakan formalin (Suriawiria 1986).

G. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol digunakan dalam bentuk kombinasi karena sifatnya sinergistik. Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Penemuan sediaan kombinasi ini merupakan kemajuan

penting dalam usaha meningkatkan efektivitas klinik antimikroba. Penggunaan Kotrimoksazol pada penelitian ini karena kotrimoksazol merupakan antibiotik yang poten dan aktif dalam membunuh bakteri Gram negatif salah satunya yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922 (Ganiswara 1995). Kotrimoksazol jarang menimbulkan resistensi sehingga banyak digunakan untuk berbagai penyakit infeksi (Kirana Rahardja 2003).

Aktivitas kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya pada dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dan hidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidi) dan beberapa asam amino (metiolin, glisin) (Ganiswara 1995).

H. Landasan Teori

Keadaan udara di Indonesia yang panas, lembab, dan berdebu membuat mikroba dapat tumbuh subur. Penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme yaitu penyakit infeksi. Infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang dengan pesat. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Penyakit infeksi yang paling sering dijumpai yaitu diare. Diare adalah suatu kondisi ketika konsistensi feses lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Penyebab yang sering ditemukan di lapangan

ataupun secara klinis adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan (DepKes RI 2011).

Bakteri yang sering dijumpai dan paling sering menyebabkan diare yaitu bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan bakteri Gram negatif sebagai flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Maksum 2002).

Salah satu tanaman yang berpotensi dapat dikembangkan menjadi obat yaitu kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.). Tanaman kepundung bermanfaat untuk mengobati diare. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman ini yaitu saponin, flavonoid dan tanin, daunnya juga mengandung alkaloid (Hutapea *et al.* 1993).

Saponin dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995) dengan merusak membran-membran sitoplasma yang mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol, yang selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014). Senyawa golongan flavonoid dari golongan dari beberapa bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Mulyono 2013). Tanin memiliki aktivitas 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 tanin 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 perkursor ribonukleotida DNA (Priya 2014). Alkaloid adalah senyawa siklik yang mengandung atom hidrogen. Alkaloid bermanfaat dalam hal pengobatan karena memiliki efek fisiologis yang kuat dan selektivitas senyawa (Marek *et al.* 2007).

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan pada genus *Baccaurea* antara lain Yunus (2014) melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) yang diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% berturut-turut sebesar 0, 0,433, dan 6,40 mm, fraksi n-heksan sebesar 3,55, 6,55 dan 8,77 mm, fraksi etil asetat sebesar 16,55, 19,05 dan 22,01 mm, dan pada fraksi metanol sebesar 6,92, 9,78 dan 12,32 mm, sedangkan ekstrak metanol pada bakteri *E. coli* pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% sebesar 5,01, 7,82, dan 9,21 mm, fraksi n-heksan sebesar 8,22, 11,36 dan 13,66 mm, fraksi etil asetat sebesar 15,41, 20,25 dan 23,92 mm, dan pada fraksi metanol sebesar 9,78, 13,43 dan 15,02 mm.

Heni (2015) melaporkan bahwa aktivitas antibakteri dari kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) yang diuji terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri, fraksi etil asetat memiliki kemampuan penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus*

dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 100 mg/mL sebesar 3,51 mm, namun tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol tidak aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Sisillia (2012) melaporkan potensi ekstrak kulit batang buah rambai (*Baccaurea motleyana*) yang telah diuji secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan zona hambat masing-masing sebesar adalah 8.67, 4.10, dan 8.23 mm pada konsentrasi 50 mg/mL secara berturut-turut.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi. Pelarut yang digunakan pelarut etanol 70 %, karena pelarut etanol 70% dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia (DepKes RI 2008). Kemudian selanjutnya dilakukan dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Metode yang dilakukan pada penelitian ini yaitu metode difusi, metode difusi yang digunakan yaitu lubang atau sumuran. Cawan petri diisi media MHA (*Mueler Hilnton Agar*), untuk menginokulasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, kemudian ditunggu sampai bakteri menyerap/berdifusi pada media agar tersebut. Kemudian membuat sumuran menggunakan boorprop, memasukkan larutan uji dengan konsentrasi yang telah ditentukan ke dalam sumuran/lubang yang telah dibuat tadi, lalu menginokulasi selama 24 jam, dan diamati diameter

hambatannya. Hasil penelitian pada metode difusi akan didapatkan spesifiknya berdasar pada konsentrasi larutan uji yang dibuat. Diameter daerah hambat tergantung pada daya serap larutan uji ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004).

I. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, hipotesis dalam penelitian ini, yaitu:

Pertama, ekstrak dan fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, dapat menentukan diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, Ekstrak dan fraksi daun kepundung (*Baccaurea raceosa* Muell. Arg.) mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek individu yang menjadi sasaran penelitian dalam pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kepundung (*Baccaurea Racemosa Muell. Arg.*) yang diperoleh dari Desa Nigasan Karangpandan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2016.

2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang dijadikan sumber informasi bagi data-data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan suatu penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kepundung yang diperoleh dalam kondisi segar, berwarna hijau, tidak busuk, dan bersih.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah mencakup identifikasi dari semua sampel yaitu fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.)

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dapat menyebabkan penyakit diare.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan menjadi beberapa macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas dalam suatu penelitian yaitu sesuatu yang direncanakan untuk diteliti yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) yang diperoleh dengan cara maserasi dengan etanol 70% dan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%.

Variabel tergantung dalam suatu penelitian yaitu pusat dari persoalan yang merupakan pengaruh dalam suatu penelitian selain variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kepundung terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan dilihat zona hambat pertumbuhan bakteri.

Variabel terkendali dalam suatu penelitian yaitu sesuatu yang dianggap berpengaruh pada jalannya penelitian, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan maksimal dan dapat diteliti oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, suhu, sterilisasi, konsentrasi sampel uji, kondisi laboratorium, media, metode, dan kondisi peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kepundung (*Baccaurea Racemosa* Muell. Arg.) adalah bagian daun dari tanaman kepundung yang diambil secara acak dari desa Nigasan, Karangpandan, Tawangmangu.

Kedua, serbuk daun kepundung (*Baccaurea Racemosa* Muell. Arg.) yaitu serbuk yang diperoleh dari daun kepundung yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir dimaksudkan agar kotoran yang menempel dapat hilang, dikeringkan dengan oven suhu 50°C, selanjutnya diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun kepundung adalah hasil maserasi daun kepundung dengan menggunakan pelarut etanol 70 %.

Keempat, fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi dari residu n-heksana dengan menggunakan etil asetat.

Kelima, fraksi air adalah hasil fraksinasi dari residu etil asetat daun kepundung (*Baccaurea Racemosa* Muell. Arg.).

Keenam, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri adalah kemampuan dari daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) dalam menghambat bakteri ditentukan dengan metode difusi dengan melihat zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat maserasi, lampu spiritus, ose tangkai panjang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri steril, inkubator, boorprop, mikropipet, zonameter, dandang besar, autoclave, inkubator, kaca objek, deglass, mikroskop, beaker glass, kapas lidi steril, oven, blender, kain flanel, dan gelas ukur.

2. Bahan

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Bahan sampel yang digunakan adalah serbuk kering daun kepundung yang diambil dari desa Nigasan, Karangpandan, Tawangmangu, Jawa Tengah. Untuk ekstrak menggunakan etanol 70% .

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueler Hilnton Agar*(MHA), *Endo Agar (EA)*, *Media Brain Heart Infusion (BHI)* untuk pembuatan suspensi bakteri, *LIA*, *KIA*, *SIM*, *BHI*, *Mac Farland*, minyak atsiri, alkohol, safranin, dan larutan lugol.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, n-heksana, etil asetat, air, DMSO 1 %.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman kepundung yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibukikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Daun kepundung diperoleh dari Desa Nigasan Karangpandan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun kepundung yang digunakan adalah daun berwarna hijau segar, bersih, bebas dari penyakit, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda. Daun dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu.

3. Pengeringan bahan

Daun kepundung yang sudah dibersihkan hingga bersih, selanjutnya dirajang kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Tujuan dari pengeringan ini yaitu untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam daun tersebut, mencegah terjadinya perubahan kimiawi, reaksi enzimatik, sehingga terhindar dari pertumbuhan jamur dan bakteri yang tidak diinginkan, dan dapat memudahkan dalam proses pembuatan serbuk.

4. Pembuatan serbuk simplisia

Pembuatan serbuk simplisia merupakan proses awal dari pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu

alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Derajat kehalusan serbuk simplisia terdiri dari serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus (Kementrian RI 2013). Daun kepundung kering dihaluskan dan diayak dengan ayakan no 40.

5. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung pada penelitian ini dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk ditimbang 2 gram, dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* dengan suhu 105°C. Kemudian *moisture balance* ditutup dan ditunggu sampai ada bunyi pada alat sebagai tanda. Angka yang muncul dalam satuan persen pada alat *moisture balance* dicatat sebagai kadar kelembaban.

6. Pembuatan ekstrak etanol daun kepundung

Serbuk daun kepundung yang sudah ditimbang 500 gram dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 3750 ml pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Kemudian direndam sampai 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat yang didapatkan selama 5 hari disaring dengan kain flanel lalu dengan kertas saring. Botol gelap dibilas dengan etanol 1250 ml untuk mencuci sisa ekstrak yang tertinggal dibotol gelap. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia (Kementrian RI 2013).

7. Uji bebas etanol

Tes bebas alkohol ekstrak etanol daun kepundung dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Dimana ekstrak daun kepundung ditambahkan asam asetat pekat (CH_3COOH) dan asam sulfat pekat (H_2SO_4) kemudian dipanaskan, bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti dalam ekstrak daun kepundung sudah tidak terdapat etanol.

8. Penetapan persen rendemen

Penetapan persen rendemen dapat diperoleh dengan cara ditimbang hasil ekstrak pekat, kemudian hasil ekstrak pekat dibagi dengan berat serbuk, kemudian dikalikan 100%.

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

9. Identifikasi kandungan kimia

6.1 Identifikasi flavonoid. Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam 2 ml metanol panas 50% (v/v), kemudian masukkan serbuk magnesium dan tambahkan larutan alkohol : asam klorida dengan perbandingan 1:1 dan pelarut amil alkohol. Setelah digojog diamati apakah ada warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, hal ini menunjukkan bahwa adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut (DepKes 1989).

6.2 Identifikasi alkaloid. Sejumlah ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian ditambahkan larutan Mayer maka akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dragendorfer terbentuk endapan coklat sampai hitam, maka positif memiliki kandungan alkaloid (DepKes RI 1989).

6.3 Identifikasi tanin. Sejumlah ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dilarutkan dalam 2 mL air dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Timbulnya warna biru kehitaman dan hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Evans 2009).

6.4 Identifikasi saponin. Sejumlah ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, setelah itu didinginkan dan dikocok secara kuat selama 10 menit sehingga terbentuk buih dan tidak hilang selama 10 menit 1-10 cm yang menunjukkan adanya saponin (Evans 2009).

10. Sterilisasi

Alat-alat yang akan digunakan dan terbuat dari gelas harus disterilkan terlebih dahulu. Alat dicuci dan dikeringkan dalam oven pada suhu $170-180^\circ\text{C}$ selama 2 jam,. Alat-alat kering tersebut dibungkus dengan kertas, lalu disterilisasi dalam autoclave selama 15-30 menit pada suhu 121°C .

Media yang digunakan dalam penelitian ini juga disterilkan terlebih dahulu dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15-30 menit. Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung menggunakan lampu spiritus di dalam inkas yang sudah disterilkan dengan formalin (Suriawira 1986).

11. Pembuatan fraksi n-heksana daun kepundung secara fraksinasi

Ekstrak etanol 70% yang telah disuspensikan dengan air difraksinasi dengan pelarut n-heksana 75 ml dalam corong pisah. Filtrat yang di atas (fraksi n-heksana) dipisahkan dengan filtrat yang dibawah (fraksi air) lakukan sebanyak 3x. Fraksi n-heksana yang didapat kemudian dipekatkan.

12. Pembuatan fraksi etil asetat daun kepundung secara fraksinasi

Hasil sisa fraksinasi dengan n-heksana, difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat 75 ml dalam corong pisah. Filtrat yang di bawah (fraksi air) dipisahkan dengan filtrat yang di atas (fraksi etil asetat) dilakukan sebanyak 3 x. Fraksi etil asetat yang didapat kemudian dipekatkan.

13. Pembuatan fraksi air daun kepundung secara fraksinasi

Filtrat sisa fraksinasi dengan etil asetat adalah fraksi air. Filtrat dipekatkan dengan waterbath sampai kental.

14. Pembuatan suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah 10^8 cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

15. Identifikasi makroskopis bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Suspensi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 diinokulasi pada media differensial *Endo Agar* (EA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif dikatakan bila penampakan koloni merah dengan kilap logam yang permanen dan warna medium merah violet (Volk dan Wheller 1988).

16. Identifikasi mikroskopis bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan tujuan untuk meyakinkan bahwa bakteri tersebut benar-benar golongan *Escherichia coli* ATCC 25922. Gram negatif didapatkan apabila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli berarti positif golongan *Escherichia coli* ATCC 25922. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diambil dari media biakan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan lalu diratakan diatas *object glass*, difiksasi kemudian teteskan kristal violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada kedua preparat sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama ± 1 menit. Kemudian dicuci dengan aquadest mengalir, setelah kering tetesi mordant (*lugol's iodine* / Gram B), didiamkan selama ± 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C (alkohol) selama 30 detik. Tetesi *counterstain* (safranin / Gram D) dan didiamkan selama ± 45 detik, dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan, preparat dengan kertas tisu yang ditempelkan di sisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara (Volk dan Wheller 1988). Setelah kering minyak imersi diberikan diatas kaca preparat bakteri, kaca preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10x100 kali. *Escherichia coli* ATCC 25922 didapatkan bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacili dan susunannya menyebar.

17. Identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922 secara biokimia

Identifikasi berdasarkan uji biokimia dilakukan dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan *Citrat*.

17.1 Media SIM (*Sulfida Indol Motility*). Biakan murni diinokulasi pada permukaan media dengan cara ditusukkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini yaitu untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif jika media berwarna hitam, uji indol positif jika terbentuk warna merah setelah ditambah dengan reagen Erlich A dan B, uji motilitas positif jika terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

17.2 Media KIA (*Kliger Iron Agar*). Biakan murni bakteri diinokulasi pada media dengan cara ditusuk dan digores kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini yaitu untuk uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa) dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+).

17.3 Media LIA (*Lysine Iron Agar*). Biakan murni bakteri diinokulasi dengan cara ditusuk dan digores kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini yaitu untuk menguji lisin dan sulfida. Selanjutnya diamati bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan berwarna coklat (ditulis R), berwarna ungu

(ditulis K), berwarna kuning (ditulis A), serta terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+).

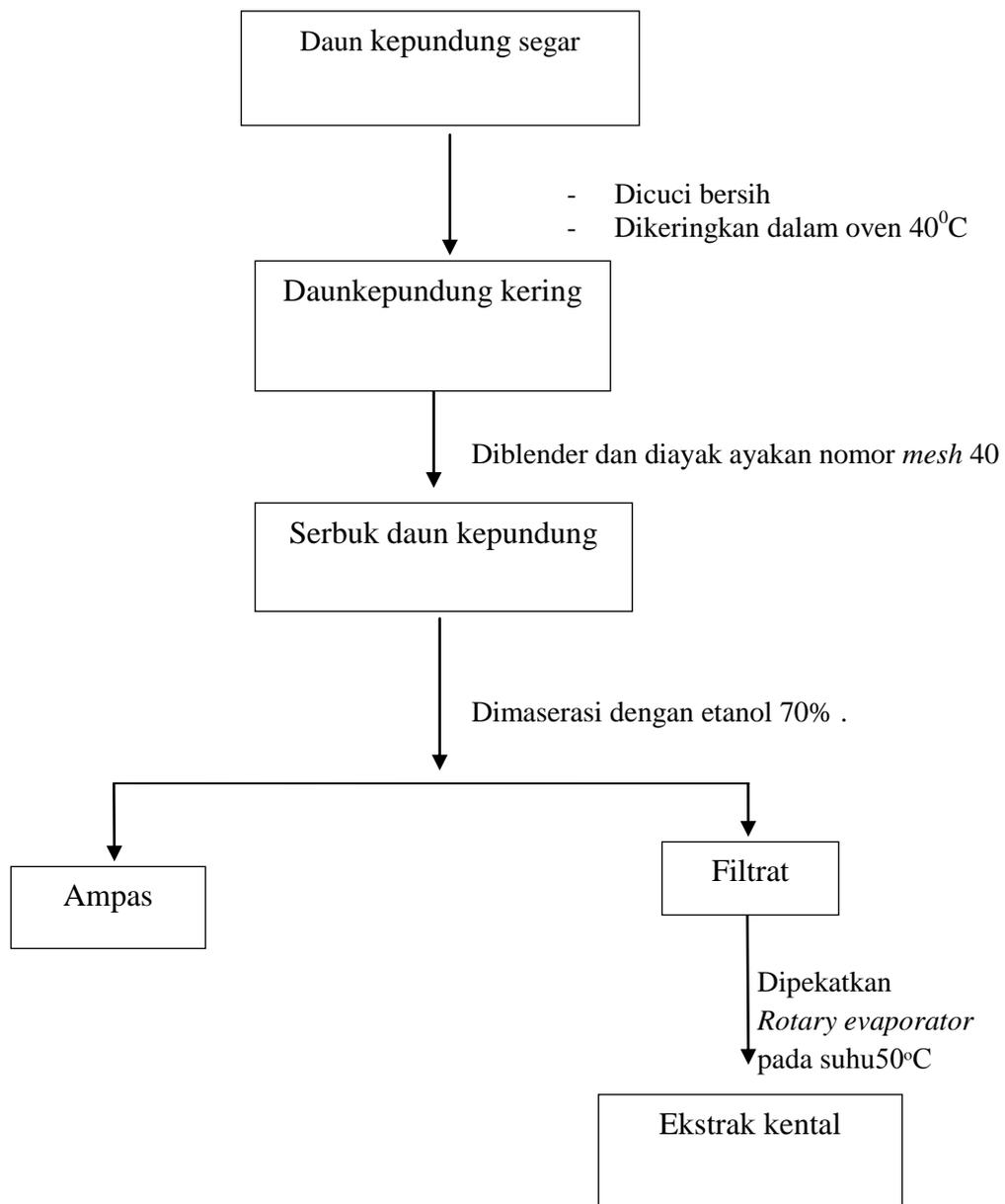
17.4 Media Citrat. Biakan murni bakteri diinokulasi dengan cara digoreskan kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari identifikasi ini yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji positif jika media berwarna biru (Jawetz *et al.* 1986).

18. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari n-heksana, etil asetat, dan air daun kepundung secara difusi

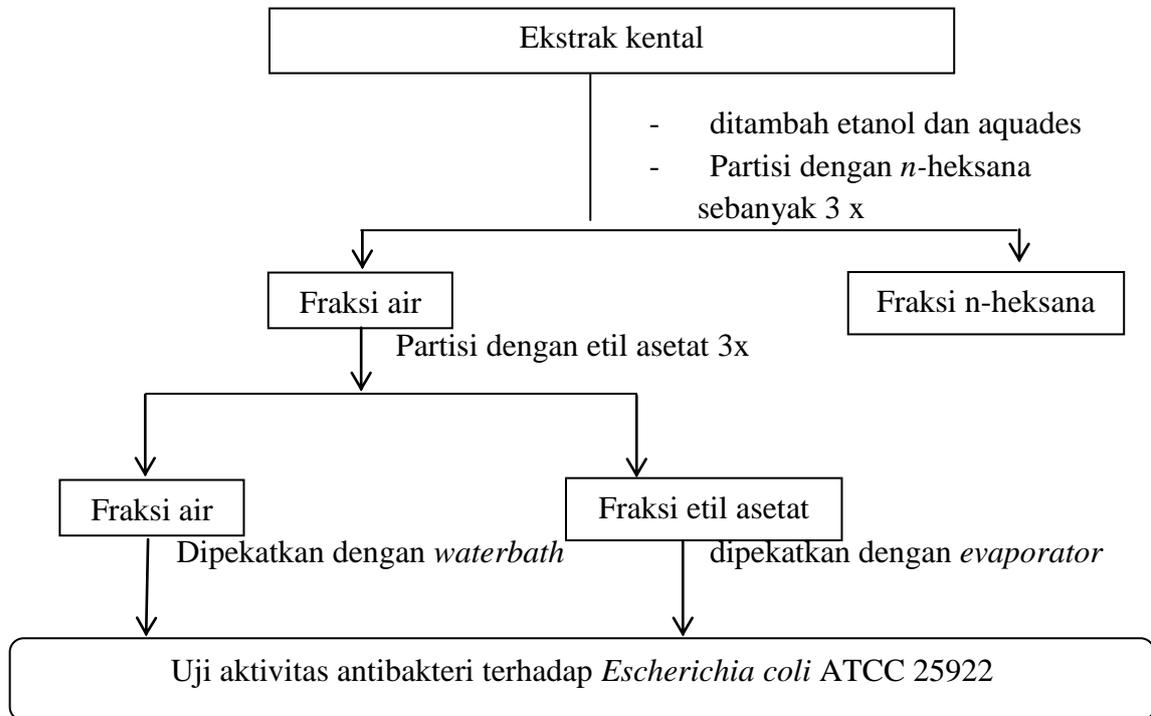
Fraksi n-heksana, etil asetat, dan air yang diperoleh dari hasil ekstrak etanol daun kepundung secara maserasi diuji mikrobiologi dengan bakteri uji *Escherichia coli*. Metode yang digunakan yaitu metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji.

Metode difusi dilakukan dengan menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA sebanyak 30 ml, kemudian menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekankan pada ujung tabung, dioleskan pada medium MHA (*Muller Hilnton Agar*) sampai rata. Kemudian dibuat sumuran menggunakan boor prop sebanyak 6 lubang sumuran. Sumuran untuk kontrol positif yaitu kotrimoksazol, kontrol negatif DMSO 1%, dan sumuran yang lain diisi ekstrak uji hasil fraksinasi n-heksana, etil asetat, dan air dengan konsenrasi 12,5%, 25%, 50%. Masa inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi

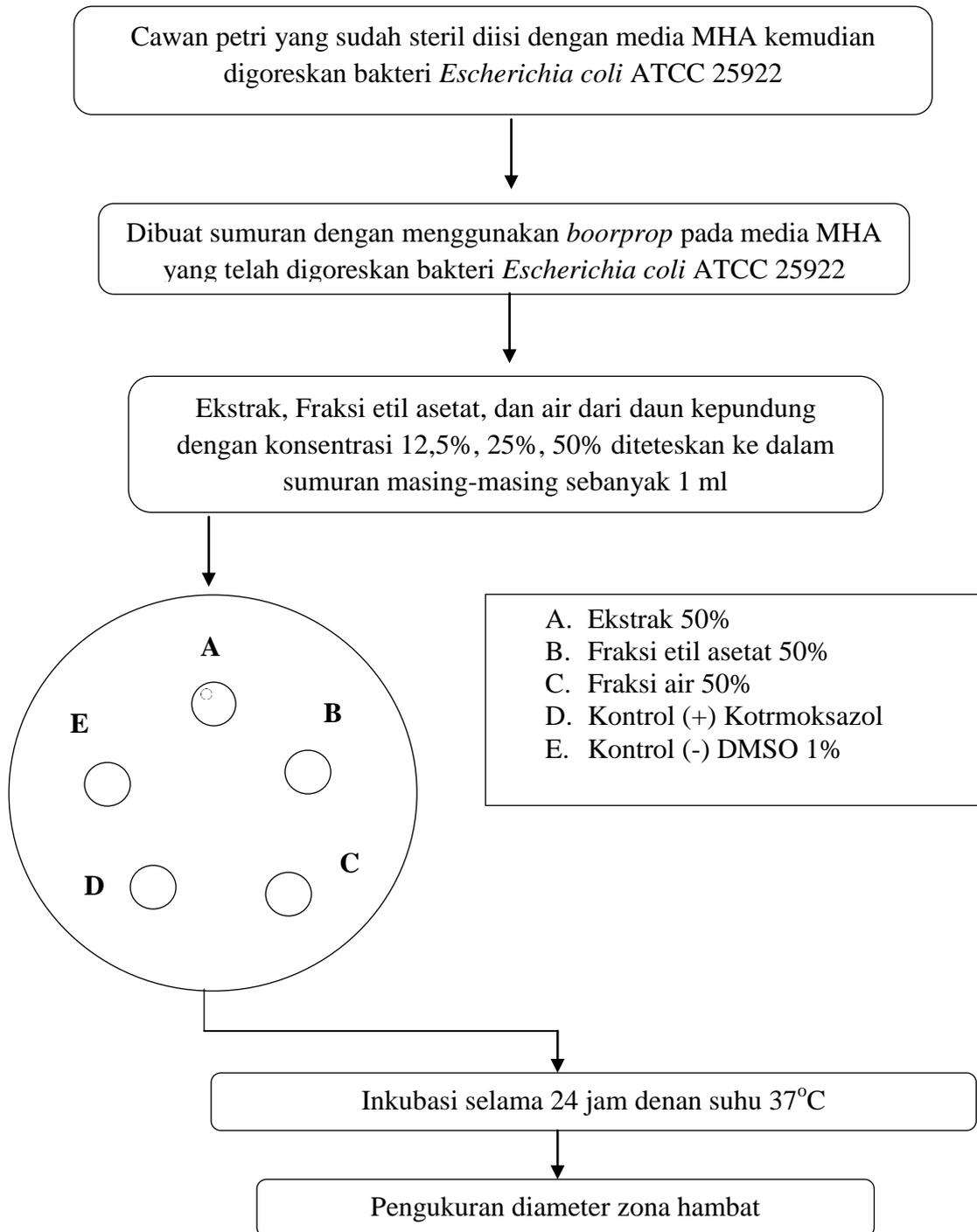
bakteri di sekitar sumuran menandakan bahwa ekstrak serta hasil fraksi daun kepundung memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* (Bonang dan Koeswardono 1982).



Gambar 2. Diagram skema pembuatan ekstrak etanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg).



Gambar 3. Diagram skema pembuatan fraksi n-heksanaa, etil asetat, dan air dari ekstrak daun kepunding (*Baccaures racemosa* Muell. Arg).



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi

E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian ini akan diperoleh daya sebar yang dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri, lalu diukur diameter zona hambatan pada masing-masing lubang atau sumuran. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *one way ANOVA*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Penyiapan Bahan Tanaman

1. Determinasi tanaman kepundung (*Baccaurea Racemosa* Muell. Arg)

Penelitian ini menggunakan daun kepundung yang diperoleh dari Desa Nigasan Karangpandan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Tanaman kepundung sebelum dilakukan untuk penelitian dideterminasi terlebih dahulu berdasarkan buku acuan Steenis (1978) yang dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diteliti dan untuk menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

Hasil determinasi tanaman kepundung berdasarkan Steenis yaitu:

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8– 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178b. familia 67. Euphorbiaceae 1b – 3b – 10b – 11a. *Baccaurea*. ***Baccaurea racemosa* M.A.**

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan dan dibandingkan dengan pustaka dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Hasil pengambilan dan pengeringan daun kepundung

Daun kepundung diambil secara acak dari Desa Nigasan Karangpandan, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun kepundung yang digunakan adalah daun berwarna hijau segar, bersih, bebas dari penyakit, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda. Daun dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu. Daun kepundung yang sudah dibersihkan hingga bersih, selanjutnya dirajang kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C. Tujuan dari pengeringan ini yaitu untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam daun tersebut, mencegah terjadinya perubahan kimiawi, reaksi enzimatik, sehingga terhindar dari pertumbuhan jamur dan bakteri yang tidak diinginkan, dan dapat memudahkan dalam proses pembuatan serbuk.

Daun kepundung yang telah kering kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan *mesh* 40. Hasil rendemen simplisia daun kepundung dapat dilihat pada Tabel 1 dan perhitungannya di Lampiran 2.

Tabel 1. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kepundung

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
9000	2800	31,1

Hasil dari bobot basah daun kepundung 9 kg didapatkan bobot kering serbuk daun kepundung 2,8 kg dengan rendemen 31,1 % b/b. Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada Lampiran 2.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung

Penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Tabel 2 di bawah ini merupakan hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung

Replikasi	Berat awal (g)	Kadar lembab (%)
1	2	8,5
2	2	8,5
3	2	9,0
Rata-rata ± SD		8,67 ± 0,30

Penetapan kadar lembab dari suatu serbuk yang akan dibuat ekstrak sangat penting karena air merupakan media tumbuhnya jamur, kapang, dan mikroorganisme lain sehingga dapat merusak simplisia tersebut. Syarat lembab yang baik dari suatu simplisia yang sudah diserbuk adalah tidak boleh lebih dari 10 %, karena kadar lembab yang terlalu tinggi dapat merusak dan mengubah komposisi kimia suatu simplisia sehingga dapat menurunkan kualitas ekstrak. Berdasarkan Tabel hasil rata-rata penetapan susut pengeringan daun kepundung adalah 8,67 %. Dapat disimpulkan bahwa serbuk daun kepundung memenuhi syarat karena prosentase kadar lembab serbuk daun kepundung kurang dari 10 %. Perhitungan hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 3.

4. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun kepundung

Serbuk daun kepundung sebanyak 700 gram dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% untuk menarik hampir semua senyawa dalam daun kepundung, baik senyawa polar, semipolar, dan nonpolar. Ekstrak cair dipisahkan menggunakan evaporator dengan suhu 50°C. Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% serbuk daun kepundung dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun kepundung

Berat serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%b/b)
700	97,1	13,87

Rendemen ekstrak daun kepundung yaitu 13,87% b/b. Organoleptis ekstrak daun kepundung yaitu berwarna coklat tua, konsistensi ekstrak kental, bau khas. Dari ekstrak tersebut kemudian dilanjutkan ke fraksinasi. Hasil perhitungan ekstrak daun kepundung dapat dilihat pada Lampiran 4.

5. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun kepundung

Ekstrak daun kepundung dilakukan tes esterifikasi etanol. Hasil dari tes tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun lada

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H ₂ SO _{4conc} +CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas	Tidak tercium bau ester yang khas

Hasil tes menunjukkan bahwa ekstrak daun kepundung bebas dari pelarutnya dengan tidak adanya bau etanol. Uji bebas etanol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui agar etanol yang terdapat dalam ekstrak daun kepundung tidak mengganggu aktivitas antibakteri yang akan dilakukan.

6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kepundung

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun kepundung dan dapat dilihat pada tabel. Daun kepundung mengandung saponin, flavonoid dan tanin, daunnya juga mengandung alkaloid (Hutapea *et al.* 1993). Identifikasi senyawa saponin menggunakan aquades panas, setelah itu didinginkan dan dikocok jika selama 10 menit terbentuk buih maka menunjukkan adanya senyawa saponin. Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan pereaksi metanol, alkohol, asam klorida, dan pelarut amil alkohol dan akan terjadi perubahan warna menjadi merah jingga sampai merah ungu. Identifikasi senyawa tanin menggunakan pereaksi FeCl₃ dan

akan terbentuk warna biru atau hijau tua. Identifikasi senyawa alkaloid menggunakan pereaksi larutan Mayer dan terbentuk endapan warna putih dan kuning.

Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kepundung

Kandungan kimia	Hasil ekstrak	Pustaka	Interpretasi data
Saponin	Terbentuk busa setelah digojog kuat selama 10 menit	Terbentuk busa setelah digojog kuat selama 10 menit (Evans 2009)	(+)
Flavonoid	Terjadi perubahan warna menjadi merah ungu	Terjadi perubahan warna menjadi merah jingga sampai merah ungu (DepKes RI 1980)	(+)
Tanin	Terbentuknya warna hijau kehitaman	Timbulnya warna biru kehitaman dan hijau kehitaman (Evans 2009)	(+)
Alkaloid	Terbentuk endapan warna coklat sampai hitam	Terbentuk endapan warna coklat sampai hitam (DepKes RI 1989)	(+)

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

Hasil Tabel 5 menunjukkan identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun kepundung dengan menggunakan tabung reaksi. Positif mengandung saponin karena hasil berbentuk busa selama 10 menit setinggi 1-3 cm, positif mengandung flavonoid karena terbentuk warna merah keunguan, positif mengandung tanin karena ditunjukkan adanya warna hijau kehitaman, positif mengandung alkaloid karena terbentuk endapan putih sampai kuning. Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kepundung positif mengandung senyawa saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada Lampiran 11.

7. Fraksinasi

Ekstrak daun kepundung yang diperoleh kemudian dilanjutkan ke fraksinasi untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan polaritas. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi yaitu *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar, etil asetat merupakan pelarut semipolar, sedangkan air bersifat polar. Rendemen hasil fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dapat dilihat di Tabel 6.

Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen % (^b / _b)
<i>n</i> -heksana	27	0	0
etil asetat	27	0,30	1,11
air	27	16,85	62,4

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat bahwa prosentase rendemen fraksinasi fraksi *n*-heksan daun kepundung didapatkan prosentase 0%, hal ini disebabkan dalam ekstrak daun kepundung tidak menyari senyawa bersifat nonpolar atau pada saat pengeringan suhunya tidak stabil, sehingga ada senyawa yang hilang. Rendemen fraksi etil asetat 1,11%, dan rendemen pada fraksi air 62,4%. Hal ini menunjukkan bahwa daun kepundung paling banyak mengandung senyawa polar daripada semipolar. Rendemen dari masing-masing fraksi berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung sesuai kepolarannya berbeda-beda.

Organoleptis fraksi *n*-heksana yaitu berwarna putih, cair. Organoleptis fraksi etil asetat yaitu berwarna kuning, cair. Organoleptis fraksi air yaitu berwarna coklat tua, kental. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 5.

B. Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

1. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengambilan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kemudian kekeruhannya distandarkan dengan Mc. Farland 0,5 yaitu setara dengan 10^8 CFU/ml bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Tujuan distandarkannya dengan Mc. Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

2. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

2.1 Hasil identifikasi makroskopis. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan cara bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diinokulasi pada media *Endo Agar* yang kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam dan menunjukkan hasil warna kilat logam yang membentuk sebuah koloni. Tujuan dari inokulasi yaitu untuk menumbuhkan bakteri uji yang diambil dari sediaan murni, sehingga dapat teramati koloni maupun warna spesifik dari bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil identifikasi bakteri uji dengan cara makroskopis dapat dilihat pada Lampiran 14.

2.2 Hasil identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 termasuk bakteri golongan Gram negatif. Gram negatif ditandai apabila dalam pengamatan menggunakan mikroskop ditemukan sel bakteri berwarna merah dan berbentuk bacilli. Penetesan kristal Violet (Gram A) dapat

menyebabkan kristal ungu yang akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Penetesan mordant (lugol iodine/Gram B) dapat menyebabkan terbentuknya ikatan dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh sel-sel bakteri, seluruh bakteri baik gram positif maupun gram negatif akan berwarna biru. Penetesan gram C yang berisi alkohol 96% dapat menyebabkan terbentuknya pori-pori pada Gram negatif yang dimana gram negatif memiliki banyak lapisan lemak yang larut dalam etanol, sehingga kompleks kristal violet-iodine tidak menempel pada dinding sel bakteri, hal ini dapat menyebabkan sel Gram negatif akan kehilangan warna birunya. Penetesan safranin (Gram D) dapat menyebabkan sel bakteri Gram negatif menjadi warna merah. Hasil indentifikasi mikroskopis bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pengecatan Gram dapat dilihat pada Lampiran 14.

2.3 Hasil identifikasi biokimia. Uji biokimia bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya. Medium yang digunakan dalam identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu: *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kliger's Iron Agar* (KIA), *Lysin Iron Agar* (LIA), dan citrat. Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Identifikasi uji biokimia pada *Escherichia coli* ATCC 25922

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	+++	+++
KIA	A/AG S(-)	A/AG S(-)
LIA	K/K S(-)	K/K S(-)
CITRAT	-	-

Keterangan :

SIM : *Sulfida Indol Motility*

KIA : *Kliger's Iron Agar*

LIA : *Lysin Iron Agar*

+ : Reaksi positif

- : Reaksi negatif

A : Kuning

K : Merah atau ungu

S : Hitam

G : Gas

Pengujian pada medium *Sulfide Indol Motilitas* (SIM) yang dilakukan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Hasil dari pengujian SIM yang sebelumnya telah diinkubasi 24 jam dengan suhu 37°C menunjukkan hasil -++. Uji sulfida negatif karena bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfida oleh itu media tidak berwarna hitam. Uji indol dengan menambahkan 3 tetes Erlich A dan Erlich B menunjukkan hasil positif yang ditandai terbentuknya warna merah muda pada permukaan media, hal ini disebabkan karena bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 membentuk indol dari tryptofan sebagai sumber karbon, dimana tryptofan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami reaksi oksidasi dengan cara kegiatan enzimatik. Uji motilitas diperoleh hasil positif, ditunjukkan dengan adanya penyebaran pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media SIM yang ditandai adanya penyebaran berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi, hal ini menunjukkan adanya pergerakan bakteri.

Pengujian pada medium *Kliger Iron Agar* (KIA) yang dilakukan untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian KIA dilakukan dengan menanam bakteri pada media KIA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C memperoleh hasil A/AGS(-). A/A artinya pada lereng dan dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. Perubahan warna media menjadi kuning disebabkan oleh aktivitas fermentasi bakteri yang dapat mengubah pH media menjadi asam dimana indikator yang digunakan adalah *phenol red* (dalam suasana asam). G artinya

terdapat gas dalam media sehingga menyebabkan media terangkat, S(-) artinya uji hidrogen sulfida negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media, hal ini terjadi karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S) yang akan bereaksi dengan Fe^{++} . Medium *Kliger's Iron Agar* (KIA) laktosa 1%, glukosa 0,1%, dan *phenol red* sebagai indikator yang dapat menyebabkan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. KIA juga mengandung thiosulfat yaitu substrat untuk penghasil H_2S .

Pengujian pada medium *Lisin Iron Agar* (LIA) yang dilakukan untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian LIA dilakukan dengan menanam bakteri pada media LIA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$ memperoleh hasil K/KS(-). K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) di seluruh media, S(-) artinya uji H_2S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media *Lisin Iron Agar* (LIA).

Pengujian pada medium Citrat yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian citrat dilakukan dengan menanam bakteri pada media citrat kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$ memperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna sehingga media tetap berwarna hijau. Hal ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* ATCC 25922 tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Di dalam medium Citrat terdapat indikator BTB

(*Bromo Thymol Blue*) yang merupakan indikator pH, jika suatu bakteri mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan dan menyebabkan suasana basa, hal ini menyebabkan peningkatan pH sehingga mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Berdasarkan hasil uji biokimia yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada Lampiran 14.

3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun kepundung terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi *n*-heksana tidak digunakan pada pengujian antibakteri karena fraksi *n*-heksana memiliki rendemen 0%. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kotrimoksazol, karena bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang termasuk bakteri gram negatif peka terhadap kombinasi trimetropim dan sulfametaksazol. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu DMSO 1%, karena digunakan sebagai pelarut bahan uji untuk uji aktivitas antibakteri. DMSO digunakan pada konsentrasi 1% karena jika digunakan pada konsentrasi lebih dari 1% akan memberikan aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri daun kepundung dilakukan dengan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dengan pembanding kontrol positif kotrimoksazol 0,16% dan kontrol negatif DMSO 1%. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun kepundung, dan antibiotik sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 8.

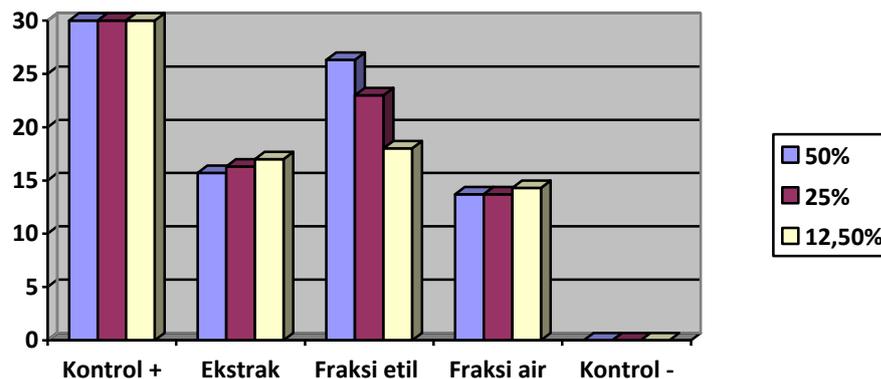
Tabel 8. Aktivitas antibakteri daun kepundung terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Bahan uji	Konsentrasi	Diameter Daya Hambat			
		Replikasi			Rata-rata ±SD
		1	2	3	
Ekstrak	50%	15	17	15	15,7 ± 1,15
	25%	15	10	24	16,3 ± 7,09
	12,5%	10	19	22	17,0 ± 6,24
Fraksi etil asetat	50%	29	25	25	26,3 ± 2,31
	25%	28	20	21	23,0 ± 4,35
	12,5%	21	15	18	18,0 ± 3,00
Fraksi air	50%	9	16	16	13,7 ± 4,04
	25%	17	14	10	13,7 ± 3,51
	12,5%	12	14	17	14,3 ± 2,51
Kontrol + (Kotrimoksazol)	0,16%	30	30	30	30± 0
Kontrol - (DMSO1%)	-	0	0	0	0

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat adanya area bening pada media MHA, dimana hasil yang didapat yaitu ekstrak dengan rata-rata 15,7 mm pada konsentrasi 50%, 16,3 mm pada konsentrasi 25%, 17,0 mm pada konsentrasi 12,5%. Fraksi etil asetat dengan rata-rata 26,3 mm pada konsentrasi 50%, 23,0 mm pada konsentrasi 25%, dan 18,0 mm pada konsentrasi 12,5%. Fraksi air dengan rata-rata 13,7 mm pada konsentrasi 50%, 13,7 mm pada konsentrasi 25%, dan 14,3 mm pada konsentrasi 12,5%. Dari hasil tersebut pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dari masing-masing perlakuan berbeda-beda. Ekstrak pada konsentrasi 50% memiliki rata-rata paling kecil karena pada konsentrasi 50% terlalu kental sehingga sampel sulit berdifusi pada lempeng agar. Fraksi etil asetat memiliki rata-rata zona hambat yang paling tinggi sehingga fraksi etil asetat dari daun kepundung merupakan

fraksi teraktif. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil rata-rata ekstrak, fraksi etil, dan fraksi air, dapat dilihat pada histogram.

4. Histogram hasil uji aktivitas antibakteri



Gambar 5. Histogram rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri

Berdasarkan histogram diatas, ekstrak, fraksi etil, dan fraksi air mempunyai aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Fraksi etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri paling besar dibanding ekstrak dan fraksi air. Hasil dari fraksi etil hampir setara dengan kontrol positif.

Hasil uji aktivitas antibakteri kemudian di analisis menggunakan statistik. Analisa menggunakan *One Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $(0,812) > 0,05$, artinya data terdistribusi normal. Analisis dilanjutkan dengan *ONEWAY ANOVA* diperoleh signifikansi $(0,00) < 0,05$ sehingga dapat dinyatakan ada beda nyata dalam setiap perlakuan. Kemudian analisis dilanjutkan dengan Post Hoc Test Tuckey dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil uji pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Ekstrak, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Dimana fraksi etil asetat dapat menghambat bakteri *Escherichia*

coli ATCC 25922 paling baik dan hampir setara dengan kontrol positif. Daya hambatan pada fraksi etil asetat dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid dan saponin.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari daun kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

Pertama, hasil dari ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun kepundung memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kedua, diameter zona hambat aktivitas antibakteri hasil ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun kepundung pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% terhadap bakteri *Escherichia coli* secara berturut-turut adalah 15,7 mm; 16,3 mm; 17,0 mm; sedangkan pada fraksi etil asetat 26,3 mm; 23,0 mm; 18,0 mm; dan pada fraksi air 13,7 mm; 13,7 mm; 14,3 mm.

Ketiga, fraksi etil asetat daun kepundung mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap bakteri *Escherichia coli*.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan metode dilusi.

Kedua, perlu dilakukan penelitian dengan metode difusi menggunakan konsentrasi kurang dari 12,5 %.

Ketiga, perlu dilakukan uji aktivitas dengan metode penyarian yang lain yaitu refluks, perkolasi, dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Indonesia. Jakarta.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia 605-608, 618-619.
- Antika W. Gustina I. Irdawati. 2014. Uji daya hambat ekstrak daun bunga tanjung (*Mimuspos elengi L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* [Skripsi]. Padang: Program Studi Pendidikan Biologi Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan (STKIP) PGRI.
- Bonang G., Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bonang G., Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: DepKes RI. Hlm.11.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara pembuatan simplisia*. Jakarta: DepKes RI.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm3-11.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: DepKes RI. Hlm X.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: DepKes RI. Hlm.57-58.
- Djide dan Sartini. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makasar: Lephass.
- Evans CW. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans 16th* Ed. London: Saunders Elsevier. Pages: 263, 356.
- Ganiswara SE., 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Bagian Farmakologi. Universitas Indonesia

- Gillespie SH, Bamford KB. 2008. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi Ketiga. Astikawati R., Safitri A. Editor. Jakarta: Erlangga
- Green J. 2005. *Terapi Herbal Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri*. Jakarta: Prestasi Pustaka Raya. Hlm. 31-33.
- Gunawan D dan Mulyani S, 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm. 664-714.
- Hadioetomo RS. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktik Teknik dan Prosedur Dasar Laoratoirum*. Jakarta: PT. Gramedia. 42-44
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P., Iwang S. Penerjemah; Sofia N., Editor. Bandung : ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*.
- Harmita 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Hutapea, dkk.1993. *Inventaris tanaman obat indonesia (II)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi kesehatan*. Surakarta: UNS Press. Hlm. 35.
- Jawetz E. Melbick JL. Adelberg FA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Nugroho AW dkk, penerjemah; Adityaputri A dkk, Editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E. Melbick JL. Adelberg FA.1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Edisi XVII, 368-384
- Jawetz E. Melnick JL. 2012. *Medical Microbiologi*, 26rd. Ed. Elferia Nr, Penerjemah. Jakarta.
- Jutono, Judoro S, Hartadi S. 1972. *Dasar-dasar Mikrobiologi Untuk Perguruan Tinggi*. Yogyakarta: Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada.
- Kementrian RI. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Kementrian Kesehatan RI.
- Kirana Raharja. 2003. *Obat-obat Penting dan Efek Samping*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri. Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya Kediri.

- Maksum R. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm:125-129.
- Marek R. Lenka G. Jiri D. 2007. *Quaternary Protoberberine Alkaloids Phytochemistry* 68: 150-175.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7:361-367.
- Nurainy F., Rizal S., Yudiantoro. 2008. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 13:117-125.
- Permatasari D, Pitopang R, Anam S, Ivan. 2015. Uji daya hambat ekstrak batang tumbuhan *Harrisonia Perforata Merr.* terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella Dysenteriae*. *Biocelebes* 9:1-7.
- Priya P. 2014. Antioxidant and antibacterial properties of manilkara zapota (L.) royen flower. *International journal of pharmaceutical and clinical research* 2014.
- Putri WS., Warditiani NK., Larasanty LPF. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) [Skripsi]. Bali: Universitas Udayana. hlm 56-60.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padwamita penerjemah. Bandung: penerbit ITB. Hlm 191-218. Terjemahan dari *Organic Ingredients Plant High Level*.
- Rostinawati T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar [penelitian mandiri]. Jatinagor: Fakultas Farmasi Universitas Pajajaran.
- Songer. Post KW. 2005. *Veterinary Microbiology Bacterial & Fungal Agents of Animal Disease*. New York
- Supriadi *et al.* 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Suriawiria U. 1986. *Pengantar Biologi Umum*. Bandung: angkasa. Hlm 65.
- Syamsuni HA. 2007. *Ilmu Resep*. Elviana E, Syarief RW, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.

- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extractoin. *Internationale Pharmaceutica Sciecia* 1:98-106.
- Tjay dan Raharja. 2002. *Obat-obat Penting*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Volk WA dan Wheeler MF.1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal 331-335.
- Wardhani LK dan Sulistyani N. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2:1-16.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi daun kepundung



UPT- LABORATORIUM

No : 045/DET/UPT-LAB/20/IV/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Hastungkara Shinta M
NIM : 18123674 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kepundung (*Baccaurea racemosa* M.A.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8 – 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178b. familia 67. Euphorbiaceae
1b – 3b – 10b – 11a. *Baccaurea*. ***Baccaurea racemosa* M.A.**

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 15 – 25 m.

Batang : Tegak, berkayu, bulat, kasar, putih kecoklatan.

Daun : Tunggal, tersebar, oval sampai bulat telur terbalik memanjang, ujung tumpul meruncing, pangkal tumpul sampai membulat, tepi bergerigi, panjang 7 – 9,2 cm, lebar 4,2 – 6,2 cm.

Bunga : Dalam bentuk tandan, kuning muda, seperti ada pati, berasal dari cabang tua. Bunga jantan kecil, tiap kali 3 terkumpul pada anak tangkai yang beruas, tenda bunga berbagi 4 – 5, benang sari 4 – 8. Bungabetina lebih besar, berdiri sendiri sepanjang sumbu tandan, tenda bunga berdaun 5, bakal buah bentuk bola, kepala putik 3 atau 4, duduk, pendek, lebar, berlekuk 2, terbagi dalam banyak taju.

Buah : Bulat elliptis, tidak membuka, panjang 2 – 2,5 cm, hijau kekuningan, dalam tandan menggantung, dinding biji dengan lapisan luar yang berdaging, dapat dimakan.

Akar : Tunggang.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.



Surakarta, 20 April 2016
Tim determinasi

Dra. Kartimah Wirjosentjojo, SU.

Lampiran 2. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun kepundung

Simplisia	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen % ($\frac{b}{B}$)
Daun kepundung	9000	2800	31,1

Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$= \frac{2800}{9000} \times 100\%$$

$$= 31,1 \%$$

Lampiran 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kepundung menggunakan alat *moisture balance*

No	Berat awal (g)	Kadar air (%)
1	2	8,5
2	2	8,5
3	2	9
Rata-rata ± SD		8,67 ± 0,30

$$\text{Susut pengeringan serbuk daun kepundung} = \frac{8,5+8,5+9}{3} \times 100\% = 8,67 \%$$

Lampiran 4. Penetapan prosentase rendemen ekstrak etanol 70% daun kepungung

Berat serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%b/b)
700	97,1	13,87

$$\begin{aligned}\% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak (gr)}}{\text{bobot serbuk (mg)}} \times 100\% \\ &= \frac{97,1}{700} \times 100\% \\ &= 13,87 \% \text{ } ^b/b\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun kepungung

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (^b / _b)
<i>n</i> -heksana	27	0	0
etil asetat	27	0,3	1,11
air	27	16,85	62,4

5.1 Fraksi *n*-hexan= bobot – bobot wadah kosong

$$= 123,0 - 123,0$$

$$= 0$$

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

$$= \frac{0}{27} \times 100\%$$

$$= 0 \%$$

5.2 Fraksi etil asetat = bobot – bobot wadah kosong

$$= 123,3 - 123,0$$

$$= 0,3$$

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

$$= \frac{0,3}{27} \times 100\%$$

$$= 1,11 \%$$

5.3 Fraksi air 1 = bobot – bobot wadah kosong

$$= 134,44 - 126,0$$

$$= 10,44 \text{ gram}$$

Fraksi air 2 = bobot – bobot wadah kosong

$$= 129,41 - 123,0$$

$$= 6,41 \text{ gram}$$

Total fraksi air = 10,44 + 6,41

$$= 16,85 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{16,85}{27} \times 100\%$$

$$= 62,4 \%$$

Lampiran 6. Pembuatan larutan DMSO 1%

$$\text{DMSO } 1 \% = V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml} \times 1 \%$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \times 1\%}{100 \%}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

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

Mengambil 1 ml DMSO, dilarutkan dalam 100 ml aquadest.

Lampiran 7. Pembuatan larutan uji ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% secara difusi.

7.1 Ekstrak kental

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 50 % ^{b/v}pada ekstrak kental daun kepundung sebanyak 2 ml

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

Menimbang 1 gram ekstrak kental kemudian dilarutkan dalam 2 ml DMSO 1% dengan pipet volume.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 25 % ^{b/v}sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 50 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 12,5 % ^{b/v} sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 25 = V_2 \times 12,5$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 25 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

7.2 Fraksi etil asetat

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 50 % ^{b/v}pada fraksi etil asetat sebanyak 2 ml

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

Menimbang 1 gram fraksi etil asetat kemudian dilarutkan dalam 2 ml DMSO 1% dengan pipet volume.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 25 % ^{b/v}sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 50 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 12,5 % ^{b/v} sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 25 = V_2 \times 12,5$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 25 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

7.3 Fraksi air

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 50 % ^{b/v}pada fraksi air sebanyak 2 ml

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

$$= \frac{1 \text{ gram}}{2 \text{ ml}}$$

Menimbang 1 gram ekstrak kental kemudian dilarutkan dalam 2 ml DMSO 1% dengan pipet volume.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 25 % ^b/_v sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 50 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

- Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 12,5 % ^b/_v sebanyak 2 ml

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \times 25 = V_2 \times 12,5$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml}$$

Mengambil 1 ml larutan uji dari konsentrasi 25 % kemudian dilarutkan dengan DMSO 1 % ad 2 ml.

Lampiran 8. Perhitungan antibiotik kotrimoksazol

Pada penelitian ini menggunakan suspensi kotrimoksazol, dalam 5 ml mengandung 240 mg kotrimoksazol.

Konsentrasi kotrimoksazol = $240 \text{ mg} / 5 \text{ ml} = 48 \text{ mg/ml}$

$$= \frac{48 \text{ mg/ml}}{1000}$$

$$= 48 \times 10^{-3} \text{ g/100ml}$$

$$= 4,8 \%$$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 4,8 \% = 30 \text{ ml} \times C_2$$

$$C_2 = \frac{1 \text{ ml} \times 4,8\%}{30 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 0,16 \%$$

Lampiran 9. Foto tanaman kepundung, serbuk, dan ekstrak



Tanaman kepundung



Serbuk daun kepundung



Ekstrak daun kepundung

Lampiran 10. Foto alat-alat yang digunakan



Moisture balance



Alat timbang analisa



Evaporator



Inkubator



Oven

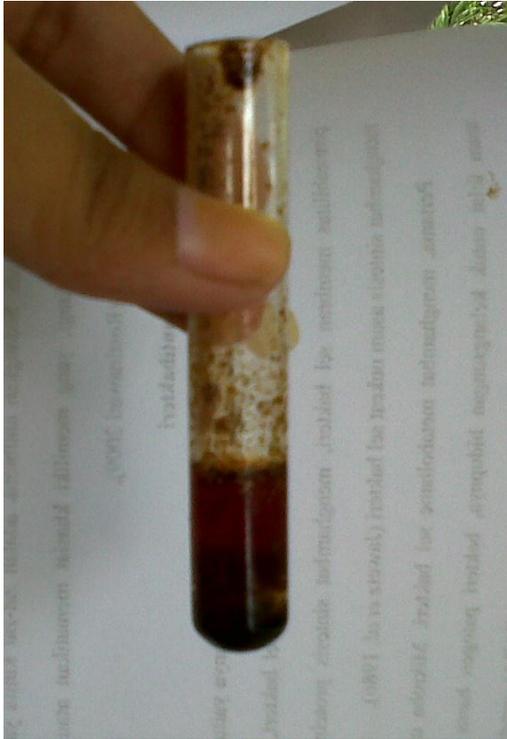


Botol maserasi



Autoklave

Lampiran 11. Foto identifikasi senyawa pada ekstrak daun



Flavonoid



Tanin



Alkaloid



Saponin

Lampiran 12. Foto fraksinasi daun kepunding



Fraksi *n*-hexan dan air



Fraksi etil asetat dan air

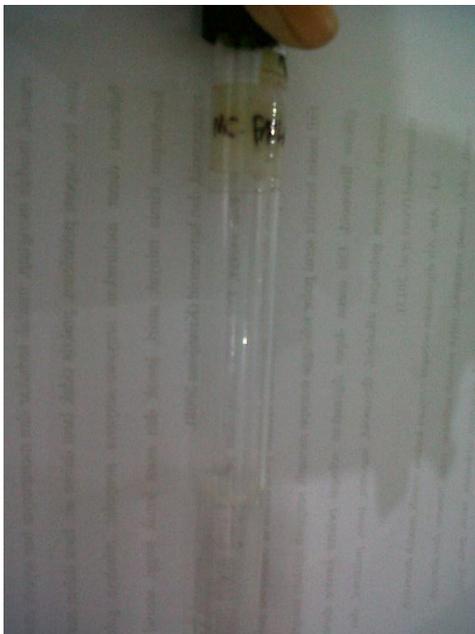


Hasil fraksinasi

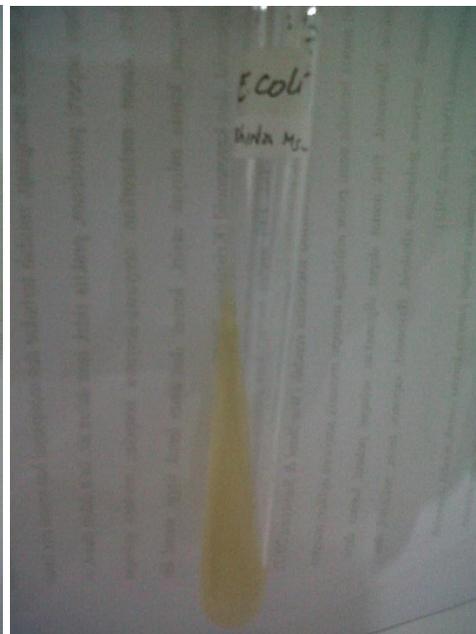
Lampiran 13. Foto biakan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, Mc. Farland, dan suspensi bakteri



Suspensi bakteri

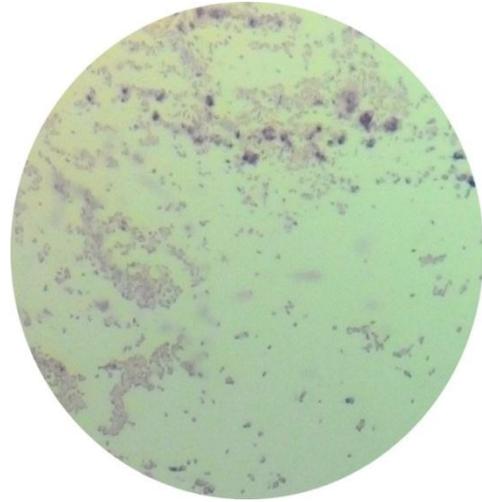
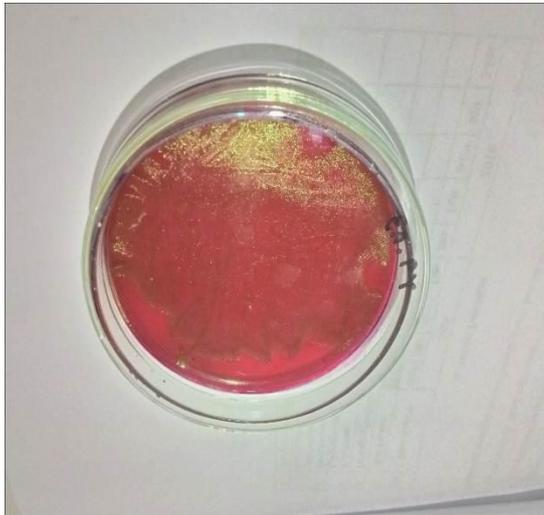


Mc. Farland

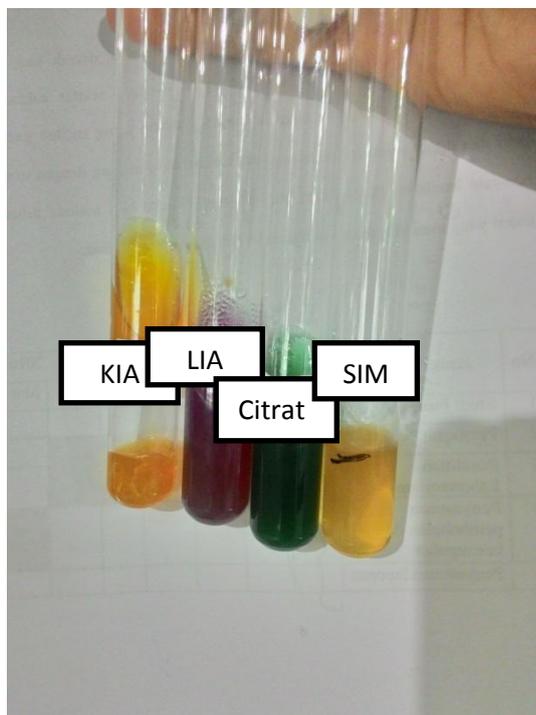


Biakan bakteri

Lampiran 14. Foto identifikasi bakteri *Escherichia coli* secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia



Makroskopis dalam *Endo agar*
Mikroskopis



Uji Biokimia

Lampiran 15. Foto hasil uji aktivitas antibakteri daun kepundung terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi

<p>Konsentrasi 50%</p> <p>Keterangan 1 : Fraksi air 2 : Ekstrak 3 : Kontrol positif 4:Kontrol negatif</p>	<p>Replikasi pertama</p>
<p>Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Fraksi air 3 : Kontrol positif 4:Kontrol negatif</p>	<p>Replikasi kedua</p>
<p>Keterangan 1 : Kontrol positif 2 : Ekstrak 3 : Kontrol positif 4:Fraksi air</p>	<p>Replikasi ketiga</p>
<p>Konsentrasi 25%</p> <p>Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Kontrol positif 3 : Kontrol negatif 4:Fraksi air</p>	<p>Replikasi pertama</p>
<p>Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Kontrol positif 3 : Kontrol negatif 4:Fraksi air</p>	<p>Replikasi kedua</p>
<p>Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Kontrol negatif 3 : Kontrol positif 4:Fraksi air</p>	<p>Replikasi ketiga</p>

Konsentrasi 12,5% Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Fraksi air 3 : Kontrol negatif 4:Kontrol positif	Replikasi pertama
Keterangan 1 : Ekstrak 2 : Fraksi air 3 : Kontrol negatif 4:Kontrol positif	Replikasi kedua
Keterangan 1 : Fraksi air 2 : Kontrol negatif 3 : Ekstrak 4:Kontrol positif	Replikasi ketiga
Fraksi etil asetat	Replikasi pertama
Fraksi etil asetat	Replikasi kedua
Fraksi etil asetat	Replikasi ketiga

Lampiran 16. Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
aquadest ad	1000 ml

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf padasuhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

b. Formulasi dan pembuatan *Endo Agar* (EA)

Peptone for meat	10,0 gram
di potassium hydrogen fosfat	3,5 gram
Laktosa	10,0 gram
Sodium sulfit	2,5 gram
Fuchsin	0,4 gram
Agar-agar	12,5 gram
pH 7,4	

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudia disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

c. Formulasi dan pembuatan *Moeler Hintlon Agar* (MHA)

Beef, dehidrated infusion	300 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Strach	1,5 gram
Agar-agar	17 gram

Suspensikan 38 gram bahan di atas dalam 1 liter aquadest, panaskan sampai larut sempurna. Sterilisasi pada autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan *Sulfida Indol Motility* (SIM)

Pepton from casein	20 gram
Pepton from meat	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	0,2 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH 7,4

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,5.

e. Formulasi dan pembuatan *Kliger Iron Agar*(KIA)

Peptone from casein	15 gram
Peptone from meat	5 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Meat extract	3 gram
Yeast extract	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Laktosa	10 gram
Glukosa	1 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar-agar	12 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH 7,4

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkn dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

f. Formulasi dan pembuatan *Lysine Iron Agar* (LIA)

Pepton from casein	5 gram
Yeast extract	3 gram
Glukosa	1 gram
Lysin monohydrochloride	10 gram
Sodium thiosulfate	0,04 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Bromo cresol purple	0,02 gram
Agar-agar	12,5 gram
Aquadest	ad 1000 ml, pH 7,4

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

g. Formulasi dan pembuatan Citrat agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 gram
di-potassium hydrogen fosfate	1 gram
sodium chloride	5 gram
magnesium sulfat	0,2 gram
bromo thymol blue	0,08 gram

agar-agar
aquadest

12,5 gram
ad 1000 ml, pH 7,4

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

Lampiran 17. Hasil analisa statistik data zona hambatan

Bahan uji	Konsentrasi	Daya hambat			Rata-rata \pm SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	15	17	15	15,7 \pm 1,15
	25%	15	10	24	16,3 \pm 7,09
	12,5%	10	19	22	17,0 \pm 6,24
Fraksi etil asetat	50%	29	25	25	26,3 \pm 2,31
	25%	28	20	21	23,0 \pm 4,35
	12,5%	21	15	18	18,0 \pm 3,00

Fraksi air	50%	9	16	16	13,7 ± 4,04
	25%	17	14	10	13,7 ± 3,51
	12,5%	12	14	17	14,3 ± 2,51
Kontrol + (Kotrimoksazol)	0,16%	30	30	30	30± 0
Kontrol - (DMSO1%)	-	0	0	0	0

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dayahambat	33	17,091	8,2134	,0	30,0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayahambat
N		33
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	17,091
	Std. Deviation	8,2134
Most Extreme Differences	Absolute	,111

	Positive	,080
	Negative	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,637
Asymp. Sig. (2-tailed)		,812

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

Hasil: nilai sig (0,812) > 0,05 artinya **data terdistribusi normal**

Oneway

Descriptives

Dayahambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol +	3	30,000	,0000	,0000	30,000	30,000	30,0	30,0
kontrol -	3	,000	,0000	,0000	,000	,000	,0	,0
ekstrak 50%	3	15,667	1,1547	,6667	12,798	18,535	15,0	17,0
ekstrak 25%	3	16,333	7,0946	4,0961	-1,291	33,957	10,0	24,0
ekstrak 12,5%	3	17,000	6,2450	3,6056	1,487	32,513	10,0	22,0
fraksi air 50%	3	13,667	4,0415	2,3333	3,627	23,706	9,0	16,0

fraksi air 25%	3	13,667	3,5119	2,0276	4,943	22,391	10,0	17,0
fraksi air 12,5%	3	14,333	2,5166	1,4530	8,082	20,585	12,0	17,0
fraksi etil 50%	3	26,333	2,3094	1,3333	20,596	32,070	25,0	29,0
fraksi etil 25%	3	23,000	4,3589	2,5166	12,172	33,828	20,0	28,0
fraksi etil 12,5%	3	18,000	3,0000	1,7321	10,548	25,452	15,0	21,0
Total	33	17,091	8,2134	1,4298	14,179	20,003	,0	30,0

Test of Homogeneity of Variances

Dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,095	10	22	,013

Hasil: nilai sig (0,013) < 0,05 artinya **varian data tidak homogen**

ANOVA

Dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1840,727	10	184,073	12,735	,000
Within Groups	318,000	22	14,455		
Total	2158,727	32			

Hasil: nilai sig (0,00) < 0,05 artinya **daya hambat menggunakan uji ANOVA berbeda signifikan**

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayahambat

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T u k e y H S D	Kontrol + kontrol -	30,0000 ⁺	3,1042	,000	18,903	41,097
	ekstrak 50%	14,3333 ⁺	3,1042	,005	3,236	25,430
	ekstrak 25%	13,6667 ⁺	3,1042	,008	2,570	24,764
	ekstrak 12,5%	13,0000 ⁺	3,1042	,013	1,903	24,097
	fraksi air 50%	16,3333 ⁺	3,1042	,001	5,236	27,430
	fraksi air 25%	16,3333 ⁺	3,1042	,001	5,236	27,430
	fraksi air 12,5%	15,6667 ⁺	3,1042	,002	4,570	26,764
	fraksi etil 50%	3,6667	3,1042	,978	-7,430	14,764
	fraksi etil 25%	7,0000	3,1042	,494	-4,097	18,097
	fraksi etil 12,5%	12,0000 ⁺	3,1042	,027	,903	23,097
kontrol -	Kontrol +	-30,0000 ⁺	3,1042	,000	-41,097	-18,903
	ekstrak 50%	-15,6667 ⁺	3,1042	,002	-26,764	-4,570
	ekstrak 25%	-16,3333 ⁺	3,1042	,001	-27,430	-5,236
	ekstrak 12,5%	-17,0000 ⁺	3,1042	,001	-28,097	-5,903
	fraksi air 50%	-13,6667 ⁺	3,1042	,008	-24,764	-2,570
	fraksi air 25%	-13,6667 ⁺	3,1042	,008	-24,764	-2,570
	fraksi air 12,5%	-14,3333 ⁺	3,1042	,005	-25,430	-3,236
	fraksi etil 50%	-26,3333 ⁺	3,1042	,000	-37,430	-15,236
	fraksi etil 25%	-23,0000 ⁺	3,1042	,000	-34,097	-11,903
	fraksi etil 12,5%	-18,0000 ⁺	3,1042	,000	-29,097	-6,903
ekstrak 50%	Kontrol +	-14,3333 ⁺	3,1042	,005	-25,430	-3,236
	kontrol -	15,6667 ⁺	3,1042	,002	4,570	26,764
	ekstrak 25%	-,6667	3,1042	1,000	-11,764	10,430
	ekstrak 12,5%	-1,3333	3,1042	1,000	-12,430	9,764
	fraksi air 50%	2,0000	3,1042	1,000	-9,097	13,097
	fraksi air 25%	2,0000	3,1042	1,000	-9,097	13,097
	fraksi air 12,5%	1,3333	3,1042	1,000	-9,764	12,430
	fraksi etil 50%	-10,6667	3,1042	,067	-21,764	,430
	fraksi etil 25%	-7,3333	3,1042	,430	-18,430	3,764
	fraksi etil 12,5%	-2,3333	3,1042	,999	-13,430	8,764
ekstrak 25%	Kontrol +	-13,6667 ⁺	3,1042	,008	-24,764	-2,570

	kontrol -	16,3333 [†]	3,1042	,001	5,236	27,430
	ekstrak 50%	,6667	3,1042	1,000	-10,430	11,764
	ekstrak 12,5%	-,6667	3,1042	1,000	-11,764	10,430
	fraksi air 50%	2,6667	3,1042	,998	-8,430	13,764
	fraksi air 25%	2,6667	3,1042	,998	-8,430	13,764
	fraksi air 12,5%	2,0000	3,1042	1,000	-9,097	13,097
	fraksi etil 50%	-10,0000	3,1042	,102	-21,097	1,097
	fraksi etil 25%	-6,6667	3,1042	,559	-17,764	4,430
	fraksi etil 12,5%	-1,6667	3,1042	1,000	-12,764	9,430
ekstrak 12,5%	Kontrol +	-13,0000 [†]	3,1042	,013	-24,097	-1,903
	kontrol -	17,0000 [†]	3,1042	,001	5,903	28,097
	ekstrak 50%	1,3333	3,1042	1,000	-9,764	12,430
	ekstrak 25%	,6667	3,1042	1,000	-10,430	11,764
	fraksi air 50%	3,3333	3,1042	,989	-7,764	14,430
	fraksi air 25%	3,3333	3,1042	,989	-7,764	14,430
	fraksi air 12,5%	2,6667	3,1042	,998	-8,430	13,764
	fraksi etil 50%	-9,3333	3,1042	,154	-20,430	1,764
	fraksi etil 25%	-6,0000	3,1042	,692	-17,097	5,097
	fraksi etil 12,5%	-1,0000	3,1042	1,000	-12,097	10,097
fraksi air 50%	Kontrol +	-16,3333 [†]	3,1042	,001	-27,430	-5,236
	kontrol -	13,6667 [†]	3,1042	,008	2,570	24,764
	ekstrak 50%	-2,0000	3,1042	1,000	-13,097	9,097
	ekstrak 25%	-2,6667	3,1042	,998	-13,764	8,430
	ekstrak 12,5%	-3,3333	3,1042	,989	-14,430	7,764
	fraksi air 25%	,0000	3,1042	1,000	-11,097	11,097
	fraksi air 12,5%	-,6667	3,1042	1,000	-11,764	10,430
	fraksi etil 50%	-12,6667 [†]	3,1042	,017	-23,764	-1,570
	fraksi etil 25%	-9,3333	3,1042	,154	-20,430	1,764
	fraksi etil 12,5%	-4,3333	3,1042	,937	-15,430	6,764
fraksi air 25%	Kontrol +	-16,3333 [†]	3,1042	,001	-27,430	-5,236
	kontrol -	13,6667 [†]	3,1042	,008	2,570	24,764
	ekstrak 50%	-2,0000	3,1042	1,000	-13,097	9,097
	ekstrak 25%	-2,6667	3,1042	,998	-13,764	8,430
	ekstrak 12,5%	-3,3333	3,1042	,989	-14,430	7,764
	fraksi air 50%	,0000	3,1042	1,000	-11,097	11,097

	fraksi air 12,5%	-,6667	3,1042	1,000	-11,764	10,430
	fraksi etil 50%	-12,6667 [†]	3,1042	,017	-23,764	-1,570
	fraksi etil 25%	-9,3333	3,1042	,154	-20,430	1,764
	fraksi etil 12,5%	-4,3333	3,1042	,937	-15,430	6,764
fraksi air 12,5%	Kontrol +	-15,6667 [†]	3,1042	,002	-26,764	-4,570
	kontrol -	14,3333 [†]	3,1042	,005	3,236	25,430
	ekstrak 50%	-1,3333	3,1042	1,000	-12,430	9,764
	ekstrak 25%	-2,0000	3,1042	1,000	-13,097	9,097
	ekstrak 12,5%	-2,6667	3,1042	,998	-13,764	8,430
	fraksi air 50%	,6667	3,1042	1,000	-10,430	11,764
	fraksi air 25%	,6667	3,1042	1,000	-10,430	11,764
	fraksi etil 50%	-12,0000 [†]	3,1042	,027	-23,097	-,903
	fraksi etil 25%	-8,6667	3,1042	,224	-19,764	2,430
	fraksi etil 12,5%	-3,6667	3,1042	,978	-14,764	7,430
fraksi etil 50%	Kontrol +	-3,6667	3,1042	,978	-14,764	7,430
	kontrol -	26,3333 [†]	3,1042	,000	15,236	37,430
	ekstrak 50%	10,6667	3,1042	,067	-,430	21,764
	ekstrak 25%	10,0000	3,1042	,102	-1,097	21,097
	ekstrak 12,5%	9,3333	3,1042	,154	-1,764	20,430
	fraksi air 50%	12,6667 [†]	3,1042	,017	1,570	23,764
	fraksi air 25%	12,6667 [†]	3,1042	,017	1,570	23,764
	fraksi air 12,5%	12,0000 [†]	3,1042	,027	,903	23,097
	fraksi etil 25%	3,3333	3,1042	,989	-7,764	14,430
	fraksi etil 12,5%	8,3333	3,1042	,268	-2,764	19,430
fraksi etil 25%	Kontrol +	-7,0000	3,1042	,494	-18,097	4,097
	kontrol -	23,0000 [†]	3,1042	,000	11,903	34,097
	ekstrak 50%	7,3333	3,1042	,430	-3,764	18,430
	ekstrak 25%	6,6667	3,1042	,559	-4,430	17,764
	ekstrak 12,5%	6,0000	3,1042	,692	-5,097	17,097
	fraksi air 50%	9,3333	3,1042	,154	-1,764	20,430
	fraksi air 25%	9,3333	3,1042	,154	-1,764	20,430
	fraksi air 12,5%	8,6667	3,1042	,224	-2,430	19,764
	fraksi etil 50%	-3,3333	3,1042	,989	-14,430	7,764
	fraksi etil 12,5%	5,0000	3,1042	,862	-6,097	16,097
fraksi etil 12,5%	Kontrol +	-12,0000 [†]	3,1042	,027	-23,097	-,903

kontrol -	18,0000*	3,1042	,000	6,903	29,097
ekstrak 50%	2,3333	3,1042	,999	-8,764	13,430
ekstrak 25%	1,6667	3,1042	1,000	-9,430	12,764
ekstrak 12,5%	1,0000	3,1042	1,000	-10,097	12,097
fraksi air 50%	4,3333	3,1042	,937	-6,764	15,430
fraksi air 25%	4,3333	3,1042	,937	-6,764	15,430
fraksi air 12,5%	3,6667	3,1042	,978	-7,430	14,764
fraksi etil 50%	-8,3333	3,1042	,268	-19,430	2,764
fraksi etil 25%	-5,0000	3,1042	,862	-16,097	6,097

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

Hasil: Antara kontrol positif, fraksi etil asetat 50%, dan fraksi etil asetat 25%
tidak berbeda signifikan

Homogeneous Subsets

		dayahambat			
Sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Student-Newman-Keuls ^a kontrol -	3	,000			
fraksi air 50%	3		13,667		
fraksi air 25%	3		13,667		
fraksi air 12,5%	3		14,333		
ekstrak 50%	3		15,667		
ekstrak 25%	3		16,333		

	ekstrak 12,5%	3		17,000		
	fraksi etil 12,5%	3		18,000		
	fraksi etil 25%	3		23,000	23,000	
	fraksi etil 50%	3			26,333	
	Kontrol +	3			30,000	
	Sig.		1,000	,098	,084	
Tukey HSD ^a	kontrol -	3	,000			
	fraksi air 50%	3		13,667		
	fraksi air 25%	3		13,667		
	fraksi air 12,5%	3		14,333		
	ekstrak 50%	3		15,667	15,667	
	ekstrak 25%	3		16,333	16,333	
	ekstrak 12,5%	3		17,000	17,000	
	fraksi etil 12,5%	3		18,000	18,000	
	fraksi etil 25%	3		23,000	23,000	23,000
	fraksi etil 50%	3			26,333	26,333
	Kontrol +	3				30,000
	Sig.		1,000	,154	,067	,494

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Hasil: Fraksi etil 25% dan fraksi etil 50% **tidak berbeda signifikan**