

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN CABAI RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Pseudomonas
aeruginosa* ATCC 27853**



oleh:

**Anastasia Gobay
19133976A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN CABAI
RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

SKRIPSI



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

Oleh :

**Anastasia Gobay
19133976A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI n-HEKSAN, ETIL ASETAT,
DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN CABAI
RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Oleh:

Anastasia Gobay
19133976A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 8 Agustus 2017



Dekan

Mengetahui,
Fakultas farmasi
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing Utama,

Dr. Supriyadi, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kartinah W, SU.

1. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
4. Dr. Supriyadi, M.Si.

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

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 8 Agustus 2017



Anastasia Gobay

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang.”

Amsal 23:18

“Sebab bagi Allah tidak ada yang mustahil.”

Lukas 1:37

”Sebab semua yang lahir dari Allah, mengalahkan dunia. Dan inilah kemenangan yang mengalahkan dunia: iman kita .”

1 Yohanes 5:4

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

Tuhan Yesus Kristus.

Bapa, Mama, kakak, dan adik tercinta yang telah mendukung dan mendoakanku.

Sahabat - sahabatku tercinta.

Teman – teman seperjuangan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Almamater, Bangsa dan Negara.

KATA PENGANTAR

Puji Tuhan, segala puji dan syukur kepada Tuhan yang telah memberi berkat dan kebijaksanaan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar 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. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Supriyadi, M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Dra. Kartinah, W. SU. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Bapak, Mama, Akwila, Yoa, Maria, dan Leo serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat dan teman-teman atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan oleh karena itu, penulis sangat menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, Februari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Cabai Rawit	5
1. Nama daerah	5
2. Sistematika tanaman	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Kandungan kimia	6
4.1 Alkaloid	6
4.2 Saponin	7
4.3 Tanin	7
4.4 Glikosida	7
4.5 Steroid	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian Simplisia	7
2. Pengeringan simplisia	8
C. Penyarian	8

1. Penyarian	8
2. Ekstrak	8
3. Perkolasi	8
4. Fraksinasi	9
5. Cairan penyari	9
D. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10
1. Sistematika <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
2. Morfologi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11
3. Pathogenitas	11
4. Toksin	11
E. Mekanisme Kerja Antibakteri	12
1. Menghambat metabolisme sel mikroba	12
2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba	12
3. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba	12
4. Menghambat sintesis protein sel mikroba	13
5. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba	13
F. Media	13
G. Sterilisasi	14
H. Kotrimoksazol	14
I. Uji Aktivitas Antibakteri	15
J. Landasan Teori	15
K. Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
A. Populasi dan Sampel	18
B. Variabel Penelitian	18
1. Identifikasi variabel utama	18
2. Klasifikasi variabel utama	18
3. Definisi operasional variabel utama	19
C. Bahan dan alat	20
1. Bahan	20
1.1. Bahan sampel	20
1.2. Bahan kimia	20
1.3. Medium	20
1.4. Bakteri Uji	20
2. Alat	20
D. Jalannya Penelitian	21
1. Determinasi tanaman	21
2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk	21
3. Penetapan kadar lembab	21
4. Pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit	21
5. Uji bebas etanol	22
6. Penetapan persen rendemen	22
7. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun cabe rawit	22
7.1 Identifikasi tanin	22

7.2	Identifikasi saponin.	23
7.3	Identifikasi alkaloid.	23
7.4	Identifikasi steroid.	23
8.	Fraksinasi.	23
9.	Pembuatan suspensi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	24
10.	Identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	24
10.1	Identifikasi bakteri berdasarkan koloni.	24
10.2	Identifikasi secara fisiologi.	25
10.3	Identifikasi bakteri secara morfologi.	26
11.	Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi.	26
12.	Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.	28
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		30
A.	Hasil Penelitian	30
1.	Hasil identifikasi tanaman cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).	30
1.1	Determinasi tanaman.	30
2.1	Deskripsi tanaman.	30
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun cabai rawit	30
3.	Hasil penetapan kadar lembab daun cabai rawit	31
4.	Hasil pembuatan ekstrak daun cabai rawit	31
5.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabai rawit	32
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit.	32
7.	Hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun cabai rawit	33
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji	34
9.	Hasil identifikasi bakteri uji.	34
9.1	Identifikasi bakteri secara goresan.	34
9.2	Identifikasi bakteri uji secara biokimia.	35
9.3	Identifikasi bakteri secara morfologi.	36
10.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi hasil daun cabai rawit secara difusi.	37
11.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit secara dilusi.	38
12.	Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat daun cabai rawit.	39
13.	Analisis data secara ANOVA <i>one way</i>	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		42
A.	Kesimpulan	42
B.	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA		43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit	22
2. Skema pembuatan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun cabai rawit.....	24
3. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi	27
4. Skema pengujian aktivitas antibakteri daun cabai rawit terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 dengan metode dilusi.	29
5. Hasil identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara inokulasi	35
6. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> secara biokimia.....	35
7. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> secara morfologi.....	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit	31
2. Hasil penetapan kadar lembab daun cabai rawit.....	31
3. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi daun cabai rawit	32
4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabai rawit	32
5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit	33
6. Rendemen hasil fraksinasi fraksi n-heksana, etil asetat, dan air daun cabai rawit	33
7. Hasil identifikasi biokimia pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	35
8. Diameter zona hambat uji aktivitas antibakterin daun cabai rawit secara difusi.....	38
9. Konsentrasi hambat uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit secara dilusi	39
10. Identifikasi fraksi etil asetat.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Determinasi daun cabai rawit	48
2. Foto tanaman cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	49
3. Foto ekstrak dan fraksi daun cabai rawit	50
4. Alat penelitian	52
5. Foto uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia.....	53
6. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	54
7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun cabai rawit terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara difusi.	56
8. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara dilusi	57
9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.....	60
10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).....	60
11. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksana dari cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).....	61
12. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	63
13. Perhitungan rendemen fraksi air dari daun cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.).....	65
14. Pembuatan larutan konsentrasi 80%	67
15. Perhitungan kotrimoksazol.....	67
16. Hasil uji identifikasi fraksi etil asetat	67
17. Uji statistik	68
18. Formulaasi dan pembuatan media	71

INTISARI

GOBAY A., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN CABAI RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan tanaman suku Solanaceae. Kandungan kimia daun cabai rawit adalah alkaloid, saponin, tanin dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun cabai rawit sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa ditumbuhkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Uji difusi dilakukan dengan membuat enam sumuran pada plat agar. Kelompok uji yang dilakukan meliputi hasil ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 80%. Kontrol positif menggunakan kotrimoksazol. Kontrol negatif menggunakan DMSO 5%. Fraksi etil asetat adalah uji yang teraktif dan digunakan pada uji dilusi. Uji dilusi dilakukan dengan membuat seri konsentrasi yaitu 80%; 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%. Kontrol positif yaitu fraksi teraktif dan kontrol negatif suspensi bakteri. Diamati kekeruhannya dan diinokulasi pada media PSA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Data dianalisis menggunakan anova *one way*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat diamati. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam menghambat dan membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 80%.

Kata kunci : Daun cabai rawit, metode difusi, metode dilusi, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ABSTRACT

GOBAY A., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST FRACTION n-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER FROM EXTRACT ETANOL CHILI LEAVES (*Capsicum frutescens* L.) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) is a Solanaceae tribe. The chemical content of cayenne leaves is alkaloids, saponins, tannins and steroids. This study aims to determine the activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate and water from chili pepper leaves as antibacterial to *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa grown on *Mueller Hinton Agar* (MHA) medium. The diffusion test is carried out by making six wells on the agar plate. The test group consisted of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction with 80% concentration. Positive controls use cotrimoxazole. Negative control using DMSO 5%. The ethyl acetate fraction is the most active test and is used in the dilution test. Dilution test is done by making series concentration that is 80%; 40%; 20%; 10%; 5%; 2.5%; 1.25%; 0.625%; 0.313%; 0.156%. Positive control is the most active fraction and negative control of bacterial suspension. Observed turbidity and inoculated on PSA medium then incubated at 37°C for 24 hours. Data were analyzed using anova one way.

The results showed that ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction of chili leaf (*Capsicum frutescens* L.) had antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ethyl acetate fraction of chili leaf (*Capsicum frutescens* L.) is the most active fraction as an antibacterial to *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Minimum Hamper Concentration can not be observed. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the ethyl acetate fraction of chili leaf (*Capsicum frutescens* L.) in inhibiting and killing *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 is 80%.

Keywords: Chili leaves, diffusion method, dilution method, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan zaman perhatian masyarakat telah kembali ke bahan alami yang dikenal dengan istilah “*Back to Nature*“ ini dianggap sebagai hal yang sangat bermanfaat karena sejak dahulu masyarakat telah percaya bahwa bahan alami mampu mengobati segala jenis penyakit dan relatif aman bagi tubuh (Permatasari *et al.* 2015). Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai tanaman obat adalah cabai rawit.

Cabai rawit digunakan sebagai bahan bumbu dapur, bahan utama industri saus, industri bubuk cabai, industri mie instan, sampai industri farmasi. Kebutuhan cabai rawit cukup tinggi yaitu sekitar 4kg/kapita/tahun (Warisno 2010 diacu dalam Saraswati *et al.* 2012). Daun, buah, batang, dan akar dari cabai rawit dapat digunakan sebagai tonik, stimulan kuat untuk jantung dan darah, antirematik, antikoagulan, stomakik, perangsang kulit, karminatif, diaforetik, peluruh liur dan diuretik (Usman *et al.* 2013).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Yunita (2012) mengidentifikasi adanya senyawa glikon dan flavonoid pada daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.). Penelitian yang telah dilakukan oleh (Vinayaka *et al.* 2010) daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* (L.) var. *longa* (Solanaceae)) memiliki kandungan senyawa saponin, tanin, alkaloid, glikosida dan steroid. Pelarut yang digunakan yaitu metanol dengan menggunakan metode soxhlet. Kandungan cabai rawit memiliki potensi untuk menjadikan tanaman ini sebagai tanaman obat. Daun cabai rawit terbukti efektif sebagai antibakteri. Ekstrak daun cabe rawit memiliki senyawa aktif berupa flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Vinayaka *et al.* (2010), ekstrak metanol dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) secara difusi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian tersebut menggunakan empat konsentrasi yaitu (10, 25, 50, dan 100 mg/ml). konsentrasi (50 dan 100 mg/ml) menunjukkan diameter zona hambat

terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Perbandingan konsentrasi ekstrak 100 mg/ml memberikan diameter zona hambat paling besar yaitu ($1,0 \pm 0,07$ cm) dengan kontrol positif yaitu Rifampisin 1 mg/ml dan kontrol negatif yaitu DMSO 10%. Penelitian tersebut menggunakan tiga bakteri dua diantaranya yaitu bakteri *S. aureus* dan *K. pneumoniae*. Daun cabai rawit dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*, *S. aureus*, dan *K. pneumoniae*.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif, aerobik, berbentuk batang dengan motilitas unipolar, menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Bakteri ini banyak terdapat dalam tanah, air, sampah, dan udara. *P. aeruginosa* sering terdapat dalam jumlah sedikit dalam flora normal usus, juga ditemukan pada kulit manusia. Bakteri ini menyebabkan infeksi luka dan luka bakar, juga infeksi nosokomial yaitu infeksi yang diperoleh selama perawatan di rumah sakit yang menjadi problema serius pada pasien rumah sakit yang menderita kanker, fibrosis kistik dan luka bakar. Angka fatalitas pasien-pasien tersebut mencapai 50% (Natalia 2008).

Data dari seluruh dunia menunjukkan lebih kurang lima juta kematian neonatal terjadi setiap tahunnya, dan 98% di antaranya terjadi di negara berkembang, khususnya Asia dan Afrika. Infeksi seperti tetanus, pneumonia, sepsis, meningitis, dan diare berkisar 30%-50%. Bakteri penyebab sepsis neonatorum terbanyak yang ditemukan di negara berkembang tersebut adalah bakteri Gram negatif. Hasil penelitian yang dilakukan ditemukan lebih dari 70% bakteri penyebab adalah bakteri Gram negatif, *Pseudomonas aeruginosa* (44%) sebagai bakteri terbanyak ditemukan diikuti *Alkaligenes sp* (15%), *Stafilococcus sp* (14%) dan *Klebsiella* (11%). Hasil yang hampir sama ditemukan oleh penelitian lain, yaitu bakteri Gram negatif merupakan bakteri terbanyak yang ditemukan (Rukmono 2013).

Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Penggunaan antibiotik dapat mengakibatkan resistensi. Antibiotik generasi baru juga banyak menimbulkan masalah ketoksikan, sehingga perlu dikembangkan penggunaan bahan-bahan alam sebagai alternatif dalam mengobati penyakit infeksi (Siwi 2012).

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai aktivitas antibakteri daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, penelitian menggunakan metode perkolasi, dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya bunuh dan daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Diketahui hasil fraksinasi yang paling aktif dengan mengukur zona hambat secara difusi lalu ditentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) secara dilusi.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang dihadapi adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

Kedua, fraksi manakah dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

Ketiga, berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui dan membuktikan aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling efektif diantara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan khususnya obat tradisional yang dapat digunakan sebagai masukan bagi masyarakat dalam upaya pemanfaatan daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sehingga peranannya sebagai tanaman obat akan lebih berarti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Cabai Rawit

1. Nama daerah

Sumatera: leudeuaarum, l. Pentek (Gayo), situdu langit, lacini sipane, (Simelungmz), lada limi (Nias), l. mutia (Melayu). Jawa: cabe rawit, c. cengkek (SLCnda), lombok jemplin, l. jemprit, l. gamir, l. setan, l. cempling (Jawa), cabhi letek, c. taena manok (madc,rra), Nusa Tenggara: tabia krinyi (Bali), kurus (Alor). Sulawesi: kaluya kapal (bent.), mereta dodi (Mongond.), malita diti (gorontalo), m. didi (Buol), lada masiwu (Baree), l. marica, l. capa, laso meyong (Mak.), l. menong, ladang burica, l. marica (Bug.), rica halu, r. padi (manado). Maluku: Abrisa kubur (Seram), karatupa batawe (Elpaputi), kutupu walata (Waraka), araputa patawe (patamano), kalapita batawi (Amahai) karatuba manesane (Nuaulu), karatupa. Batawi (Sepcc), maricang kekupe (Wedde), rica gufu (Ternate). Irian: metrek wakfoh (Sarmi), basen tanah (Barik) (Haryanto 2012).

2. Sistematika tanaman

Kedudukan tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam sistematika taksonomi adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Metachlamidae
Famili	: Solanaceae
Genus	: Capsicum
Spesies	: <i>Capsicum frutescens</i> Linn. (Anonim 2001)

3. Morfologi tanaman

Cabai rawit tumbuh di ketinggian 0,5-1,250 m dpl, tanaman perdu, percabangan banyak. Batang cabai rawit berbuku-buku atau bagian atas bersudut, bercabang-cabang. Daun cabai rawit memiliki daun tunggal, memiliki tangkai

daun, letak berselingan. Helaian daun bulat telur, ujung meruncing, pangkal menyempit, tepi rata, tulang daun menyirip, panjang 5-9,5 cm, lebar 1,5-5,5 cm, berwarna hijau. Bunga cabai rawit keluar dari ketiak daun, mahkota berbentuk bintang, bunga tunggal atau 2-3 bunga letaknya berdekatan, berwarna putih, putih kehijauan, kadang-kadang ungu. Buah cabai rawit tegak, kadang-kadang merunduk, berbentuk bulat telur, lurus atau bengkok, ujungnya meruncing, panjang 1-3 cm lebar 2,5-12 mm, bertangkai panjang dan rasanya pedas. Buah mudah berwarna hijau tua, putih kehijauan, atau putih, buah masak berwarna merah terang. Biji cabai rawit banyak, bulat pipih berdiameter 2-2,5 mm, berwarna kuning kotor (Haryanto 2012). Akar tunggang, bulat, putih kotor (Anonim 2001). Tipe percabangan tanaman cabe rawit umumnya tegak atau menyebar dengan karakter yang berbeda-beda, tergantung spesiesnya. Cabang terdiri atas cabang biasa, ranting (*rumulus*), dan cabang wiwilan atau tunas liar. (Rukmana 2002).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia daun cabe rawit yaitu tanin, alkaloid, steroid, glikosid dan saponin (Vinayaka *et al* 2010).

4.1 Alkaloid. Alkaloid dan basa yang mengandung nitrogen lainnya pada umumnya larut dalam bahan pelarut lipofil. Garamnya larut dalam pelarut hidrofil. Alkaloida dalam tumbuhan umumnya sebagai garam. Simplisia bisa langsung diekstrak dengan pelarut hidrofil (air, etanol) atau setelah dialkalisasi (perubahan alkaloid menjadi bentuk basanya) diekstrak dengan bahan pelaut lipofil (eter, kloroform, metilen klorid) (Voigt 1995). Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan menggunakan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah & Kurniawan 2014). Rasa pedas pada cabai rawit disebabkan oleh adanya senyawa capsaicin. Capsaicin adalah senyawa alkaloid yang stabil dengan rumus molekul $C_{18}H_{27}NO_3$, tidak terpengaruh oleh suhu dingin dan panas, tidak memiliki bau, rasa dan warna (Todd *et al.* 1977)

4.2 Saponin. Saponin larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter, etil asetat (Robinson 1995). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Harborne 2006, diacu dalam Rijayanti 2014). Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Cavalieri 2005, diacu dalam Rijayanti 2014).

4.3 Tanin. Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, Angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Tanin adalah senyawa polar sehingga kelarutan dalam senyawa polar seperti etanol, metanol dan aseton sangat baik (Harborne 1987). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Juliantina *et al* 2014).

4.4 Glikosida. Glikosida pada umumnya larut baik dalam air dan etanol. Tidak larut di dalam bahan pelarut seperti eter, kloroform, benzen. Glikosida dapat diendapkan oleh larutan tanin dan saponin. Pemanasan mengakibatkan pemutusan glikosida (Voigt 1995).

4.5 Steroid. Steroid adalah senyawa yang sering terdapat tidak bebas tetapi sebagai turunan senyawa yang lebih rumit. Beberapa senyawa steroid yang terkandung dalam tumbuhan mempunyai peran sebagai pelindung. Nama sterol dipakai khusus untuk steroid alkohol, tetapi karena praktis semua tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada C-3, semua itu disebut sterol (Robinson 1995). Steroid berpotensi sebagai senyawa antibakteri untuk beberapa infeksi. Steroid memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sel bakteri tersebut rusak (Adewoye *et al.* 2010)

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Simplisia dapat berupa simplisia

nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican atau mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisis hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelican yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Depkes RI 1985).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara dan kelembapan bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan dan Mulyani 2004).

C. Penyarian

1. Penyarian

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan akan larut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif (Ansel 1989).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat bahan cair (ekstrak atau tingtur cair), atau bahan antara (semicairan) atau bahan padat (ekstrak kering) yang umumnya secara konsisten dihasilkan dari bahan tanaman atau hewan yang dikeringkan melalui teknik yang melibatkan penggunaan pelarut secukupnya untuk memperoleh campuran senyawa (Heinrich *et al.* 2009).

3. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian

bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah.

Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya berat sendiri dan cairan di atasnya, kurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain gaya berat, kekentalan, daya larut tegangan permukaan, difusi, osmosa, adhesi daya kapiler dan gaya gesekan (friksi) (Depkes 1986).

Bentuk perkolator ada 3 macam yaitu perkolator berbentuk tabung, perkolator berbentuk paruh dan perkolator berbentuk corong. Pemilihan perkolator tergantung pada jenis serbuk simplisia yang akan disari. Serbuk yang mengandung sejumlah besar zat aktif yang larut harus diperkolasi dengan perkolator yang lebar, sebab perkolator akan segera menjadi pekat dan berhenti mengalir bila memakai perkolator yang sempit (Depkes 1986). Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan me-makan banyak waktu.

4. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi berbeda. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut yang nonpolar, kemudian disari dengan pelarut yang kurang polar dan terakhir dengan pelarut polar (Harborne 1987). *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar dengan sebagian besar minyak lemak dan minyak atsiri, triterpenoid dan karotenoid (Depkes 1985). Eter merupakan pelarut semipolar, senyawa yang larut ke dalam pelarut ini adalah flavonoid (Harborne 1987). Air melarutkan glikosida, tanin, saponin dan gula (Depkes 1986).

5. Cairan penyari

Pemilihan cairan penyari harus memepertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik adalah murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan

kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak memengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986). Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air etanol, atau pelarut lain.

Etanol adalah penyari serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne 1987). Etanol dapat melarutkan alkaloid, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, dan klorofil (Depkes 1986). Etanol lebih mudah untuk menembus membran sel untuk mengekstrak bahan tumbuhan. Metanol lebih polar dibandingkan etanol namun karena sifat yang toksik, sehingga tidak cocok digunakan untuk ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011).

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*-heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna bau khas seperti buah, dapat bercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Senyawa yang larut kedalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid basa, minyak penguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, steroid, tanin, dan saponin (Harbone 1987)

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, dan gula, pati, protein, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

D. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

1. Sistematika *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Brook <i>et al.</i> 2001)

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang, motil, dan bersifat aerob. Beberapa di antaranya menghasilkan pigmen yang larut dalam air. *Pseudomonas aeruginosa* banyak ditemukan di tanah, air, tumbuh-tumbuhan dan binatang. *Pseudomonas aeruginosa* sering terdapat di flora normal usus dan pada kulit manusia dalam jumlah kecil serta merupakan patogen utama dari kelompoknya (Jawetz *et al.* 2007).

2. Morfologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,2 x 2 µm. ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari 2005).

3. Pathogenitas

Kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* menyerang jaringan bergantung pada produksi enzim-enzim dan toksin-toksin yang merusak barier tubuh dan sel-sel inang. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat patogen karena sistem pertahanan tubuh yang tidak normal, misalnya saat membran mukosa dan kulit robek karena penggunaan kateter intravena atau kateter air kemih (Mayasari 2005).

4. Toksin

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan enzim yang dapat menginfeksi manusia seperti elastase, protease, dan dua hemolisin: fosfolipid C labil-panas dan glikoprotein stabil-panas. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A yang dapat menghambat sintesis protein sehingga dapat menyebabkan nekrosis jaringan. Lipopolisakarida menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis,

leukopenia, koagulasi intravaskuler diseminata dan sindrom gawat napas dewasa. (Jawetz *et al.* 2012).

E. Mekanisme Kerja Antibakteri

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Obat pembasmi mikroba ini haruslah bersifat toksisitas selektif setinggi mungkin dalam arti bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antimikroba terdapat dua sifat yaitu menghambat pertumbuhan mikroba (aktivitas bakteristatik) dan membunuh mikroba (aktivitas bakterisid). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok (Gunawan 2009).

1. Menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Gunawan 2009).

2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan 2009).

3. Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba

Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan

membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gunawan 2009).

4. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Antibakteri bekerja dalam menyebabkan kode pada mRNA yang salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba (Gunawan 2009).

5. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Rifampisin yang berikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel mikroba begitu juga dengan golongan kuinolon yang menghambat enzim DNA girase pada kuman yang berfungsi membentuk kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa memuat sel kuman yang kecil sekalipun (Gunawan 2009).

F. Media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroba, untuk menentukan jumlah dan jenis mikroba, dan untuk mengisolasi mikroba jenis tertentu dari bahan alam. Media pertumbuhan harus mengandung semua nutrisi yang diperlukan oleh organisme yang akan dikultur, dan faktor-faktor seperti pH, suhu, dan aerasi harus dikendalikan dengan cermat. Media harus dalam keadaan steril sebelum digunakan untuk suatu penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan (Jawetz *et al.* 2012).

Menurut konsistensinya medium dapat dibedakan menjadi medium cair, medium padat, dan medium setengah padat. Pertama medium cair seperti kaldu nutrisi atau kaldu glukosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, penelaan fermentasi dan berbagai macam uji. Kedua, medium padat dapat ditambahkan 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 setengah padat mengandung gelatin atau agar-agar namun konsentrasi lebih kecil dari pada medium padat (Hadioetomo 1985).

G. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang dilakukan (Waluyo 2004).

Tindakan sterilisasi yang dapat dilakukan meliputi: pertama, sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar UV, dan dengan radiasi. Kedua, sterilisasi secara kimiawi yaitu memakai bahan kimia misal dengan menggunakan desinfektan larutan alkohol dan larutan formalin. Ketiga, sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri. Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam, alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawiria 1986).

H. Kotrimoksazol

Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba, sehingga kombinasi kedua obat memberikan efek sinergi. Kombinasi ini lebih dikenal dengan nama kotrimoksazol. Spektrum antibakteri trimetoprim sama dengan sulfametoksazol, meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat daripada sulfametoksazol. Mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol salah satunya adalah pseudomonas. Kedua komponen memperlihatkan interaksi sinergistik. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap kedua komponen. Mekanisme kerja

aktivitas antibakteri kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya pada dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfonamid menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidin) dan beberapa asam amino (metionin, glisin). Trimetoprim menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara sangat selektif (Ganiswarna 1995).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. *Cup-plate technique* metode ini serupa dengan metode disc diffusion, dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumuran tersebut diberi agen antimikroba yang diuji (Pratiwi 2008). Pada uji difusi daerah hambat jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambat terhadap bakteri yang diperiksa. Tujuan penggunaan uji difusi adalah untuk mengetahui luas zona hambat aktivitas antibakteri. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri pada permukaan media agar (Bonang dan Koeswardono 1982). Hasil fraksi teraktif pada pengujian aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode dilusi cair untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba akan terlihat jernih menandakan tidak adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Dikultur pada media PSA tanpa penambahan uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tidak terdapat pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008).

J. Landasan Teori

Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, kuinon, terpenoid dan saponin terkandung di dalam ekstrak

daun dan buah *C. frutescens*. fenol terdeteksi hanya di ekstrak buah (Dorman dan Dekan 2000; Elgayyar et al. 2001 diacu dalam Gurnani *et al.* 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Yunita (2012) daun cabai rawit mengandung senyawa glikon dan flavonoid.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Mustanir *et al.* (2013), Daun cabai rawit mengandung senyawa Asam 1,2 Benzenadikarboksilat, mono (2-etilheksil) ester, 1-Oktadekena, 1-Dokosena, dan Siklokosana. Ekstrak daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% secara berturut-turut (Lestari 2016). Tanaman cabai rawit mengandung capsaicin, kandungan capsaicin pada buah lebih banyak dibandingkan pada daun.

Kandungan kimia daun cabe rawit yaitu tanin, alkaloid, steroids, glikosid dan saponin (Vinayaka *et al.* 2010). Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan menggunakan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah & Kurniawan 2014). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Harborne 2006, diacu dalam Rijayanti 2014). Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Cavalieri 2005, diacu dalam Rijayanti 2014). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Juliantina *et al.* 2014). Glikosida pada umumnya larut baik dalam air dan etanol. Tidak larut di dalam bahan pelarut sepreti eter, kloroform, benzen. Glikosida dapat diendapkan oleh larutan tanin dan saponin. Pemanasan mengakibatkan pemutusan glikosida (Voigt 1995). Steroid memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sel bakteri tersebut rusak (Adewoye *et al.* 2010).

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama kandungan dari golongan utama yang berdasarkan kepolarannya. *n*-heksan dapat melarutkan

senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid, dan karotenoid (Tiwari *et al.* 2011). Senyawa yang larut kedalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid basa, minyak penguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, steroid, tanin, dan saponin (Harbone 1987). Air melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, dan gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

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

K. Hipotesis

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

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam menghambat dan membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat ditentukan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari daerah di Teras, Kabupaten Boyolali.

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diambil dari populasi secara random. Tanaman cabai yang diambil memiliki daun yang sudah tua, berwarna hijau, diambil dari tanaman yang masih segar, terbebas dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).

Variabel utama kedua adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853.

Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853 dengan metode difusi.

Variabel utama keempat adalah fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal berdasarkan diameter hambat yang paling besar.

Variabel utama kelima adalah uji aktivitas antibakteri dari fraksi teraktif dengan metode dilusi terhadap *Pseudomonas aeruginos* ATCC 27853.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang biasa diubah-ubah yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya, hasil yang didapatkan tidak menyebar dan dapat dilakukan peneliti lain secara tepat. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkas, alat, dan bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, waktu panen, pemilihan daun, dan metode ekstraksi.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari ekstraksi dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol, fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, air, dan selanjutnya uji aktivitas antibakteri secara difusi, dilanjutkan dengan metode dilusi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun cabai adalah daun dari tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diambil dari daerah di Kecamatan Teras Kabupaten Boyolali.

Kedua, serbuk daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yaitu serbuk yang diperoleh dari daun cabai rawit 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 cabe rawit adalah hasil ekstraksi serbuk daun cabai rawit yang dibuat dengan cara mengekstrak serbuk dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksan daun cabai adalah hasil fraksi dari ekstrak etanol

Kelima, fraksi etil asetat daun cabai adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksan dengan pelarut etil asetat.

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

Ketujuh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang di dapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri adalah kemampuan dari daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam membunuh bakteri ditentukan dengan metode difusi dengan melihat zona hambat pertumbuhan bakteri pertumbuhan bakteri dilanjutkan dengan menggunakan metode dilusi dengan melihat konsentrasi bunuh minimum (KBM).

C. Bahan dan alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.). Daun cabe rawit diperoleh dari salah satu kebun di Kecamatan Teras Kabupaten Boyolali..

1.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 70 %, aquadest, pelarut *n*-heksan, etil asetat, DMSO 5% dan Standar *Mc Farland* 0,5.

1.3. Medium. Medium yang digunakan *Brain Heart Infusion* (BHI), *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA), *Klinger Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM), *Sitrat*, *Muller Hinton Agar* (MHA).

1.4. Bakteri Uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

2. Alat

Alat yang digunakan antara lain : Alat penyerbukan, oven dengan suhu rendah dan konstan, kassa, kaki tiga, selang, corong penyaring, timbangan analitik, tabung reaksi, cawan petri, inkas, jarum ose, labu alas bulat, rak tabung,

mikroskop, autoklaf, evaporator dan alat *moisture balance*, batang pengaduk, corong pisah, cawan penguap, batang pengaduk rangkaian alat untuk.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tumbuhan cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang dilakukan di bagian Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Determinasi ini bertujuan untuk mencocokkan ciri makroskopis dan mikroskopis, selain itu juga berfungsi untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).

2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang sudah di sortasi basah, dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan di oven dengan suhu 50°C selama 2-3 hari yang bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no. 40.

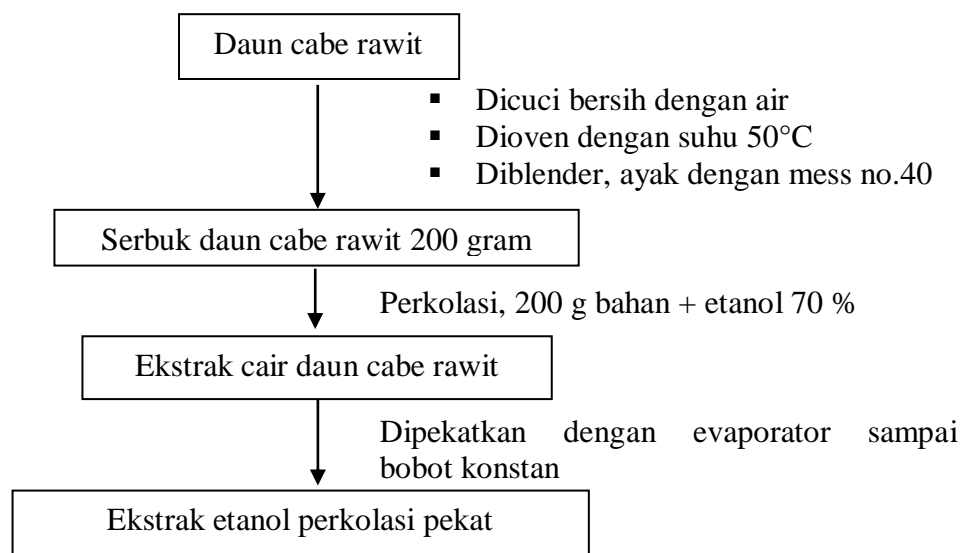
3. Penetapan kadar lembab

Penetapan kadar lembab dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun cabai rawit sebanyak 2 gram, kemudian diukur kadar lembab serbuk dengan menggunakan alat *moisture balance*, serbuk daun cabai rawit hasil pengeringan kemudian ditimbang dan dihitung kadar lembabnya dengan persyaratan tidak lebih dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun cabe rawit

Pembuatan ekstrak dengan cara perkolasi adalah dengan menimbang 200 gram serbuk daun cabai rawit. Serbuk dimasukkan dalam *beaker glass* dan dibasahi dengan etanol 70%, ditutup plastik dan dibiarkan 2 jam kemudian dimasukkan kedalam bejana silindris yang diberi sekat berpori. Etanol 70% dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut secara terus menerus dengan kecepatan 1 ml/menit dan diatur sedemikian rupa sehingga cairan yang keluar

seimbang dengan cairan yang ditambahkan dari atas perkolator. Perkolasi dihentikan jika cairan yang keluar tidak berwarna (Fatimah, 2006).



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun cabai rawit

5. Uji bebas etanol

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

6. Penetapan persen rendemen

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

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

7. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun cabe rawit

7.1 Identifikasi tanin. Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambahkan aquadest sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan NaCl 10% lalu direaksikan dengan menambahkan

FeCl₃. Perubahan warna biru kehitaman menunjukkan adanya kandungan tannin (Ramyashree *et al.* 2012).

7.2 Identifikasi saponin. Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambahkan aquadest, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil menandakan adanya kandungan saponin (Ramyashree *et al.* 2012).

7.3 Identifikasi alkaloid. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan aquadest. Setelah itu disaring sebanyak dua kali, dan ditambahkan larutan HCl 2 M sebanyak 1 sampai 2 tetes. Selanjutnya ditetesi pereaksi Wagner. Adanya perubahan warna dan terdapat endapan maka positif memiliki kandungan alkaloid (Resmi 2011).

7.4 Identifikasi steroid. Sebanyak 2 gram serbuk simplisia ditempatkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat anhidrat sampai sampel terendam semuanya, dibiarkan selama kira-kira 15 menit, enam tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru (Ngajow *et al.* 2013).

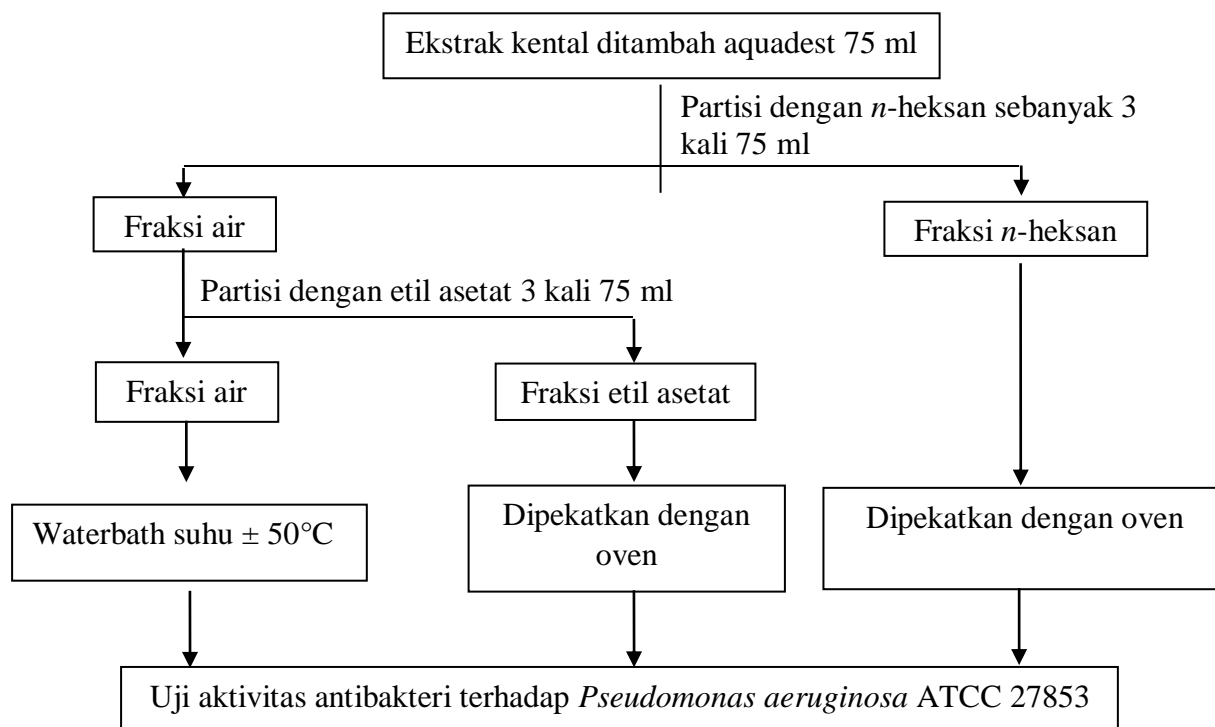
8. Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanolik daun cabai dibuat dengan menimbang ekstrak hasil perkolasi di dalam beaker glass sebanyak 10 gram. Ekstrak etanol yang sudah ditimbang disuspensikan dengan aquadest sebanyak 75 ml kemudian dipisahkan di corong pisah dengan menambahkan *n*-heksan 75 ml, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan oven dan disebut sebagai fraksi *n*-heksan.

Residu dari fraksinasi *n*-heksan dipisahkan di corong pisah dengan menambahkan etil asetat 75 ml, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan oven kemudian ditimbang dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

Residu dari fraksi etil asetat dipekatkan dengan cara dibiarkan menguap pada suhu kamar, karena masih terdapat kandungan air yang cukup banyak maka dipekatkan kembali menggunakan waterbath suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ lalu ditimbang dan

disebut sebagai fraksi air. Skema pembuatan fraksinasi daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).



Gambar 2. Skema pembuatan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun cabai rawit.

9. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih satu ose bakteri uji kemudian dipindahkan kedalam tabung yang berisi media BHI lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 jam. Diperoleh suspensi bakteri dengan kekeruhan sama dengan standar Mc farland 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ ml. Jika kekeruhan belum sesuai standar maka dilakukan pengenceran 1:1000, selanjutnya digunakan untuk identifikasi (Bonang & Koeswandro 1982).

10. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

10.1 Identifikasi bakteri berdasarkan koloni. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi pada medium *Pseudomonas selekti agar* dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Penampakan membentuk koloni bulat halus dengan memebntuk pigmen yang berwarna kehijauan (Jawetz et al. 2007).

10.2 Identifikasi secara fisiologi. Uji *Pseudomonas aeruginosa* dapat diketahui sifat fisiologinya dengan inokulasi pada media-media uji biokimia. Macam media yang digunakan inokulasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* adalah Klinger Iron Agar (KIA), Lysine Iron Agar (LIA), Sulfide Indol Motilitas (SIM), Sitrat. Masing-masing media tersebut diinokulasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasilnya dapat diketahui dengan perubahan warna masing-masing media atau dengan penambahan reagen.

10.2.1 Media SIM (Sulfida Indol Motility). Biakan murni diinokulasi pada permukaan media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Pengujian dengan SIM memberikan hasil - - +, artinya uji H₂S negatif ditandai dengan tidak adanya pembentukan warna hitam pada media SIM, pada penambahan reagen Erlich A dan B permukaan media tidak berwarna merah ini berarti uji indol negatif, uji motilitasnya positif, ditunjukkan dengan adanya penyebaran pertumbuhan bakteri di media SIM.

10.2.2 Media KIA (*Kliger Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Memberikan hasil K/KS-, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, S- artinya uji H₂S negatif ditunjukkan tidak adanya pembentukan warna hitam pada media KIA.

10.2.3 Media LIA (*Lysine Iron Agar*). Biakan bakteri diinokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diamati bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Pengujian dengan media LIA memberikan hasil K/KS-, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin, S- artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA. *Lysine Iron Agar* (LIA) dapat digunakan untuk identifikasi mikroba penghasil enzim yang mampu mendekarboksilasi asam amino lisin dan memproduksi gas H₂S (Haryani, 2012).

10.2.4 Media Sitrat. Biakan bakteri diinokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal (Jawetz *et al.* 1986). Pengujian pada media sitrat memberikan hasil positif yang ditandai warna biru pada media sitrat. Hal ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

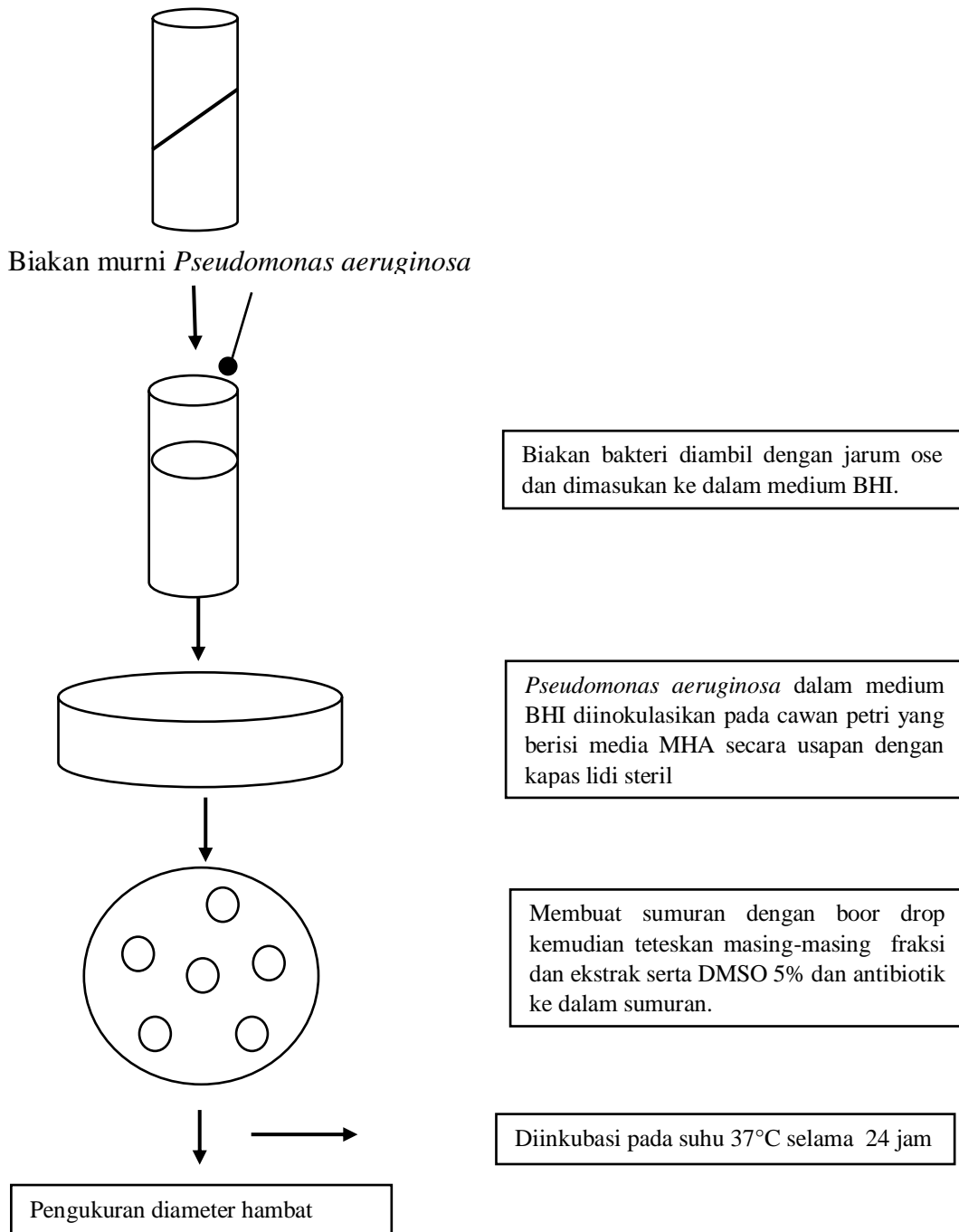
10.3 Identifikasi bakteri secara morfologi. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. Pewarnaan Gram berguna untuk meyakinkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan Gram negatif. Pewarnaan dimulai dengan pemberian warna zat dasar, kristal violet. Larutan iodium diberikan selanjutnya, seluruh bakteri akan terwarnai ungu pada tahap ini dalam proses pewarnaan. Kemudian preparat sel bakteri diberikan alkohol. Sel Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks kristal-violet sehingga tetap berwarna ungu, sel Gram negatif kehilangan warna oleh alkohol. Sebagai langkah akhir, zat warna lawan, safranin (pewarna merah) diberikan sehingga sel-sel Gram negatif yang tidak berwarna akan berwarna merah sedangkan sel Gram positif akan tetap berwarna ungu (Jawetz *et al.* 2012).

11. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

Hasil perkolasi, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air dari daun cabai yang didapatkan diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Metode yang digunakan adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan luas zona hambat terhadap bakteri uji.

Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dibuat konsentrasi 50% dengan menggunakan pelarut DMSO 5%. Secara aseptis pada cawan petri digoresi bakteri, kemudian dibuat sumuran menggunakan boorprop sebanyak 6 lubang sumuran. Lubang sumuran yang pertama diisi dengan suspensi kotrimokzasol sebagai kontrol (+). Lubang sumuran yang ke dua diisi dengan larutan stok ekstrak etanolik daun cabai, lubang sumuran ke tiga diisi dengan larutan stok fraksi *n*-heksan, lubang sumuran ke empat diisi dengan larutan stok fraksi etil asetat, lubang sumuran ke lima diisi dengan larutan stok fraksi air,

lubang sumuran ke enam diberi pelarut DMSO 5% sebagai kontrol (-). Replikasi dilakukan tiga kali. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar sumuran diukur, dinyatakan dalam satuan mm.

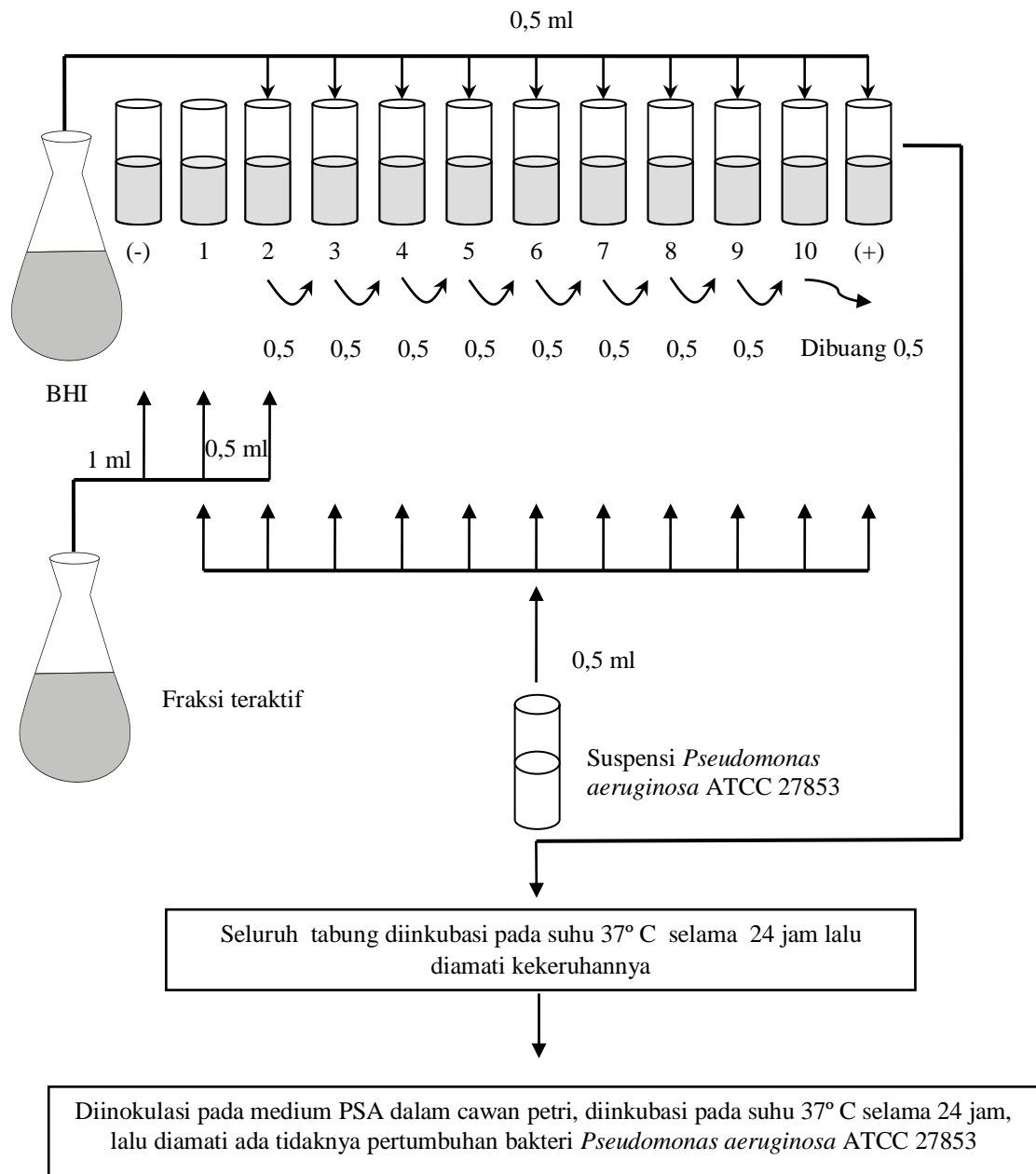


Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi

12. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif.

Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung yang terdiri dari 12 tabung dengan konsentrasi 80%; 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%, kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-). Media BHI dimasukkan 0,5 ml pada tiap tabung kecuali tabung 1. Secara aseptis, masukkan 1 ml larutan stok (fraksi etil asetat) yang akan diuji pada tabung 1, kemudian pada tabung 2 dan 3 dimasukkan 0,5 ml larutan stok, kemudian dari tabung 3 dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tambahkan 0,5 ml biakan bakteri dari tabung 2 sampai tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada 37°C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media selektif *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri daun cabai rawit terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil identifikasi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

1.1 Determinasi tanaman. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan sebagai objek penelitian dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman cabai rawit terhadap kepustakaan dan dibuktikan di laboratorium sistematika tumbuhan, fakultas farmasi Universitas Setia Budi Surakarta .

Hasil determinasi daun cabe rawit berdasarkan: Steenis: FLORA: 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171a – 177b – 179b – 187b – 189b – 190b – 191a. Familia 111. Solanaceae. 1b – 3b – 5a – 6b – 7a. 7. *Capsicum*. 1b. *Capsicum frutescens* L.

2.1 Deskripsi tanaman. Deskripsi tanaman cabai rawit sebagai berikut: herba menahun, tegak, bercabang lebar, tinggi 0,5 - 1,5 m, akar tunggang, percabangan monopodial, berkayu. Daun tunggal, tersebar, tangkai 1,1 – 2,1 cm, helaian daun bulat telur memanjang atau bulat telur sampai lanset, pangkal runcing, ujung menyempit, panjang 5,1- 6,8 cm, lebar 2,9 – 3,5 cm. Bunga di ujung atau di ketiak; berdiri sendiri atau 2 lebih bersama-sama, tangkai tegak dengan ujung mengguguk. Kelopak bentuk lonceng dengan 5 gigi kecil, dibawah buah membesar. Mahkota bentuk roda, berbagi 5 dalam, taju runcing, putih kehijauan, kepala sari ungu. Buah buni, bulat telur memanjang, tegak, waktu muda hijau, setelah tua merah, rasanya sangat pedas. Biji bulat, pipih, kuning muda.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun cabai rawit

Daun cabai rawit diambil secara acak dari salah satu kebun di Kecamatan Teras, Kabupaten Boyolali pada bulan Maret 2017. Daun cabai rawit yang telah diambil, dibersihkan, dicuci dan dikeringkan. Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah tumbuhnya jamur dan

mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Serbuk daun cabai rawit diayak dengan ayakan no. 40 untuk memperoleh derajat kehalusan yang diinginkan untuk memudahkan proses ekstraksi. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1. Daun cabai sebanyak 3000 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering 700 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 23,33%. Hasil rendaman yang didapat sangat kecil diakibatkan karena banyaknya kandungan air pada daun cabai rawit dan banyak serbuk yang terbuang pada saat proses penggilingan. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun cabai rawit

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
3000	700	23,3

3. Hasil penetapan kadar lembab daun cabai rawit

Penetapan kadar lembab serbuk daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) menggunakan alat *Moisture Balance*. Hasil penetapannya tercantum pada tabel 2 :

Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab daun cabai rawit

No	Bobot serbuk (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	6,0
2	2,00	6,5
3	2,00	6,0
Rata- rata		6,17

Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun cabai rawit didapatkan rata-rata sebesar 6,17. Kadar lembab memenuhi syarat di mana kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% karena dengan kadar lembab kurang dari 10% bakteri dan jamur serta kapang tidak dapat tumbuh, enzim tidak dapat aktif sehingga zat aktifnya tidak berkurang karena aktivitas enzimatik dan bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

4. Hasil pembuatan ekstrak daun cabai rawit

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode perkolasi, perkolasi adalah metode yang menggunakan pelarut baru. Keuntungan cara penyari dengan perkolasi adalah hasil ekstrak yang jernih dan baik untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan pemanasan. Perkolasi menggunakan etanol 70% yang bertujuan agar senyawa yang terdapat pada simplisia dapat larut dengan

sempurna. Keuntungan pemakaian etanol dalam penyarian adalah menghasilkan bahan aktif yang optimal, memperbaiki stabilitas bahan pelarut, dan mampu memberikan perlindungan dan kontaminasi mikroorganisme lain. Hasil perkolasi yang didapat yaitu filtrat sebanyak 11 liter. Hasil dari perkolasi dikentalkan dengan menggunakan evaporator sehingga didapatkan bobot ekstrak 299,86 gram. Hasil pembuatan ekstrak kental daun cabai rawit dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi daun cabai rawit

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
700	299,86	42,83

Rendemen ekstrak kental yang didapatkan adalah 42,83%. Hasil rendemen tidak dapat dipastikan karena kesulitan dalam menimbang wadah ekstrak. Perhitungan rendaman dapat dilihat pada lampiran 10. Ekstrak kental daun cabai rawit yang didapat merupakan bahan utama pada saat pembuatan fraksinasi dengan pelarut yang berbeda-beda sifat kepolaranya.

5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabai rawit

Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun cabai rawit

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

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak daun cabai rawit adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit

Identifikasi kandungan pada ekstrak dilakukan untuk mengetahui kandungan ekstrak yang aktif sebagai antibakteri. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Steroid	Warna biru	Reaksi positif ditandai dengan warna biru (Ngajow <i>et al.</i> 2011).	(+)
Alkaloid	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan ketika ditambahkan reagen wagner (Resmi <i>et al.</i> 2011).	(+)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang.	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)
Tanin	Warna hijau atau biru kehitaman.	Terbentuk warna hijau atau biru kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dapat dilihat pada lampiran 5. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun cabai rawit dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun cabai rawit dengan menggunakan tabung reaksi. Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun cabai rawit positif mengandung steroid, alkaloid, saponin, dan tanin yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri.

7. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun cabai rawit

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan (Harborne 1987). Penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak. Proses fraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana bersifat non polar, fraksinasi menggunakan *n*-heksana bertujuan untuk mengekstrak lemak dan terpena. Residu yang diperoleh difraksinasi dengan etil asetat untuk mengisolasi senyawa semi polar (Firdausi 2015). Rendemen hasil fraksinasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun cabai rawit

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
1	30	3,632	12,11%
2	30	2,746	9,15%
3	30	16,025	53,42%

Berdasarkan tabel 6 dapat diketahui bahwa perhitungan persentase rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun cabai rawit yang diperoleh berturut-turut adalah 12,10%, 9,15%, dan 53,42%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana etil asetat dan air daun cabai rawit dapat dilihat pada lampiran 11, 12, dan 13.

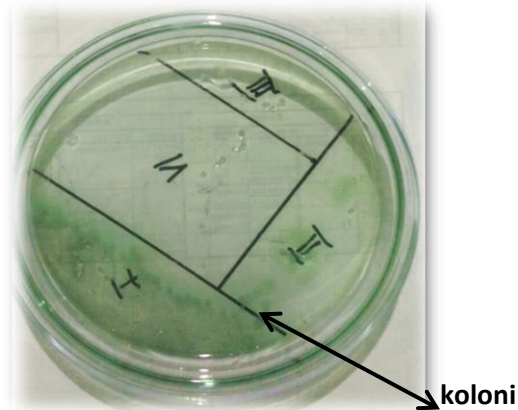
Hasil fraksi air yang didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain karena beberapa senyawa dalam daun cabai rawit bersifat polar. Hasil dari proses fraksinasi dengan etil asetat sedikitit dibandingkan dengan yang lainnya karena tidak semua senyawa terpisahkan dengan baik. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) berbeda. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena ekstrak banyak yang menempel pada wadah dan corong pisah dan kurangnya kekentalan ekstrak untuk proses fraksinasi.

8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih tiga ose bakteri uji kemudian dipindahkan kedalam tabung yang berisi media BHI lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 jam, selanjutnya divortek dan disetarakan kekeruhan suspensi bakteri sama dengan standar *Mc Farland* 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ ml. Jika kekeruhan belum sesuai standar maka dilakukan pengenceran 1:1000, selanjutnya digunakan untuk identifikasi.

9. Hasil identifikasi bakteri uji

9.1 Identifikasi bakteri secara goresan. Identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, biakan *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi pada media selektif *Pseudomonas Seletif Agar* (PSA) dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Penampakkan koloninya yang berwarna hijau kebiruan dari enzim pyocyanine, koloni berbentuk bulat dan halus. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara inokulasi dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara inokulasi

9.2 Identifikasi bakteri uji secara biokimia. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 6.

Tabel 7. Hasil identifikasi biokimia pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pengujian	Hasil	Pustaka
KIA	K / K S(-)	K / K S(-)
SIM	- - +	- - +
LIA	K / K S(-)	K / K S(-)
Sitrat	+	+

Keterangan :

SIM : *Sulfida Indol Agar*

KIA : *Kliger Iron Agar*

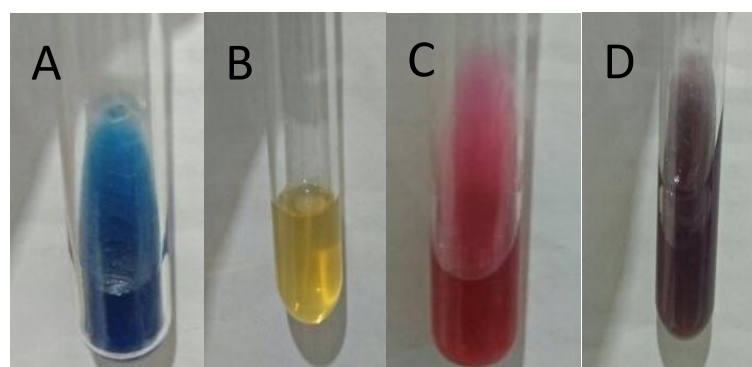
LIA : *Lysine Iron Agar*

K : merah (pada media KIA)

A : terbentuk warna kuning

K : terbentuk warna ungu (pada media LIA)

S(-) : tidak terbentuk warna hitam



Gambar 6. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* secara biokimia

Keterangan:

A : Sitrat

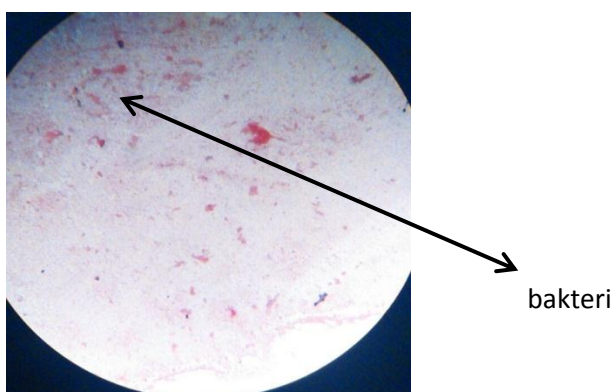
B : SIM

C : KIA

D :LIA

Hasil pengamatan pada media SIM (*Sulfida Indol Motility*) menunjukkan sulfida (-) karena tidak terbentuk warna hitam pada medium *Sulfida Indol Motility* yang artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfat (H_2SO_4). Indol (-) karena setelah ditambah reagen Erlich A dan B diatas media, diamati permukaan media tidak berwarna merah artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon, motilitas (+) karena pertumbuhan bakteri yang menyebar pada tusukan. Pengamatan pada medium KIA (*Kliger's Iron Agar*) bagian lereng berwarna merah (K) yang artinya bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, bagian dasar berwarna merah (K), dan sulfida (-) karena tidak menghasilkan warna hitam. Tabung yang berisi medium LIA (*Lysin Iron Agar*) diperoleh hasil bagian lereng media berwarna ungu (K), bagian dasar berwarna ungu (K), dan sulfida (-) karena *Pseudomonas aeruginosa* tidak mampu mendeaminasi lisin dan tidak menghasilkan H_2S . Tabung yang berisi medium sitrat positif berwarna biru, artinya *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan Sitrat sebagai sumber tunggal. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

9.3 Identifikasi bakteri secara morfologi. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sel Gram negatif sehingga sel bakteri kehilangan warna oleh alkohol. Sel-sel Gram negatif yang tidak berwarna akan berwarna merah saat diberikan safranin (pewarna merah). Hasil identifikasi secara morfologi dapat dilihat pada gambar 7



Gambar 7. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* secara morfologi

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi hasil daun cabai rawit secara difusi.

Pengujian ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fraksinasi yang didapatkan dari ekstrak etanolik yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabai rawit. Dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menggunakan metode difusi untuk mengetahui fraksi paling aktif. Pengujian aktivitas ekstrak dan fraksi-fraksi daun cabai rawit dilakukan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi larutan yang digunakan 80%. Pembanding kontrol positif kotrimoksazol 4,8%. Kontrol negatif yaitu DMSO 5%. Perhitungan pembuatan larutan dapat dilihat pada lampiran 14 dan 15.

Konsentrasi 80% adalah konsentrasi yang digunakan dalam metode ini. Konsentrasi 80% digunakan berdasarkan hasil penelitian dari Rahim (2015) telah membuktikan bahwa pada konsentrasi 70% dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 80% digunakan untuk memperoleh hasil zona hambat pada metode difusi. kelompok uji yang sudah dibuat konsentrasinya dibandingkan dengan kontrol positif kotrimoksazol 4,8%, konsentrasi kotrimoksazol yang digunakan yaitu 4,8% dengan harapan tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok uji dengan kontrol positif. Hasil yang didapat pada metode difusi yaitu fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif.

Pembuatan suspensi dan jumlah bakteri disesuaikan dengan kekeruhan *McFarland* 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Bonang & Koeswardono 1982). Masa inkubasi pengujian aktivitas selama 24 jam pada suhu 37°C. Ada tidaknya diameter zona hambat yang teramati diukur dalam ukuran mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia daun cabai rawit memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, fraksi air dari ekstrak etanolik daun cabai rawit terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Tabel 8. Diameter zona hambat uji aktivitas antibakterin daun cabai rawit secara difusi

Kandungan uji	Konsentrasi	Diameter hambatan (mm)			Rata-rata	SD
		Replikasi				
		I	II	III		
Ekstrak	80%	13	12	13	12,7	±0,04
<i>n</i> -Heksan	80%	8	9	9	8,7	±0,04
Etil asetat	80%	17	17	18	17,3	±0,04
Air	80%	9	8	8	8,3	±0,04
Kontrol positif (+)	80%	20	22	21	21	±1
Kontrol negatif (-)	80%	0	0	0	0	0

Keterangan:

Kontrol (+) : Kotrimoksazol

Kontrol (-) : DMSO 5%

Pengujian ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 mempunyai daya hambat seperti pada tabel 8. Ini membuktikan bahwa ekstrak daun cabai rawit mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit secara dilusi.

Fraksi etil asetat daun cabai rawit merupakan fraksi teraktif. Fraksi etil asetat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode dilusi. Metode dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Pengujian aktivitas fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun cabai rawit dilakukan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi larutan masing-masing 80%; 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%.

Jumlah bakteri yang digunakan Standart *Mc Farland* 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa* KBM yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung dan diinokulasikan pada medium agar dalam cawan petri dengan tidak atau adanya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada medium.

Pengenceran konsentrasi dari 80% sampai 0,165% pada tabung reaksi dilakukan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Hasil

penelitian menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sulit diamati karena fraksi etil asetat yang berwarna, sehingga sulit dibedakan antara yang keruh atau tidak.

Tabel 9. Konsentrasi hambat uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit secara dilusi

No	Konsentrasi (%)	Replikasi inokulasi fraksi etil asetat		
		I	II	III
1	80	-	-	-
2	40	+	+	+
3	20	+	+	+
4	10	+	+	+
5	5	+	+	+
6	2.5	+	+	+
7	1.25	+	+	+
8	0,625	+	+	+
9	0,313	+	+	+
10	0,156	+	+	+
11	Kontrol (+)	+	+	+
12	Kontrol (-)	-	-	-

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Fraksi etil asetat daun cabai rawit

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan 3 kali ulangan, tabung reaksi yang berisi bakteri pseudomonas dan fraksi etil asetat cabai rawit diinokulasi pada medium *Pseudomonas Selektif Agar* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat adalah 80%. konsentrasi 40% tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Bakteri masih tumbuh pada pengenceran 40% tidak berarti bahwa konsentrasi tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri tetapi ada kemungkinan bahwa aktivitas antibakteri pada konsentasi 40% bersifat bakteriostatik. konsentrasi 20% sampai 0,156 memberikan hasil positif yang berarti senyawa antibakteri pada daun cabai rawit tidak berfungsi sebagai antibakteri.

12. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat daun cabai rawit

Fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif karena memiliki diameter zona hambat paling luas. Dilakukan identifikasi kandungan untuk mengetahui kandungan fraksi etil asetat. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Identifikasi fraksi etil asetat

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Steroid	Warna hijau	Reaksi positif ditandai dengan warna biru (Ngajow <i>et al.</i> 2011).	(-)
Alkaloid	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan ketika ditambahkan reagen wagner (Resmi <i>et al.</i> 2011).	(+)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa hilang.	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)
Tanin	Warna hijau atau biru kehitaman.	Terbentuk warna hijau atau biru kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

Kandungan dalam ekstrak adalah steroid, alkaloid, saponin dan tanin. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan sifat kepolaran pelarut, sehingga pada saat proses fraksinasi senyawa-senyawa akan terpisah sesuai dengan kepolarannya. Identifikasi fraksi medapatkan hasil steroid (-). Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat semi polar, sehingga pada identifikasi kandungan uji fraksi etil asetat positif (+) mengandung alkaloid. Saponin terkandung di dalam fraksi etil asetat hasil (+). Tanin bersifat polar dan uji kandungan fraksi etil asetat positif (+) mengandung tanin.

Saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas steroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid. Mekanisme antibakteri senyawa triterpenoid adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Bobbarala 2012). Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang lebih tipis dari Gram Positif sehingga senyawa saponin lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram Negatif.

Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang memberikan rasa pahit. Alkaloid berfungsi sebagai antibakteri, senyawa ini mempunyai mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati (Robinson 1995).

Tanin memiliki persenyawaan fenol yang memiliki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam mengaktifkan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Bakteri semakin banyak mengandung lipid maka dibutuhkan konsentrasi tinggi untuk membuat bakteri tersebut lisis (Siregar *et al.* 2012).

13. Analisis data secara ANOVA *one way*

Perhitungan statistik yang digunakan adalah anova *one way*, digunakan anova *one way* untuk membandingkan kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari daun cabai rawit.

Perhitungan Kolmogorov-Smirnov diperoleh Signifikansi = $0,816 > 0,05$ (H_0 diterima), disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan ANOVA *one way*. Hasil tabel anova dalam dasar pengambilan keputusan (nilai probabilitas), terlihat nilai $F = 407,800$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka ekstrak, fraksi, kontrol positif dan negatif memang berbeda nyata. Uji *Tukey*, tanda * ada di angka *Mean Difference*, maka terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil tabel *Multiple Comparisons* terlihat perbedaan tidak signifikan pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, air, dan kontrol positif serta kontrol negatif nampak ada perbedaan signifikan.

Hasil anova *one way* pada fraksi etil asetat serta kontrol positif nampak tidak ada beda nyata. Kesimpulan fraksi etil asetat masih memiliki kemampuan antibakteri yang kecil dibandingkan dengan kontrol positif, perlunya isolasi etil asetat untuk mengetahui senyawa yang potensial sehingga menyamai kemampuan antibakteri dari kotrimoksazol dengan konsentrasi yang sama. Hasil data statistik dapat dilihat pada lampiran 17.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, konsentrasi hambat minimum (KHM) tidak dapat diamati dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) fraksi etil asetat dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dalam menghambat dan membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 80%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang identifikasi dan isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat daun cabe rawit yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode yang lebih baik untuk mengetahui efek antibakteri dari daun cabai rawit.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam bidang lain seperti farmakologi dan toksikologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed – 4. Jakarta: Universitas. Indonesia. hlm 60-65.
- Bobbarala, V. 2012. *Antimicrobial Agents*. Intech, Croatia
- Bonang, G., dan Koeswardono, 1982, *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*, PT. Gramedia, Jakarta, hlm 9,77-78,136,176-191.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 5-10.
- Dwidjoseputro, 1978. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Fatimah, Cut., Harahap Urip, Sinaga Isma. 2006. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus wild*) Secara In Vitro”. *Jurnal Ilmiah PANNMED*.1(1):1-8.
- Ganiswarna SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwastyastuti, Nafrialdi, editor. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-4. Jakarta: FK UI.
- Goodman & Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*, Jakarta : penerbit Buku Kedokteran EGC, HLM 1154 -1157.
- Gowri S, Vashanta K 2010. Phytochemical screening and antibacterial activity of *syzygium cumini* (L.) (*Myrtaceae*) leaves extracts. *International Journal of pharmtech Reaserc (JPRIF)*. 2: 1569-1573.
- Fauziyya R, Nurani H, Sulistyani N,. 2017. Penelusuran senyawa aktif antibakteri ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan Mekanisme Kebocoran Sel. *Trad. Med. J.*, September. 22:3.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Yogyakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan SG. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. hlm 585-587.
- Gurnania N., Guptab M., Mehtaa D., Mehtaa Bhupendra K. 2016. Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and *in vitro*

antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). *ScienceDirect* 10: 462-470.

Heath, HB dan G. Reineocius, 1986, *Flavor Chemistry and Technology*, Publishing Co. Inc, Westport, Connecticut. 245 p.

Hadioetaomo, R.S. 1985. *Mikroologi Dasar Dalam Praktek Teknik Dan Praktek Dasar Laoratorium*. PT Gramedia, Jakarta, Hlm 42-44.

Harbone JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung.hlm 102-103,105. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*.

Haryanto, Sugeng. 2012. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall. Hal 118.

Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Penerjemah; Amalia H.H. Jakarta: EGC. Hlm 165.

Jawetz. E, melnick., J.L, Adelberg. E.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. 23 Th Ed. Elferia NR, penerjemah; Jakarta. Hlm 170, 225-228, 266-270.

Jawetz. E, melnick., J.L, Adelberg. E.A. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. 25 Th Ed. Elferia NR, penerjemah; Jakarta. Hlm 228-242.

Jawetz E, Melnick JL, dan Adelberg EA. 1986. *Review of Medical Mikrobiology*. Ed ke 16, penerjemah; Gerard Bonang. Jakarta: EGC. Hlm 239, 241—243.

K.S. Vinayaka, K.C. Nandini, M.N. Rakshitha, M. Ramya, J.Shruthi, S.V. Hegde, T.R.P. Kekuda, dan H.L. Raghavendra. 2010. Proximate composition, antibacterial and anthelmintic activity of *Capsicum frutescens* (L.) Var. Longa (Solanaceae) Leaves, *Phar-macogn. J. 2* : 486–491.

Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 1: 38-46.

Kurniawati E. 2015. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata* 2: 83-90.

Lestari A.P., Rosyid A., Wahyudin I. 2016. Aktivitas ekstrak daun cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara invitro. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 1: 1-6.

Mayasari. A. 2005. *Pseudomonas aeruginosa*: Karakteristik infeksi dan penanganan. *Departemen Mikroiologi Fakultas Kedokteran*. Universitas

- Sumatra Utara. Medan. Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan VII*:361-367.
- Mustanir, Fahrizal H., Nurhaidah, Saidi Nurdin. 2013. Antifungal ekstrak *n*-Heksan tumbuhan obat di Aceh terhadap *Candida albicans*. *J. Ind. Soc. Integ. Chem* 7: 7-14.
- Natalia, L., 2008, *Pseudomonas aeruginosa*, penyebab infeksi nosokomial, <http://mikroba.files.wordpress.com/2008/05>, diakses 16 Januari 2017.
- Ngajow Mercy, Jemmy A, Vanda S K. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang mataoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2:128-132.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Purba, Priska Noviana. 2013. *Uji Sensitifitas Antibiotik Siprofloksasin, Amikasin, Sefepim, dan piperasilin Tazobactam terhadap pseudomonas sp. Hasil Isolasi dari Urin Pasien Infeksi Saluran Kemih di RS PKU Muhammadiyah Surakarta Bulan Maret-April Tahun 2013*. Skripsi. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setiabudi Surakarta.
- Putri ayu A., Rasyid R., Rahmatini. 2011. Perbedaan sensitivitas kuman *Pseudomonas Aeruginosa* penyebab infeksi nosokomial terhadap beberapa antibiotika generik dan paten. *Jurnal Kesehatan Andalas* 3: 327-331.
- Rahim A. *et al.* 2016. Efektifitas antibakteri ekstrak etanolik daun cabai rawit (*Capsicum frutescens L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aereus* dengan metode difusi: uji pendahuluan potensi tanaman obat tradisional sebagai alternative pengobatan infeksi saluran pernafasan. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*: I:2.
- Ramyashree, M. *et al.* 2012, Ethnomedicinal value of *Opuntia elatior* fruits and its effects in mice. *Journal of Pharmacy Research* 5:4554-4558.
- Resmi, M. 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Widya Padjajaran, Antapani, Bandung.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padwawinata, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 157.
- Rukmana, H.R., 2002, *Usaha Tani Cabai Rawit*, Kanisius: Yogyakarta.
- Rukmono, Prambudi dan Reni Zuraida. 2013. *Uji Kepekaan Antibiotik terhadap Pseudomonas aeruginosa penyebab sepsis neonatorum*. Bandar Lampung : Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

- Saraswati I. GAE, Pharmawati M, Junitha I. K. 2012. Karakter morfologi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang dipengaruhi sodium azida pada fase generatif generasi M1 . *Jurnal Biologi*. XVI : 23 – 26.
- Siregar, A.F, Agus Sabdono, Delianis Pringgenies. 2012. “Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis* dan *Micrococcus luteus*”. *Jurnal of Marine Research* Volume 1, Nomor 2, Tahun 2012, Hal 152-160.
- Siwi DP. 2012. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan tertrasiklin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebsitif dan multiresisten antibiotik. [Publikasi]. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Suriawiria U. 1986. *Mikroiologi Dasar*. Jakarta: Papus Sinar Sinanti.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extractoin. *Internationale Pharmaceutica Sciecia* 1:98-106.
- Todd, P., Bensinger & Biftu. 1977. Determination of Pugency due to Capsicum by Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*, 42(3), 660-664.
- Usman Fadillah H., Yusro F., Tavita G. E., Sisilia L. 2013. Identifikasi jenis-jenis tumbuhan berkhasiat obat di jalan parit H. Husin 2 Kecamatan Pontianak Tenggara.<http://extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojofohoefgiehjai/index.html> diakses 18 Januari 2017.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Ed ke-5. Soendani Noerono Soewandi, penerjemah; Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Hlm 561, 564. Terjemahan dari: *Pharmaceutical Technology Textbook*.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang. UMM pers.
- Yunita. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Teraktif. *Skripsi*. Jakarta : Universitas Indonesia

L

A

M

P


I

R

A

N

Lampiran 1. Determinasi daun cabai rawit



**UNIVERSITAS
SETIA BUDI**
UPT- LABORATORIUM

No : 179/DET/UPT-LAB/15/1V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Anastasia Gobay
NIM : 19133976 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

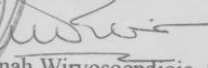
Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Cabe Rawit (*Capsicum frutescens L.*)**


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 – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179b – 187b – 189b – 190b – 191a. familia 111. Solanaceae. 1b – 3b – 5b – 6b – 7a. 7. Capsicum. 1b. *Capsicum frutescens L.*

Deskripsi :

Habitus : Herba menahun, tegak, bercabang lebar, tinggi 0,5 – 1,5 m.
Akar : Sistem akar tunggang.
Batang : Percabangan monopodial, berkayu.
Daun : Tunggal, tersebar, tangkai 1,1 – 2,1 cm, helaian daun bulat telur memanjang atau bulat telur sampai lanset, pangkal runcing, ujung menyempit, panjang 5,1 – 6,8 cm, lebar 2,9 – 3,5 cm.
Bunga : Di ujung atau di ketiak; berdiri sendiri atau 2 lebih bersama-sama, tangkai tegak dengan ujung mengguguk. Kelopak bentuk lonceng dengan 5 gigi kecil, dibawah buah membesar. Mahkota bentuk roda, berbagi 5 dalam, taju runcing, putih kehijauan. Kepala sari ungu.
Buah : Buah buni, bulat telur memanjang, tegak, waktu muda hijau, setelah tua merah, rasanya sangat pedas.
Biji : Bulat, pipih, kuning muda.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978); *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surabaya, 15 April 2017
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.



Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Foto tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)



Tanaman cabai rawit



Daun kering cabai rawit



Serbuk daun cabai rawit

Lampiran 3. Foto ekstrak dan fraksi daun cabai rawit



Ekstrak etanol daun cabai rawit



Perkolator



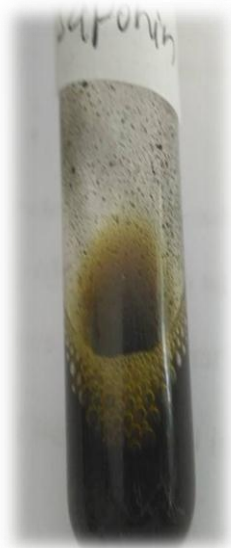
Replikasi fraksinasi



Corong pisah untuk proses fraksinasi

Lampiran 4. Alat penelitian*Mositure balance**Rotary evaporator***Oven****Vortek**

Lampiran 5. Foto uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia.



Uji steroid



Uji saponin



Uji alkaloid

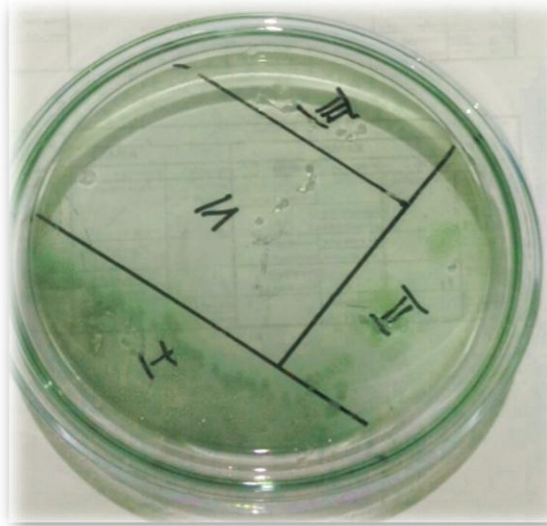


Uji bebas etanol

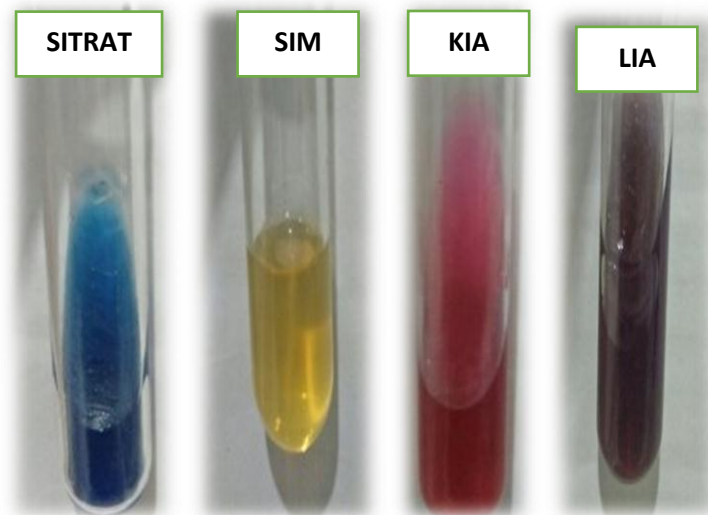


Uji tanin

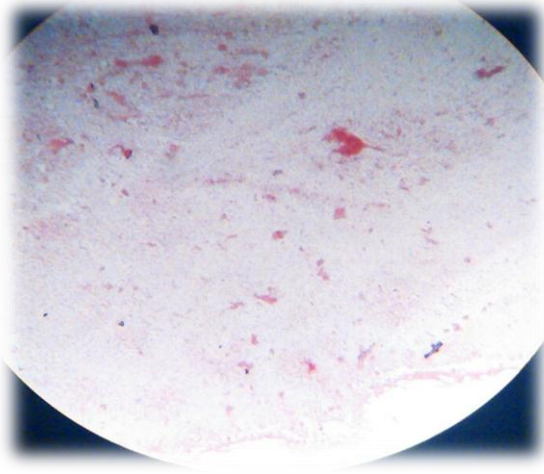
Lampiran 6. Foto hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA

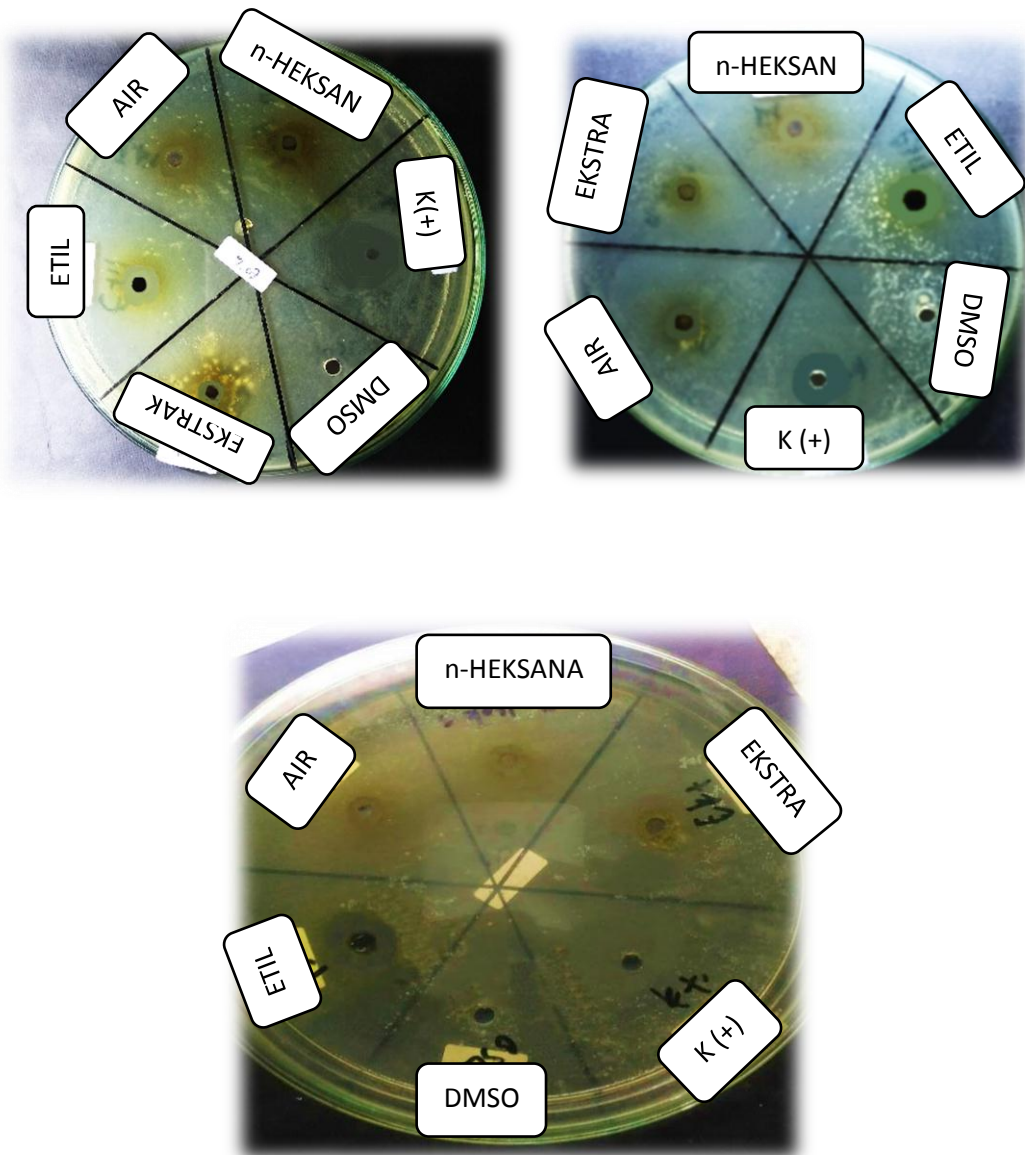


Uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Identifikasi bakteri secara morfologi.

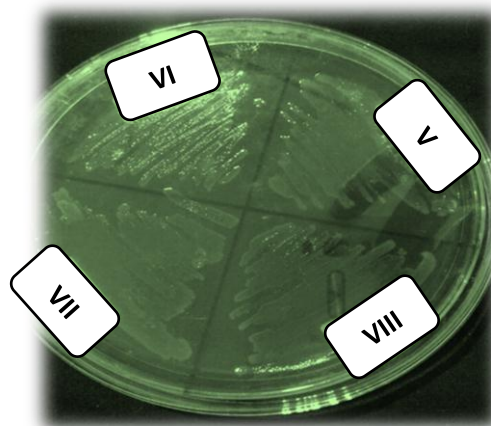
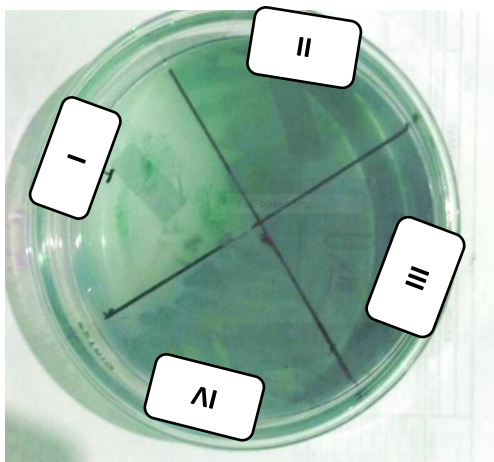
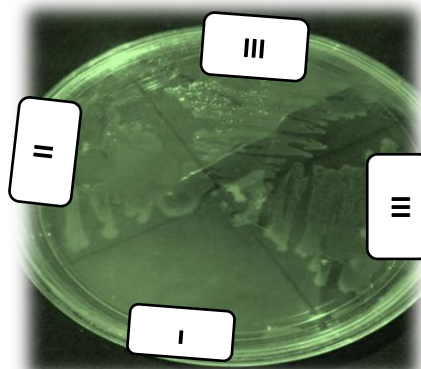
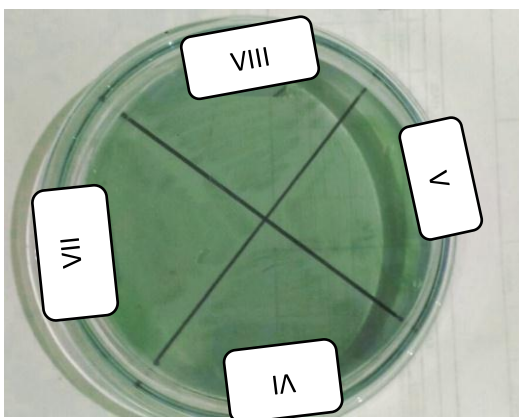
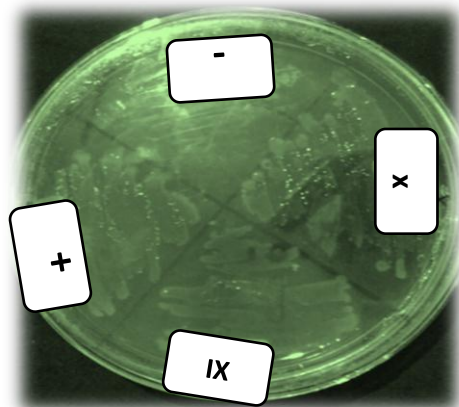
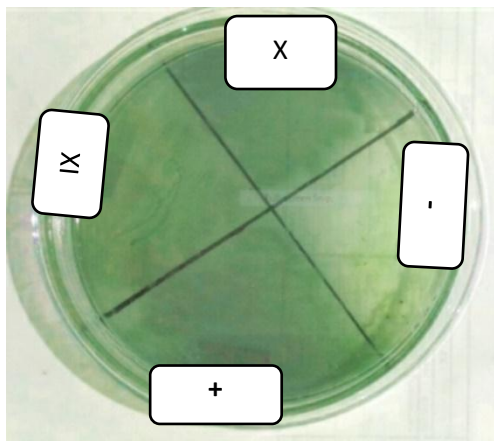
Lampiran 7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun cabai rawit terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi.

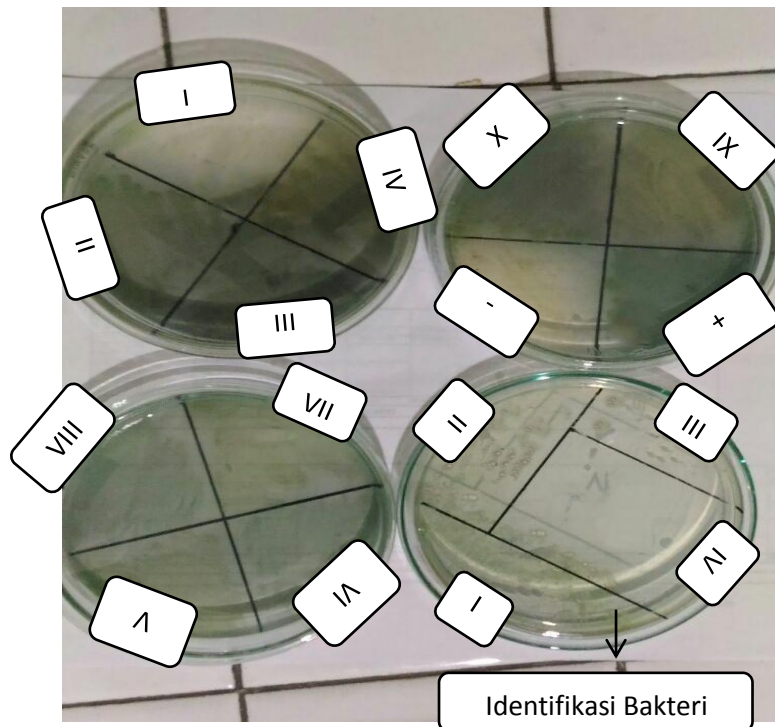


Lampiran 8. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun cabai rawit terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi



Foto pengenceran tabung ekstrak etanol terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 .





Inokulasi fraksi daun cabai rawit terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA.

Lampiran 9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah	Bobot kering	Rendaman
3000	700	23,33

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah sebagai berikut

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{700 \text{ (g)}}{3000 \text{ (g)}} \times 100\% = 23,33\%$$

Maka persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 23,33%.

**Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun cabai rawit
(*Capsicum frutescens* L.)**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
700	299,86	42,83

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

$$\text{Rendemen ekstrak etanol} = \frac{299,86 \text{ g}}{700 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 42,83\%$$

**Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari cabai rawit
(*Capsicum frutescens* L.)**

Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksana daun cabai rawit

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10	1,211	12,11
10	1,213	12,13
10	1,208	12,08
Persentase rendemen rata-rata		12,11

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{1,211 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 12,11\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,213 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 12,13\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,208 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 12,08\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 12,08%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan:

x = persentase

\bar{x} = rata-rata persentase

n = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, \bar{x} adalah data yang dicurigai.

x	\bar{x}	$d= x - \bar{x} $	d^2
12,11		0	0
12,13	12,11	0,02	0,0004
12,08		0,03	0,0009
			$\Sigma= 0,0013$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{0,0013}{3-1}}$$

$$\text{SD} = 0,026$$

$$2\text{SD} = 0,052$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{12,11+12,13}{2} = 12,12$$

Data ditolak apabila $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, yang dicurigai $|12,08 - 12,12| = 0,04 < 2\text{SD}$ maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi n -heksana dari daun cabai rawit adalah

$$\frac{12,11+12,13+12,08}{3} = 12,11\% \text{ b/b}$$

**Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun cabai rawit
(*Capsicum frutescens* L.)**

Rendemen hasil fraksinasi etil asetat daun cabai rawit

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10	0,916	9,16
10	0,914	9,14
10	0,916	9,16
Persentase rendemen rata-rata		9,15

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{0,916 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 9,16\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{0,914 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 9,14\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{0,916 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 9,16\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 9,14%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan:

x = persentase

\bar{x} = rata-rata persentase

n = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, \bar{x} adalah data yang dicurigai.

x	\bar{x}	$d= x - \bar{x} $	d^2
9,16		0,01	0,0001
9,14	9,15	0,01	0,0001
9,16		0,01	0,0001
			$\Sigma= 0,0003$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{0,0003}{3-1}}$$

$$\text{SD} = 0,012$$

$$2\text{SD} = 0,024$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{9,16 + 9,16}{2} = 9,16$$

Data ditolak apabila $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, yang dicurigai $|9,14 - 9,16| = 0,02 < 2\text{SD}$ maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat dari daun cabai rawit adalah

$$\frac{9,16 + 9,14 + 9,16}{3} = 9,15\% \text{ b/b}$$

**Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi air dari daun cabai rawit
(*Capsicum frutescens* L.)**

Rendemen hasil fraksinasi air daun cabai rawit

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10	5,343	53,43
10	5,342	53,42
10	5,340	53,40
Persentase rendemen rata-rata		53,42

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{5,343 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 53,43\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{5,342 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 53,42\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{5,340 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100\% = 53,40\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 53,40%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan:

x = persentase

\bar{x} = rata-rata persentase

n = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, \bar{x} adalah data yang dicurigai.

x	\bar{x}	$d= x - \bar{x} $	d^2
53,43		0,01	0,0001
53,42	53,42	0	0
53,40		0,02	0,0004
			$\Sigma= 0,0005$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{0,0005}{3-1}}$$

$$\text{SD} = 0,016$$

$$2\text{SD} = 0,032$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{53,43 + 53,42}{2} = 53,425$$

Data ditolak apabila $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$, yang dicurigai $|53,40 - 53,425| = 0,025 < 2\text{SD}$ maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi air dari daun cabai rawit adalah

$$\frac{53,43 + 53,42 + 53,40}{3} = 53,41\% \text{ b/b}$$

Lampiran 14. Pembuatan larutan konsentrasi 80%

Ekstrak dan fraksi daun cabai rawit

Pembuatan konsentrasi 80%

Ditimbang 4 gram ekstrak dan fraksi dimasukkan ke dalam vial,
kemudian tambahkan DMSO 5% ad 5 mL

Lampiran 15. Perhitungan kotrimoksazol

Larutan stok kotrimoksazol = 240 mg/5 mL suspensi
= 4,8 g/100 mL
= 4,8%

Lampiran 16. Hasil uji identifikasi fraksi etil asetat

Uji tanin



Uji alkaloid



Uji saponin



Uji steroid

Lampiran 17. Uji statistik

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	11,28
	Std. Deviation	6,850
Most Extreme Differences	Absolute	,149
	Positive	,117
	Negative	-,149
Kolmogorov-Smirnov Z		,634
Asymp. Sig. (2-tailed)		,816

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ektrak etanol	3	12,33	,577	,333	10,90	13,77	12	13
fraksi n-heksan	3	9,33	,577	,333	7,90	10,77	9	10
etil asetat	3	16,67	,577	,333	15,23	18,10	16	17
Air	3	8,33	,577	,333	6,90	9,77	8	9
kontrol positif	3	21,00	1,000	,577	18,52	23,48	20	22
kontrol negatif	3	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	18	11,28	6,850	1,614	7,87	14,68	0	22

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	792,944	5	158,589	407,800	,000
Within Groups	4,667	12	,389		
Total	797,611	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter

Tukey HSD

(I) kandunganuji	(J) kandunganuji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol	fraksi n-heksan	3,000*	,509	,001	1,29	4,71
	etil asetat	-4,333*	,509	,000	-6,04	-2,62
	Air	4,000*	,509	,000	2,29	5,71
	kontrol positif	-8,667*	,509	,000	-10,38	-6,96
	kontrol negatif	12,333*	,509	,000	10,62	14,04
fraksi n-heksan	ekstrak etanol	-3,000*	,509	,001	-4,71	-1,29
	etil asetat	-7,333*	,509	,000	-9,04	-5,62
	Air	1,000	,509	,413	-,71	2,71
	kontrol positif	-11,667*	,509	,000	-13,38	-9,96
	kontrol negatif	9,333*	,509	,000	7,62	11,04
etil asetat	ekstrak etanol	4,333*	,509	,000	2,62	6,04
	fraksi n-heksan	7,333*	,509	,000	5,62	9,04
	Air	8,333*	,509	,000	6,62	10,04
	kontrol positif	-4,333*	,509	,000	-6,04	-2,62
	kontrol negatif	16,667*	,509	,000	14,96	18,38
Air	ekstrak etanol	-4,000*	,509	,000	-5,71	-2,29
	fraksi n-heksan	-1,000	,509	,413	-2,71	,71
	etil asetat	-8,333*	,509	,000	-10,04	-6,62
	kontrol positif	-12,667*	,509	,000	-14,38	-10,96
	kontrol negatif	8,333*	,509	,000	6,62	10,04
kontrol positif	ekstrak etanol	8,667*	,509	,000	6,96	10,38
	fraksi n-heksan	11,667*	,509	,000	9,96	13,38
	etil asetat	4,333*	,509	,000	2,62	6,04
	Air	12,667*	,509	,000	10,96	14,38
	kontrol negatif	21,000*	,509	,000	19,29	22,71
kontrol negatif	ekstrak etanol	-12,333*	,509	,000	-14,04	-10,62
	fraksi n-heksan	-9,333*	,509	,000	-11,04	-7,62
	etil asetat	-16,667*	,509	,000	-18,38	-14,96
	Air	-8,333*	,509	,000	-10,04	-6,62
	kontrol positif	-21,000*	,509	,000	-22,71	-19,29

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

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

Kandungan uji	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kontrol negatif	3	,00				
Air	3		8,33			
fraksi n-heksan	3		9,33			
ekstrak etanol	3			12,33		
etil asetat	3				16,67	
kontrol positif	3					21,00
Sig.		1,000	,413	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 18. Formulaasi dan pembuatan media

1. Formulaasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Infus dari otak sapi	200,0 gram
Infus dari hati sapi	250,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Dektrosa	2,0 gram
NaCl	5,0 gram
Dinatrium fosfate	5,0 gram
Aquadestilata	ad 1000,0 mL
pH	7,4

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 1000 mL dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Formulaasi dan pembuatan *Pseudomonas Selektiv Agar* (PSA)

Peptone from gelatin	20 gram
Magnesium chloride	1,4 gram
Potasium sulfat	10 gram
N-cetyl-N,N,N,N-trimethylammonium bromide	0,5 gram
Agar – agar	13,6 gram
pH	7,2 ± 0,2

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

3. Formulaasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion from	300,0 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar-agar	17,0 gram
Aquadestilata	ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

4. Formulasi dan pembuatan *Sulfida Indol Mortility* (SIM)

Pepton from casein	20 gram
Pepton from meat	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	0,2 gram
pH	7,3 ± 0,1
Aquadestilata	ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Meat extract	3,0 gram
Yeast extract	3,0 gram
Peptone from casein	15,0 gram
Peptone from meat	5,0 gram
Lactose	10,0 gram
D(+) glucose	1,0 gram
Ammonium iron (III) citrate	0,5 gram
Sodium chloride	5,0 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar-agar	12,0 gram
pH	7,4 ± 0,1
Aquadestilata	ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Peptone from maet	5,0 gram
Yeast extract	3,0 gram
D(+) glucose	1,0 gram
L-lysine monohydrochloride	10,0 gram
Sodium thioslfate	0,04 gram
Ammonium iron (III) citrate	0,5 gram
Bromocresol purple	0,02 gram
Agar-agar	12,5 gram
pH	6,7 ± 0,1
Aquadestilata	ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

7. Formulasi dan pembuatan Citrat

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
DI- postassium hydrogen fosfate	1 g
Sodium chloride	5 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000
ml, pH = 7,4	

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).