

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN WANGON (*Olax scandens* Roxb.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Lilik Wandari
20144131A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN WANGON (*Olax scandens* Roxb.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Lilik Wandari
20144131A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN WANGON (*Olex scandens* Roxb.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :

Lilik Wandari
20144131A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 3 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing,

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

Dra. Nony Puspawati, M.Si.

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Drs. Mardiyono, M.Si
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

1.

2.

3.

4.

PERNYATAAN

Dengan ini 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, Juni 2018



Lilik Wandari

HALAMAN PERSEMBAHAN



Sembah sujud dan rasa syukur alhamdulillah hamba panjatkan kehadiran-Mu Ya Allah atas taburan cinta dan kasih sayang-Mu yang telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan rasa sabar, keuletan, dan kemudahan dalam menyelesaikan skripsi yang sederhana ini. Shalawat serta salam tak lupa hamba haturkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW atas perjuangan dan suri tauladan yang engkau berikan.

Kupersembahkan karya sederhana ini untuk orang yang sangat kukasihi dan sayangi

- ❖ Bapak dan ibuku (sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya sederhana ini kepada bapak dan ibu yang telah memberikan segala doa, cinta, kasih sayang serta dukungan yang takkan pernah bisa terbalaskan hanya dengan selembar kertas kata cinta dan persembahan, semoga ini menjadi awal bahagia untuk bapak dan ibu).
- ❖ Adikku Akvin Muhaimin Ghofar dan Daffa Shodiq (untuk ungkapan rasa sayang dan banggaku).
- ❖ Keluarga besar Mbah Sairin dan Mbah Suginem (terima kasih telah mendoakanku)
- ❖ Teman-teman liqo' Ainul Marwah, sahabatku : Shohibul Fosmi, Solcan Solgan, dan keluarga besar FOSMI terima kasih atas doa nasehat, perhatian, kesabaran serta dukungan dan bantuannya selama ini, semoga persahabatan ini tak hanya didunia saja tapi juga sampai ke syurga Allah kelak.
- ❖ Keluarga kos pondok peni terima kasih untuk kebersamaannya selama ini.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI n-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN WANGON (*Olax scandens* Roxb.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** ini dengan baik.

Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat maupun bidang kesehatan. Selama proses pembuatan skripsi banyak hal yang didapatkan oleh penulis, bimbingan serta arahan dari berbagai pihak yang sangat membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini menjadi hal yang sangat berharga, maka pada kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU.,MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Reslely Harjanti, S. Farm., M.Sc., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberi dukungan, nasehat, petunjuk dan pengarahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
7. Kedua orang tuaku Bapak Pardi dan Ibu Harnanik serta kedua adikku Akvin Muhaimin Ghofar dan Daffa Shodiq tercinta atas do'a, kasih sayang, cinta, semangat dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman Pondok Peni : Nofika, Fitri, Ofy. Group pejuang skripsi : Desi, Damas, Elis, Rika yang selalu memberi semangat dan dukungan.
9. Buat FOSMI tercinta, Solcan Solgan, Shohibul FOSMI, dan Azmil Hasnah : Aswadi , Alka, Kiki, Fitri.
10. Teman KKN Tematik kelompok 2 : Caesar, Putri, Ovi, Andi, Maria, Mario, Elya, Tutik, Anggun, Resa, Yasmine, Evyta, Ayu, Ratna, dan Cointha.
11. Teman-teman Farmasi Teori 3 & FKK 3 yang berjuang bersama, semangat buat langkah selajutnya.
12. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu yang telah membantu penelitian.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pertimbangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Wabillahittaufik walhidayah wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI.....	xi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	2
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Wangon	5
1. Sistematika tumbuhan.....	5
2. Nama umum.....	5
3. Deskripsi tanaman	5
4. Khasiat tanaman.....	6
5. Kandungan kimia tanaman	6
5.1 Saponin	6
5.2 Tanin	7
5.3 Flavonoid	7
5.4 Alkaloid	7
5.5 Steroid.....	7
5.6 Fenolik	7
6. Perkembangan penelitian antibakteri	7
B. Simplisia.....	8
1. Pengertian simplisia.....	8
2. Pengeringan simplisia	8
3. Pembuatan serbuk.....	9
C. Ekstraksi.....	9

1. Pengertian ekstraksi	10
2. Metode ekstraksi	10
3. Fraksinasi	10
4. Pelarut	10
4.1 Etanol	10
4.2 <i>n</i> -heksana	11
4.3 Etil asetat	11
4.4 Air	11
D. Sterilisasi	11
E. <i>Staphylococcus aureus</i>	12
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2. Morfologi	12
3. Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	12
4. Pengobatan <i>Staphylococcus aureus</i>	13
F. Antibakteri	13
1. Definisi	14
2. Mekanisme kerja antibiotik	14
2.1 Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel	14
2.2 Antibiotik yang merusak membran plasma	14
2.3 Antibiotik yang menghambat sintesis protein	14
2.4 Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA)	15
2.5 Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial ...	15
G. Metode uji aktivitas antibakteri	15
1. Difusi	15
2. Dilusi	16
H. Siprofloksasin	16
I. Media	16
J. Landasan teori	17
K. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Populasi dan sampel	20
1. Populasi	20
2. Sampel	20
B. Variabel penelitian	20
1. Identifikasi variabel utama	20
2. Klasifikasi variabel utama	20
3. Definisi operasional variabel utama	21
C. Alat dan bahan	22
1. Alat	22
2. Bahan	22
D. Jalannya penelitian	22
1. Determinasi tanaman wangon	22
2. Pengumpulan bahan	22
3. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun wangon	23

4. Penetapan susut pengeringan daun wangon	23
5. Pembuatan ekstrak etanol daun wangon	23
6. Tes bebas etanol daun wangon	24
7. Cara fraksinasi	24
8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan serbuk daun wangon	24
8.1 Alkaloid	24
8.2 Saponin	25
8.3 Tanin.....	25
8.4 Flavonoid.....	25
8.5 Fenolik.....	25
8.6 Steroid	25
9. Sterilisasi	25
10. Isolasi dan identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25
10.1 Isolasi bakteri.....	25
10.2 Identifikasi bakteri	25
10.2.1 Secara morfologi dengan pewarnaan Gram.....	26
10.2.2 Secara fisiologi dengan uji katalase dan uji koagulase.....	26
11. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	26
E. Pengujian aktivitas antibakteri.....	27
F. Analisis Hasil.....	28
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	30
A. Tanaman Wangon.....	30
1. Hasil determinasi tanaman wangon	30
2. Hasil pengumpulan bahan dan pengeringan sampel.....	30
3. Pembuatan serbuk wangon	31
4. Hasil susut pengeringan daun wangon	31
5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun wangon	32
6. Hasil tes bebas etanol.....	33
7. Hasil fraksinasi	33
8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun wangon	34
9. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	34
9.1 Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram	34
9.2 Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan uji koagulase	35
9.3 Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan uji katalase.....	35
10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	35

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan.....	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tanaman Wangon	5
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun wangon (<i>Olax scandens</i> Roxb.)	30
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air dari daun wangon (<i>Olax scandens</i> Roxb.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode difusi	31
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun wangon terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah	34
Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering	34
Tabel 3. Hasil susut pengeringan daun wangon	35
Tabel 4. Hasil rendemen pembuatan ekstrak etanol daun wangon.....	35
Tabel 5. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun wangon	36
Tabel 6. Hasil fraksinasi	36
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun wangon	37
Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> - heksana, etil asetat dan air dari daun wangon terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	39
Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman wangon (<i>Olax scandens</i> Roxb.).....	47
Lampiran 2. Gambar daun wangon dan serbuk daun wangon	48
Lampiran 3. Gambar alat yang digunakan	49
Lampiran 4. Gambar ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon	51
Lampiran 5. Gambar hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon	52
Lampiran 6. Gambar hasil identifikasi bakteri dan pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	54
Lampiran 7. Gambar larutan stok DMSO 5%, ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon	55
Lampiran 8. Hasil uji difusi DMSO 5%, ciprofloksasin, ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 menggunakan media MHA dan kertas cakram	56
Lampiran 9. Hasil uji dilusi dari fraksi yang paling efektif ekstrak daun wangon terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode pengenceran.....	57
Lampiran 10. Hasil goresan uji dilusi dar fraksi yang paling efektif ekstrak daun wangon terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	58
Lampiran 11. Hasil perhitungan rendemen bobot basah terhadap bobot kering daun wangon.....	59
Lampiran 12. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun wangon.....	59
Lampiran 13. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi daun wangon.....	59
Lampiran 14. Hasil perhitungan pembuatan larutan stok	60
Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media.....	62

Lampiran 16. Analisa data uji Anova fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanol daun ashitaba, kontrol positif dan negatif	64
---	----

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
PABA	Para Aminobenzoic Acid
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
tRNA	Transfer RNA
mRNA	Messenger RNA

INTISARI

WANDARI, L. 2018. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN WANGON (*Olox scandens* Roxb.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun wangon mengandung senyawa kimia seperti saponin, tanin, flavonoid, steroid dan fenol. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun wangon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Serbuk daun wangon diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak daun wangon yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Ekstrak etanol dan hasil fraksinasi diuji aktivitas antibakterinya menggunakan uji difusi dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 50%, 25%, dan 12,5% untuk mengetahui fraksi teraktif. Fraksi teraktif kemudian dilanjutkan uji dilusi dengan berbagai konsentrasi yaitu, 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098% untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi etil asetat adalah fraksi teraktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Konsentrasi 50% fraksi etil asetat memiliki diameter zona hambat dengan rata-rata yaitu 12,5 mm, Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat diketahui dan Konsentrasi Bunuh Minimum 25%.

Kata kunci : Wangon (*Olox scandens* Roxb.), antibakteri, fraksi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

ABSTRACT

WANDARI, L. 2018. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *n*-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE AND WATER FROM ethanolic EXTRACT OF WANGON LEAVES (*Olax scandens* Roxb.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. UNDERGRADUATED THESIS. FACULTY OF PHARMACY. SETIA BUDI UNIVERSITY. SURAKARTA.

The leaves of wangon contain chemical compounds such as saponins, tannins, flavonoids, steroids and phenolics. The research was aimed to find out antibacterial activity of ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate and wangon leaf water to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria.

Leaf powder of wangon was extracted using maceration method with 96% ethanol solvent. The extract of wangon leaves obtained was then fractionated using *n*-hexane and ethyl acetate solvents. The ethanol extract and fractionation extract were tested for their antibacterial activity using diffusion test with different concentrations of 50%, 25% and 12,5% for the most active fraction. The most active fraction was followed by dilution test with various concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.562%, 0.781%, 0.391%, 0.195%, 0.098% to know the Minimum Barrier Concentration (MBC) and Minimum Kill Concentration (MIC).

The result showed that ethanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate, and water from wangon leaves had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria. The ethyl acetate fraction is the most active fraction of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria. The concentration of 50% ethyl acetate fraction has an inhibitory zone diameter with an average of 12,5 mm, Minimum Barrier Concentration is was unknowable and Minimum Kill Concentration 25%.

Keywords: Wangon (*Olax scandens* Roxb.), Antibacterial, fraction *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi sampai sekarang masih menjadi masalah utama dalam bidang kesehatan terutama di Indonesia. Menurut WHO (2014) dari profil data kesehatan tahun 2012 penyakit infeksi termasuk dalam 10 besar penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi. Infeksi adalah invasi tubuh oleh patogen atau mikroorganisme yang mampu menyebabkan sakit. Bakteri adalah salah satu penyebab penyakit infeksi (Radji 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk bulat, Gram positif yang dapat menimbulkan penyakit dengan cara berkembang biak serta menyebar luas dalam jaringan melalui pembentukan zat ekstraseluler yaitu enterotoksin. *Staphylococcus aureus* bersifat patogen pada manusia karena kemampuannya dalam menimbulkan penyakit. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam anggota flora normal kulit dan selaput lendir manusia. Banyak zat antimikroba yang resisten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga dalam pengobatannya sering menimbulkan masalah (Jawetz *et al.* 1986).

Pemanfaatan tanaman obat dipercaya secara turun temurun sehingga dapat digunakan sebagai alternatif lain dan dapat dijadikan referensi untuk pengembangan obat di masa mendatang. Penggunaan tanaman sebagai obat juga salah satu alternatif untuk mengurangi tingkat resistensi terhadap antibiotik yang merupakan masalah besar, sehingga solusinya adalah dengan cara memanfaatkan sumber daya alam yang ada. Wangon merupakan tanaman sejenis perdu yang biasa tumbuh di sekitar hutan jati. Apabila pohon jati ini meranggas pada saat musim kemarau, maka tanaman wangon sedang memulai untuk pertumbuhan tunas dan menjadi setitik tanaman yang hijau di antara pohon jati yang meranggas. Tanaman wangon memiliki tinggi sekitar 1-2 meter, tanaman perdu yang hampir mirip dengan beluntas ini juga memiliki ukuran daun yang hampir sama dengan beluntas tetapi warnanya lebih hijau dan kesat. Tanaman wangon sering dimanfaatkan oleh masyarakat desa yang berada di sekitar hutan jati sebagai sayuran di tengah

susahnya mencari sayur pada saat musim kemarau tiba. Bagian yang diambil dari tanaman ini adalah pucuk daunnya yang masih hijau muda, kemudian dipetik dan dikumpulkan. Pucuk dari daun wangon bisa dimasak sayur asem atau dibuat urap atau biasa disebut masyarakat desa adalah kulup (Ekoyw 2009). Daun wangon yang masih muda digunakan untuk mengatasi sembelit (Mishra 2011). Endapan rebusan daun wangon digunakan untuk mengurangi sakit kepala (Naik *et al.* 2015). Duraipandiyani *et al.* (2006) menyebutkan bahwa rebusan dari kulit batang tanaman wangon digunakan untuk menyembuhkan demam dan batuk, serta mengatasi anemia dan sebagai obat penunjang diabetes (*Indian Medical Plant*). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa sinonim tanaman wangon yaitu *Olax psittacorum*, daun dan batang dari tanaman wangon memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan (Majumder *et al.* 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Duraipandiyani *et al.* (2006) daun wangon memiliki aktivitas antibakteri. Bagian akar tanaman wangon memiliki aktivitas antimikroba (Owk & Lagudu 2016), bagian batang tanaman wangon memiliki aktivitas sebagai antipiretik (Naik *et al.* 2015).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi adalah *n*-heksana, etil asetat, dan air yang memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Pelarut etanol dapat melarutkan senyawa alkaloid basa, flavonoid, steroid, damar, minyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, dan klorofil (Depkes 1986). *n*-heksana adalah senyawa senyawa yang bersifat nonpolar seperti steroid, triterpenoid, terpenoid, karotenoid, dan asam lemak tinggi (Kristijono 2008). Etil asetat dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-3-fenilpropanoid, asam fenolat, antrakuinon, dan xanton (Harborne 1987). Air melarutkan gom, pati, gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes 1986)

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui daerah hambat dari suatu bahan uji dengan membentuk warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode

difusi digunakan untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif sehingga dapat dilanjutkan dengan metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme dengan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, manakah diantara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air yang paling efektif aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi yang paling efektif ekstrak etanol daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui diantara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) yang paling efektif aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi yang paling efektif ekstrak etanol daun wangon (*Olax scandens* Roxb.).

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) sebagai alternatif lain pengobatan antibakteri serta dapat menambah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan untuk mengatasi masalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Wangon (*Olex scandens* Roxb.)

1. Sistematika tumbuhan

Menurut Malaysia Biodiversity Information System, taksonomi tanaman wangon adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Santalales
Family	: Olacaceae
Genus	: Olex
Species	: <i>Olex scandens</i>
Sinonim	: <i>Olex psittacorum</i> (Willd) Vahl. (<i>World Plants</i>)



Gambar 1. Daun wangon (Udayakumar & Parthasarathy 2010)

2. Nama umum

Tanaman wangon tersebar di berbagai negara dengan nama yang berbeda-beda. Tanaman wangon di Indonesia tepatnya di daerah Jawa dikenal dengan nama wangon sedangkan di daerah Madura dikenal dengan nama puluur, di Malaysia tanaman wangon dikenal dengan nama meribus dan kodak acing, di Thailand tanaman wangon dikenal dengan nama phakrut, di Laos tanaman wangon dikenal dengan nama ‘ii thòk, dan di Vietnam tanaman wangon dikenal dengan nama duong dàu leo (*Plant Resources of South-East Asia*). Tanaman wangon memiliki nama lain yaitu *Olex psittacorum* (Willd) Vahl. (*World Plants*).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) berasal dari familia *Olacaceae* ini tumbuh tinggi 10 meter di negara India, Burma, Malaysia, Vietnam, China, dan Indonesia. Tanaman perdu, menahun, tumbuh tegak atau merambat dengan tinggi 2-10 m, memiliki akar tunggang, bercabang putih kotor atau putih kekuningan. Batangnya berbentuk bulat dan bercabang, permukaan cabangnya berambut halus, tetapi permukaan cabang yang sudah tua permukaannya gundul, cabang yang lebih tua kadang dilengkapi dengan tanduk. Daun wangon tunggal, tersusun berseling dengan helaian anak daun yang berbentuk bulat telur memanjang, ukuran daunnya $3,5-9 \times 2,5-3,2$ cm (Naik *et al.* 2013). Bunga berwarna putih dengan panjang 6-7,5 mm dan buah yang berwarna kuning atau oranye.

4. Khasiat tanaman

Khasiat tanaman wangon secara tradisional, dapat digunakan sebagai sayuran dan pengobatan. Masyarakat desa biasanya menggunakan tanaman ini sebagai sayuran, daun wangon yang masih muda digunakan untuk mengatasi sembelit (Mishra 2011). Endapan rebusan daun wangon untuk mengurangi sakit kepala (Naik *et al.* 2015). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa sinonim tanaman wangon yaitu *Olax psittacorum*, daun dan batang dari tanaman wangon memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan (Majumder *et al.* 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Naik *et al.* (2015) daun wangon memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri (Duraipandiyan *et al.* 2006). Duraipandiyan *et al.* (2006) menyebutkan bahwa rebusan dari kulit batang tanaman wangon digunakan untuk menyembuhkan demam dan batuk, serta mengatasi anemia dan sebagai obat penunjang diabetes (*Indian Medical Plant*). Bagian akar tanaman wangon memiliki aktivitas antimikroba (Owk & Lagudu 2016), bagian batang tanaman wangon memiliki aktivitas sebagai antipiretik (Naik *et al.* 2015).

5. Kandungan kimia tanaman

Berdasarkan penelitian tanaman wangon memiliki kandungan kimia yaitu, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, karbohidrat, fenolik, terpenoid dan steroid.

5.1 Saponin. Saponin merupakan glikosida yang banyak terdapat dalam tanaman yang mempunyai ciri yaitu, rasa pahit, berbusa, dan bersifat hemolisis terdapat pada sel darah merah. Senyawa saponin bekerja dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis, sehingga mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna 1995).

5.2 Tanin. Tanin adalah senyawa yang memiliki berat molekul antara 500 dan 3000 Da dan merupakan salah satu senyawa fenol yang dapat larut dalam air (Ismarani 2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat bakteri dengan membentuk kompleks polisakarida yang dapat merusak dinding sel bakteri (Nurhalimah *et al.* 2015).

5.3 Flavonoid. Flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi dan mendenaturasi protein sel bakteri.

5.4 Alkaloid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga pada dinding sel bakteri tidak akan terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson 1991).

5.5 Steroid. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang dapat menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.* 2013). Senyawa steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa yang bersifat lipofilik sehingga dapat menyebabkan integritas membran

menjadi turun serta morfologi membran sel berubah dan menyebabkan kerapuhan serta lisis pada sel.

5.6 Fenolik. Mekanisme kerja senyawa fenolik dalam membunuh mikroorganisme adalah dengan cara mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terjadi antara fenol dengan protein dapat menyebabkan struktur protein menjadi rusak. Hal ini disebabkan karena ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan sitoplasma dimana keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu akan menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel tersebut menjadi lisis (Pelczar *et al.* 1988)

6. Perkembangan penelitian antibakteri

Penelitian yang dilakukan oleh Duraipandiyani (2006), ekstrak daun wangon dengan metode perkolasi dingin menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Bakteri yang diujikan pada pelarut *n*-heksana antara lain, *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya sebesar 8 mm, *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 2,5 mg/disk daya hambatnya sebesar 10 mm, sedangkan pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 13 mm, *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 2,5 mg/disk daya hambatnya sebesar 9 mm, sedangkan pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya 12 mm, dan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 5 mg/disk daya hambatnya sebesar 9 mm.

Penelitian yang dilakukan oleh Majumder *et al* (2015) menggunakan sinonim daun wangon yaitu *Oxalis psittacorum* dimana tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Bagian dari tanaman *Oxalis psittacorum* yang dipakai adalah daun dan batangnya. Konsentrasi 100 mg/ml daya hambat *Bacillus strearothermophilus* (daun 0 mm, batang 6,67 mm), *Staphylococcus aureus* (daun 0 mm, batang 7,33 mm), *Klebsiella penumoniae* (daun 5,67 mm, batang 10,33 mm), *Eschericia coli* (daun 0 mm, batang 0 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (daun 0 mm, batang 10,33 mm). Konsentrasi 250 mg/ml bakteri *Bacillus strearothermophilus* (daun 5,33 mm, batang 8,33 mm), *Staphylococcus aureus* (daun 5,67 mm, batang 9 mm), *Klebsiella penumoniae* (daun 7 mm, batang 11

mm), *Eschericia coli* (daun 3,67 mm, batang 0 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (daun 6,33, batang 11,33 mm).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dimanfaatkan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang telah dikeringkan. Simplisia digolongkan menjadi tiga macam yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral.

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengerinan simplisia

Pengerinan simplisia mengikuti prosedur yang tercantum dalam Depkes (1985). Pengerinan simplisia ini bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama, menghentikan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (lebih mudah disimpan, diringkas, dan tahan lama). Kadar air yang masih tersisa dalam simplisia dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya.

Pengerinan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan yang harus diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan, agar simplisia tidak mudah rusak serta kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi. Pengerinan alamiah adalah dengan cara diangin-anginkan dan tidak dipanaskan di bawah sinar matahari langsung. Cara ini terutama untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga dan daun. Pengerinan yang paling baik untuk daun adalah dengan diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari langsung (Depkes 1985).

3. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk simplisia ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari bahan sehingga senyawa kimia yang ada dalam tanaman dapat ditarik secara optimal. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan cara mengumpulkan bahan baku dan menentukan kualitas bahan baku. Bahan baku yang dipilih adalah yang masih segar, lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bahan baku. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat penggiling dan diayak. Pemilihan nomor ayakan tercantum dalam Kemenkes (2011) dimana, untuk mendapatkan serbuk yang agak kasar biasanya menggunakan mesh nomor 40, setelah diayak serbuk kemudian ditimbang dan dilakukan perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun wangen.

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat atau cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kemenkes 2011). Menurut Tiwari *et al.* (2011) ekstraksi adalah pemisahan zat aktif dari jaringan tumbuhan ataupun hewan melalui prosedur yang telah ditetapkan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi masuk ke dalam material padat tanaman sehingga dapat melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya.

2. Metode Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang dilakukan dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada suhu ruang (Depkes 2000). Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi sederhana. Proses maserasi dimulai dengan merendam serbuk simplisia ke dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dengan adanya perbedaan konsentrasi. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, air-etanol, atau pelarut lain.

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain, dan merupakan suatu cara pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda, mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula mula disari dengan pelarut nonpolar, kemudian disari pelarut kurang polar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harborne 2006).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Kriteria dalam pemilihan pelarut harus memenuhi syarat yaitu, murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, beraksi netral, selektif yaitu, menarik zat yang berkhasiat dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Ada tiga macam pelarut yaitu, pelarut polar, semipolar, dan nonpolar.

4.1 Etanol. Pelarut etanol dipilih karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan dalam pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, flavonoid, steroid, damar, minyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, dan klorofil (Depkes 1986).

4.2 *n*-Heksana. *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar, berupa cairan yang jernih, mudah menguap, berbau seperti eter atau petroleum, tidak berwarna, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzene dan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. Senyawa yang dapat larut oleh *n*-heksana adalah senyawa senyawa yang bersifat nonpolar seperti steroid, triterpenoid, terpenoid, karotenoid, dan asam lemak tinggi (Kristijono 2008).

4.3 Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semipolar, mudah menguap dan mudah terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terlindung dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan yang jernih tidak berwarna dan

memiliki bau khas seperti buah. Senyawa yang dapat larut dalam etil asetat adalah flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-fenol, fenilpropanoid, asam fenolat, antrakuinon, dan xanton (Harborne 1987).

4.4 Air. Air dipilih sebagai pelarut karena murah, mudah didapat, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air adalah pelarut universal yang dapat digunakan untuk ekstrak tanaman produk aktivitas antibakteri. Air dapat melarutkan gom, pati, gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes 1986).

D. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu cara atau tindakan yang dilakukan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Bahan atau peralatan yang digunakan dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya bahan atau peralatan yang digunakan tidak terdapat mikroba yang kehadirannya tidak diharapkan, baik yang akan merusak atau mengganggu media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan. Ada tiga cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisika yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma, dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat tekanan tinggi atau pemanasan tinggi (Darmadi 2008).

E. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut G.M. Garrity *et al.* (2007) sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif anaerobik fakultatif berbentuk *coccus* (bulat) yang memiliki ukuran 0,7-1,2 μm . Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-40°C dan tumbuh pada suhu optimum 35°C (Radji 2011). *Staphylococcus aureus* memiliki bentuk tidak beraturan yang bergerombol seperti buah anggur. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau serta membentuk pigmen berwarna kuning emas. Bakteri *Staphylococcus aureus* kebanyakan berkoloni di saluran hidung dan di bagian tubuh yang lain.

3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada lubang hidung, tenggorokan dan sebagian besar juga terdapat pada rambut dan kulit. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini dapat masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat, atau luka-luka kecil. Mekanisme infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan cara melakukan pelekatan pada protein sel inang, invasi, perlawanan terhadap sistem pertahanan inang, dan pelepasan beberapa jenis toksin (Radji 2011). Struktur sel *Staphylococcus aureus* memiliki protein permukaan untuk membantu penempelan bakteri pada sel inang. Protein yang dimaksud adalah laminin dan fibronektin yang mampu meningkatkan penempelan bakteri pada darah dan jaringan.

4. Pengobatan *Staphylococcus aureus*

Pengobatan bakteri *staphylococcus* untuk kasus ringan di luar rumah sakit dapat diberikan penisilin G. Warsa (1993) menyebutkan bahwa apabila infeksi yang diderita pasien termasuk infeksi yang berat atau bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin, maka dapat diberikan metisilin atau derivat penisilin lain yang resisten penisilin. Pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin maka pemilihan terapi pertama menggunakan antibiotik nafsilin atau oksasilin dan pemilihan terapi kedua menggunakan antibiotik golongan sefalosporin generasi

pertama, kedua, ketiga secara berurutan, sedangkan terapi pilihan ketiga menggunakan antibiotik klindamisin.

F. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah zat atau senyawa yang digunakan untuk membasmi atau menghambat pertumbuhan bakteri, terutama untuk bakteri yang merugikan bagi manusia. Senyawa antibakteri harus memiliki sifat toksisitas yang selektif, artinya tidak berbahaya bagi inangnya tetapi berbahaya bagi parasit. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) dan aktivitas bakteriostatik (hanya menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen). Antibakteri yang memiliki spektrum luas, artinya efektif digunakan untuk banyak spesies, baik basil, spiril maupun kokus. Antibakteri yang mempunyai spektrum sempit, artinya antibakteri ini hanya efektif untuk beberapa spesies tertentu saja (Waluyo 2004).

2. Mekanisme kerja antibiotik

Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dibedakan menjadi lima, yaitu antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel, antibiotik yang merusak membran plasma, antibiotik yang menghambat sintesis protein, antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA), dan antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial (Pratiwi 2008).

2.1 Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel. Rusaknya dinding sel bakteri dapat disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yang merupakan suatu kompleks polimer glikopeptida.

Mekanisme kerja untuk merusak lapisan peptidoglikan yaitu dengan cara mengubah pembentukannya atau menghambat ketika selesai terbentuk. Tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis. Contoh antibiotik dalam penghambatan sintesis dinding sel diantaranya yaitu, penisilin, sefalosporin,

karbapenem, monobaktam, vankomisin, dan isoniazid (Pratiwi 2008).

2.2 Antibiotik yang merusak membran plasma. Mekanisme kerja antibakteri salah satunya adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari 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. Contoh antibiotik dalam perubahan permeabilitas membran sel bakteri diantaranya yaitu, nistatin, polimiksin, dan amfoterisin B (Pratiwi 2008).

2.3 Antibiotik yang menghambat sintesis protein. Bakteri mempertahankan hidupnya dengan cara mensintesis protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, yang akan mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Contoh antibiotik dalam hal penghambatan sintesis protein sel bakteri adalah aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan makrolida (Pratiwi 2008).

2.4 Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA). DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Senyawa yang bersifat antibakteri dapat mengganggu pembentukan asam nukleat sehingga dapat menyebabkan transfer informasi genetik terganggu, hal ini disebabkan karena senyawa antibakteri tersebut dapat menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA girase yang selanjutnya akan merusak materi genetik yang dapat mengganggu proses pembelahan sel pada pembiakan. Contoh antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA) adalah rifampisin dan golongan kuinolon (Pratiwi 2008).

2.5 Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial. Mekanisme kerja antibakteri dalam penghambatan metabolisme sel bakteri adalah dengan cara mengganggu aktivitas enzim-enzim metabolik. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila

antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka akan terbentuk analog asam folat non fungsional, kebutuhan asam folat tidak akan terpenuhi, sehingga dapat menyebabkan bakteri mati (Gan *et al.* 1987). Contoh antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial adalah sulfonamide dan *para amino benzoic acid* (Pratiwi 2008).

G. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan suatu metode yang paling banyak digunakan. Metode difusi menggunakan kertas cakram (disk) dan sumuran. Metode dengan kertas cakram berisi sejumlah obat yang konsentrasinya telah diukur kemudian ditempatkan pada permukaan media padat yang telah diinokulasi dengan meletakkan organisme uji pada permukaannya, kemudian diinkubasi sehingga zona hambat yang terbentuk disekitar cakram dapat diketahui (Harmita 2005). Metode sumuran dilakukan dengan cara memasukkan larutan uji yang konsentrasinya sudah ditentukan ke dalam sumuran. Keuntungan menggunakan metode difusi adalah praktis, cepat dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba, sedangkan kerugiannya pada perhitungan Konsentrasi Bunuh Minimum (KHM) tidak dapat diukur secara kuantitatif .

2. Metode Dilusi

Metode Dilusi merupakan suatu metode yang dilakukan dengan cara pengenceran dimana zat antimikroba dimasukkan kedalam tabung reaksi baik berisi media padat maupun cair, kemudian diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi. Metode dilusi ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap baik pada media padat maupun media cair. Keuntungan menggunakan metode dilusi adalah metode ini memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2007).

H. Siprofloksasin

Antibiotik yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini adalah siprofloksasin. Siprofloksasin dipilih sebagai kontrol positif (pembanding) karena

memiliki spektrum yang luas artinya antibakteri ini dapat membunuh banyak bakteri. Siprofloksasin merupakan senyawa turunan fluorokuinolon.

Mekanisme kerja obat golongan kuinolon adalah dengan cara menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan ini dapat menyebabkan sintesa DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Penggunaan obat siprofloksasin untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp*, dan Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *P. Mirabilis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Siswandono & Soekardjo 2008).

I. Media

Media adalah suatu bahan yang komposisinya terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Fungsi dari media adalah untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, memperbanyak mikroba, dan menyimpan mikroba. Media yang digunakan dalam pertumbuhan bakteri harus steril dan dengan pH yang sesuai dengan kebutuhan bakteri, hal ini mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Suriawiria 2005). Berdasarkan konsistensinya media dapat dibedakan menjadi media cair, media padat dan media setengah padat.

J. Landasan Teori

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit. Kelainan kulit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* antara lain impetigo, folikulitis, dan infeksi pada folikel rambut. Bakteri ini dapat ditemukan pada hidung, mulut, kulit, mata, jari, usus, dan hati. Anak-anak, penderita diabetes, tenaga kesehatan dan pasien penyakit kulit biasanya beresiko tinggi mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* biasanya terjadi pada luka terbuka atau luka potong (Radji 2011).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman tanaman obat di dunia. Wangon merupakan salah satu tanaman obat yang berasal

dari familia *Olacaceae*. Pabhakar dan Kamalakar (2014) melakukan penelitian uji fitokimia buah dari tanaman wangon memiliki kandungan kimia yaitu, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, protein, terpenoid, triterpenoid, steroid, kumarin, glikosida, kuinon, antrakuinon dan fitosterol.

Owk dan Lagudu (2016) dalam penelitiannya akar dari tanaman wangon memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji fitokimia akar dari tanaman wangon mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksana, ekstrak metanol, ekstrak kloroform, dan ekstrak air dari tanaman wangon terhadap salah satu bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada ekstrak heksan akar tanaman wangon sebesar 16 mm, zona hambat ekstrak metanol 29 mm, zona hambat ekstrak kloroform 27 mm, dan zona hambat ekstrak air 25 mm. Tanaman wangon memiliki nama lain yaitu *Olax psittacorum* (Willd) Vahl. (*World Plants*). Raja Majumder *et al.* (2015) menyebutkan bahwa dalam penelitiannya, Tanaman *Olax psittacorum* pada bagian daun dan batangnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100 mg/ml daya hambat yang ditunjukkan pada daun adalah 0 mm dan pada batang 7,33 mm, sedangkan pada konsentrasi 250 mg/ml daya hambat yang ditunjukkan pada daun adalah 5,67 mm dan pada batang 9 mm.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode yang sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, air-etanol atau pelarut lain.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat dan air. Pelarut etanol 96% dipilih karena dapat melarutkan senyawa alkaloid basa, flavonoid, steroid, damar, minyak penguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, dan klorofil (Depkes 1986). *n*-heksana adalah senyawa senyawa yang bersifat nonpolar seperti steroid, triterpenoid, terpenoid, karotenoid, dan asam lemak tinggi (Kristijono 2008). Etil asetat dapat melarutkan flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik seperti fenol-fenol, fenilpropanoid, asam fenolat,

antrakuinon, dan xanton (Harborne 1987). Air dapat melarutkan gom, pati, gula, protein, enzim, lendir, lilin, lemak, peptida, minyak menguap, garam alkaloid, asam organik, dan zat warna (Depkes 1986).

Pengujian aktivitas bakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Prinsip kerja metode difusi adalah mencari fraksi teraktif berdasarkan zona hambat. Keuntungan menggunakan metode difusi adalah praktis, cepat dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba, kerugiannya pada perhitungan Konsentrasi Bunuh Minimum (KHM) tidak dapat diukur secara kuantitatif. Sedangkan, prinsip kerja metode dilusi dengan mencari Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap menggunakan metode cair. Keuntungan menggunakan metode dilusi adalah metode ini memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2007).

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangen mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari ketiga fraksi yang mempunyai aktivitas yang paling efektif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) hasil fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun wangen dalam membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III

A. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun wangon yang diperoleh dari daerah Sragen, Dukuh Pare Desa Baleharjo, Kecamatan Sukodono, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah pada bulan September 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun wangon yang diambil secara acak. Daun diambil dalam kondisi yang muda dan segar dari daerah Sragen, Dukuh Pare Desa Baleharjo, Kecamatan Sukodono, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah pada bulan September 2017.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.).

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol 96% daun wangon.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung, variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun wangon.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri yang dapat dilihat dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media uji.

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium (inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril serta media yang digunakan dalam penelitian ini.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun wangon adalah daun yang diambil dari tanaman wangon (*Oxal scandens* Roxb.) dari daerah Sragen, Dukuh Pare Desa Baleharjo, Kecamatan Sukodono, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah. Daun wangon diambil dengan memilih daun yang berwarna hijau, tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda, dan masih segar.

Kedua, serbuk daun wangon adalah daun wangon yang diambil kemudian dicuci pada air mengalir untuk membersihkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, setelah kering digiling dan dibuat serbuk lalu diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun wangon adalah hasil ekstraksi dari serbuk daun wangon yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak dari etanol daun wangon yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu fraksi *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semipolar.

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

Ketujuh, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri adalah uji dengan menggunakan metode dilusi dan difusi. Metode dilusi berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,562%, 0,781%, 0,391%, 0,195%, 0,098%. Kontrol positif (+) menggunakan suspensi bakteri dan kontrol negatif (-) fraksi teraktif. Sedangkan, Metode difusi digunakan untuk mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol positif (+) menggunakan antibiotik siprofloksasin dan kontrol negatif (-) menggunakan pelarut Dimetilsulfoksida (DMSO) 5%.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah loyang oven, oven, alat penggiling, botol maserasi, timbangan analitik, ayakan nomor 40, inkas, ose platina, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, corong pisah, corong kaca, kain flanel, kertas saring, cawan petri, cawan porselin, erlenmeyer, lampu spiritus, *autoclave*, *Moisture Balance*, *Rotary evaporator*, inkubator, kaca objek, dan mikroskop.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah daun wangon (*Oxalis scandens* Roxb.) dan *Staphylococcus aureus*, medium yang digunakan adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan plasma sitrat.

Bahan kimia yang digunakan adalah *n*-heksana, etil asetat, etanol 96%, aquadestilata, HCl, FeCl₃ 1%, DMSO 5%, kalium tellurite, larutan meyer, larutan Dragendrof, hidrogen peroksida, asetat anhidrida, asam sulfat pekat, asam asetat pekat, cat kristal violet, larutan lugol, iodine, safranin, siprofloksasin dan larutan standar Mc Farland 0,5.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman wangon

Tahapan pertama dalam penelitian ini adalah dengan mengidentifikasi daun wangon berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman wangon sesuai dengan kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Determinasi ini bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya dengan tanaman lain.

2. Pengumpulan bahan

Daun wangon yang masih segar diambil dari daerah Sragen, Dukuh Pare Desa Baleharjo, Kecamatan Sukodono, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah. Daun wangon dibersihkan dari kotoran, kemudian dikeringkan dengan oven suhu 50° C. Pembuatan serbuk daun wangon menggunakan alat penggiling dan diayak dengan ayakan nomor mess 40, sehingga didapatkan serbuk daun wangon yang diinginkan.

3. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun wangon

Pembuatan serbuk daun wangon dilakukan dengan cara daun wangon dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu. Daun wangon yang sudah bersih dipotong–potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C. Daun wangon yang sudah kering diserbuk dengan alat penggiling kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun wangon yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Penyerbukan bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan pelarut dapat diperluas sampai penyarian berlangsung secara efektif.

4. Penetapan susut pengeringan daun wangon

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Serbuk daun wangon ditimbang sebanyak 2 gram, dan diukur kadarnya pada suhu 105°C. Kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi yang menandakan bahwa hasil analisis telah selesai. Kadar air serbuk simplisia dikatakan memenuhi syarat apabila serbuk simplisia tidak lebih dari 10 % (Depkes 1985).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun wangon

Pembuatan ekstrak etanol daun wangon mengikuti prosedur yang tercantum dalam Kemenkes (2011) dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun wangon ditimbang 1000 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat lalu ditambahkan 10 L pelarut etanol 96%. Campuran tersebut sesekali digojog pada 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selam 18 jam selama 5 hari. Filtrat dengan

ampas disaring menggunakan kain flanel dibantu dengan alat *vacum buchner*. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C sehingga didapat ekstrak kental daun wangen. Kemudian menghitung hasil rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (^b/_b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan (Kemenkes 2011).

6. Tes bebas etanol daun wangen

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Hasil uji dikatakan positif bebas etanol apabila tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

7. Cara fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun wangen kemudian dilarutkan dalam pelarut air etanol dan air 75 ml, difraksi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana 75 ml. Alat yang digunakan pada saat proses fraksinasi adalah corong pisah di mana, fase *n*-heksana berada di atas dan fase air berada di bawah. Fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40° C. Residu dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi sebanyak 3 kali dengan pelarut etil asetat 75 ml. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang terletak di atas dan fraksi air yang di bawah kemudian ditampung dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai pekat lalu ditimbang.

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun wangen

Identifikasi dilakukan terhadap senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid, dan fenolik dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi.

8.1 Identifikasi alkaloid, menimbang 0,5 mg ekstrak dan fraksi, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan HCl. Teteskan dengan pereaksi Dragendrof sebanyak 2-3 tetes, positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah. Sedangkan, bila bahan uji ditambahkan larutan Mayer, positif mengandung senyawa alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna kuning (Tiwari *et al.* 2011).

8.2 Identifikasi saponin, menimbang 0,5 mg ekstrak dan fraksi, kemudian direndam dengan air sebanyak 2 ml, kocok kuat-kuat. Terdapat busa setelah

pengocokan, positif mengandung senyawa saponin apabila busa tetap konstan selama 10 menit (Tiwari *et al.* 2011).

8.3 Identifikasi tanin, menimbang 0,5 mg ekstrak dan fraksi, tambahkan 10 ml akuades masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%, lalu dikocok. Tanaman mengandung senyawa tanin apabila terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati *et al.* 2014).

8.4 Identifikasi flavonoid, menimbang 2 mg ekstrak dan fraksi ditambahkan dengan 5 ml aquadest dipanaskan selama satu menit, lalu disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Pembentukan intensitas warna kuning, merah atau jingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Harborne 1996).

8.5 Identifikasi fenolik, 0,5 mg ekstrak dan fraksi ditambahkan dengan 1 ml FeCl_3 10 %. Hasil positif mengandung fenol akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, biru, ungu, hitam, atau hijau (Harborne 1987).

8.6 Identifikasi Steroid, 0,5 mg ekstrak dan fraksi ditambahkan dengan asam asetat dan asam sulfat pekat, adanya senyawa steroid akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau biru (Harborne 1987).

9. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Menurut Denyer *et al.* (2004) formalin digunakan untuk mensterilkan enkas. Media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu $170\text{-}180^\circ\text{C}$ selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung.

10. Isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.1 Isolasi bakteri. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diisolasikan pada media selektif VJA yang sudah ditambahkan 3 tetes kalium tellurite 3% dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C . Hasil pengujian ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada koloni dan warna medium disekitar koloni kuning. Hal ini disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi asam dan warna hitam disekitar koloni disebabkan karena *Staphylococcus*

aureus dapat mereduksi kalium tellurit (Radji 2011).

10.2 Identifikasi bakteri

10.2.1 Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol:aseton = 1:1 sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara, membuat preparat ulas yang sudah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan keringkan, kemudian ditetesi dengan gram B yang berisi lugol iodine sebagai mordan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan keringkan, selanjutnya preparat dilunturkan dengan Gram C diamkan kurang lebih 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir dan keringkan, terakhir preparat ditetesi Gram D diamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan keringkan. Bakteri positif apabila berwarna ungu, bulat dan bergerombol seperti buah anggur saat diamati dibawah mikroskop.

10.2.2 Identifikasi bakteri dengan uji katalase dan uji koagulase.

Uji katalase dengan menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair ditambahkan dengan 2 tetes H₂O₂ 3%. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk oksigen dan gelembung udara (Radji 2011).

Uji koagulase. Uji koagulase dibuat dengan cara menyiapkan plasma kelinci dan asam sitrat yang telah diencerkan 1:5 ditambah 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-4 jam. Hasil positif jika terjadi penggumpalan pada tabung reaksi, dan bila dibalik gumpalan plasma tidak terlepas atau tetap melekat pada dinding tabung (Radji 2011).

11. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dari biakan murni pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA), diambil kurang lebih 2 ose dan ditanam dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media *Brain Heart Infusion* (BHI), kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 yang dianggap setara dengan 1,5 x 10⁸ juta per ml. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 agar jumlah bakteri yang digunakan sama

selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri pada saat pengujian. Suspensi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Bonang dan Koeswandono 1982).

12. Pengujian aktivitas antibakteri

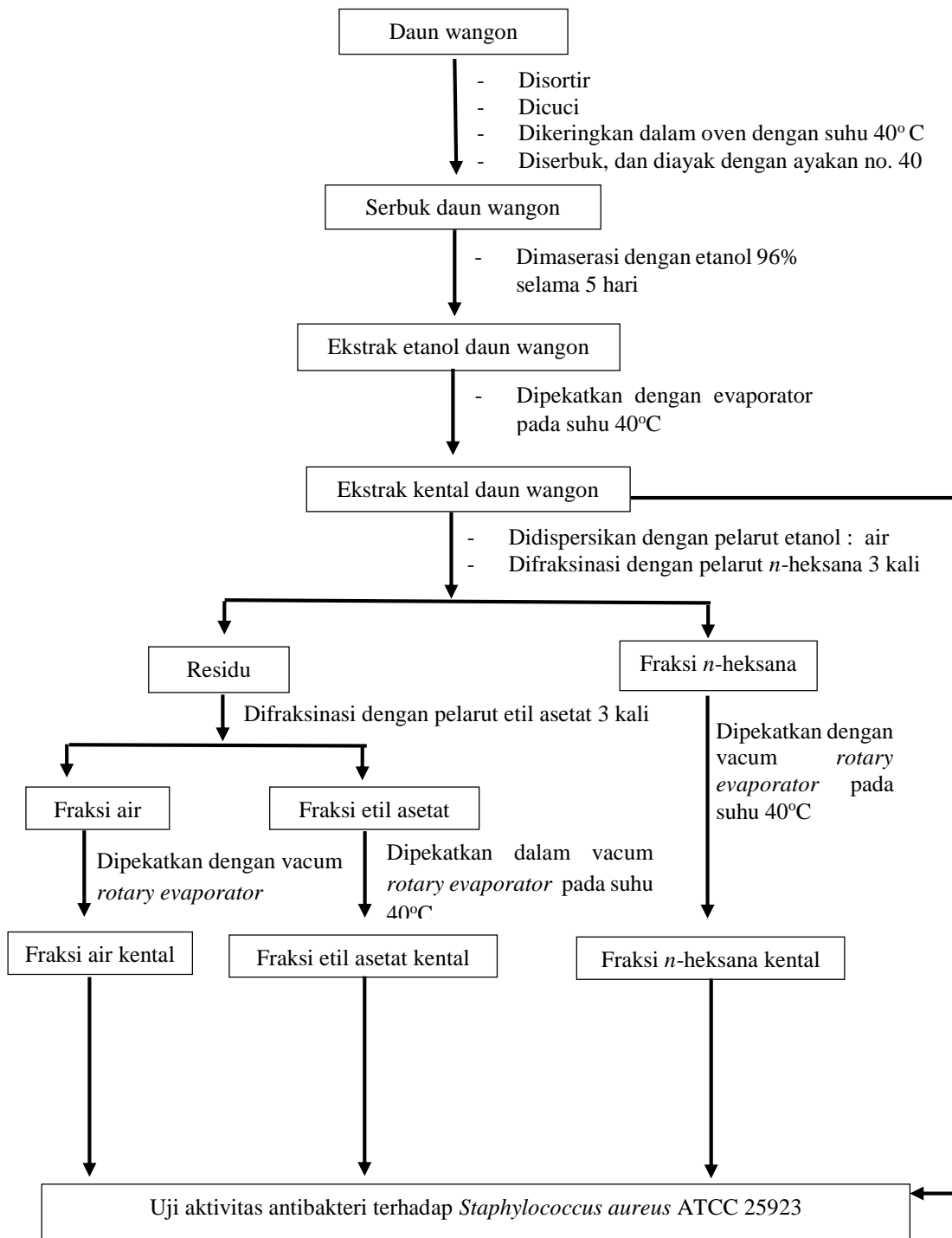
Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun wangen menggunakan beberapa metode yaitu, metode difusi dan dilusi. Metode difusi bertujuan untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun wangen dan untuk mengetahui daya hambat pertumbuhan dari biakan bakteri uji dengan konsentrasi yang berbeda yaitu, 50%, 25%, 12,5%. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah disiapkan diolesi dengan suspensi bakteri secara merata menggunakan kapas lidi yang sudah disterilkan, kemudian masing-masing disk diisi dengan kontrol negatif (DMSO 5%), ekstrak etanol daun wangen, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan kontrol positif siprofloksasin diletakkan diatas media. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diamati hasilnya, ukur diameter daya hambat yang terlihat disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Tanaman wangen memiliki kandungan kimia sebagai antibakteri apabila disekitar kertas cakram tidak ditumbuhi bakteri, sehingga menandakan bahwa daun wangen memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kemudian dari hasil pengujian metode difusi fraksi yang paling efektif dilanjutkan dengan metode dilusi.

Metode dilusi menggunakan satu deret tabung reaksi yang berjumlah 12 tabung steril dengan konsentrasi yang berbeda yaitu, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,562%, 0,781%, 0,391%, 0,195%, 0,098%, serta tabung untuk kontrol positif dan kontrol negatif. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Pengujian dilakukan sebanyak tiga replikasi. Tahap pertama yang dilakukan adalah membuat larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5%. Tahap kedua, tabung 1 sebagai kontrol negatif berisi 1 ml fraksi aktif daun wangen, kemudian tabung ke 2 ditambahkan 0,5 ml fraksi aktif daun wangen. Tabung 2 sampai tabung 11 masing-masing dipipet 0,5 ml media BHI secara aseptis. Tabung 2 yang sudah berisi media BHI 0,5 ml dan fraksi teraktif 0,5 ml, kemudian dipipet 0,5 ml lalu

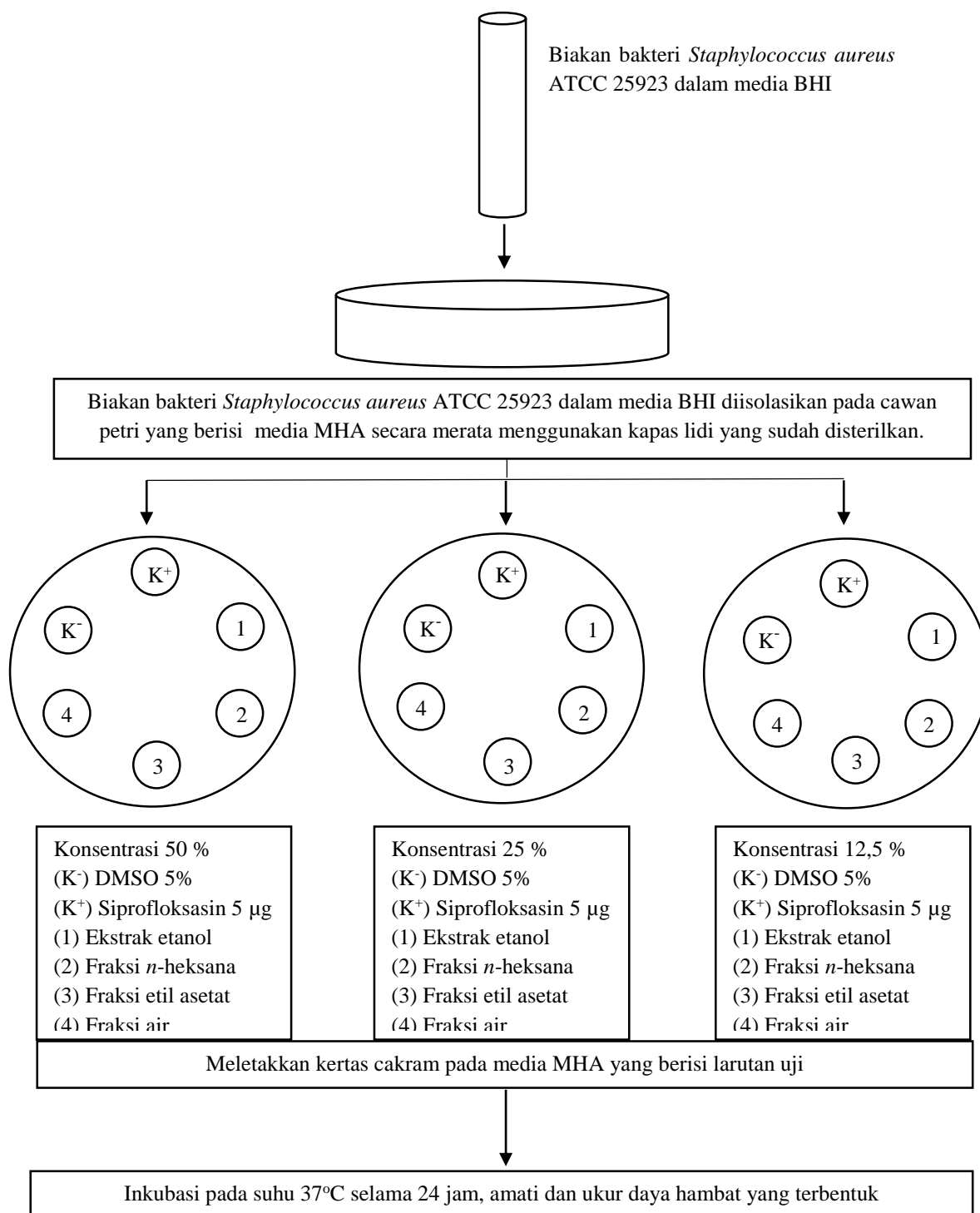
dimasukkan ke dalam tabung 3, dari tabung 3 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 4, dari tabung 4 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 5, dari tabung 5 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 6, dari tabung 6 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 7, dari tabung 7 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 8, dari tabung 8 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 9, dari tabung 9 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 10, dari tabung 10 dipipet 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 11, dari tabung 11 dipipet 0,5 ml kemudian dibuang. Tabung 2 sampai tabung 11 diberi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 masing-masing tabung 0,5 ml. Tabung 12 sebagai kontrol positif berisi 1 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kemudian 12 tabung tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan melihat batas terendah tabung media yang jernih atau hasilnya negatif. Sedangkan, penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari goresan yang sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

E. Analisis Hasil

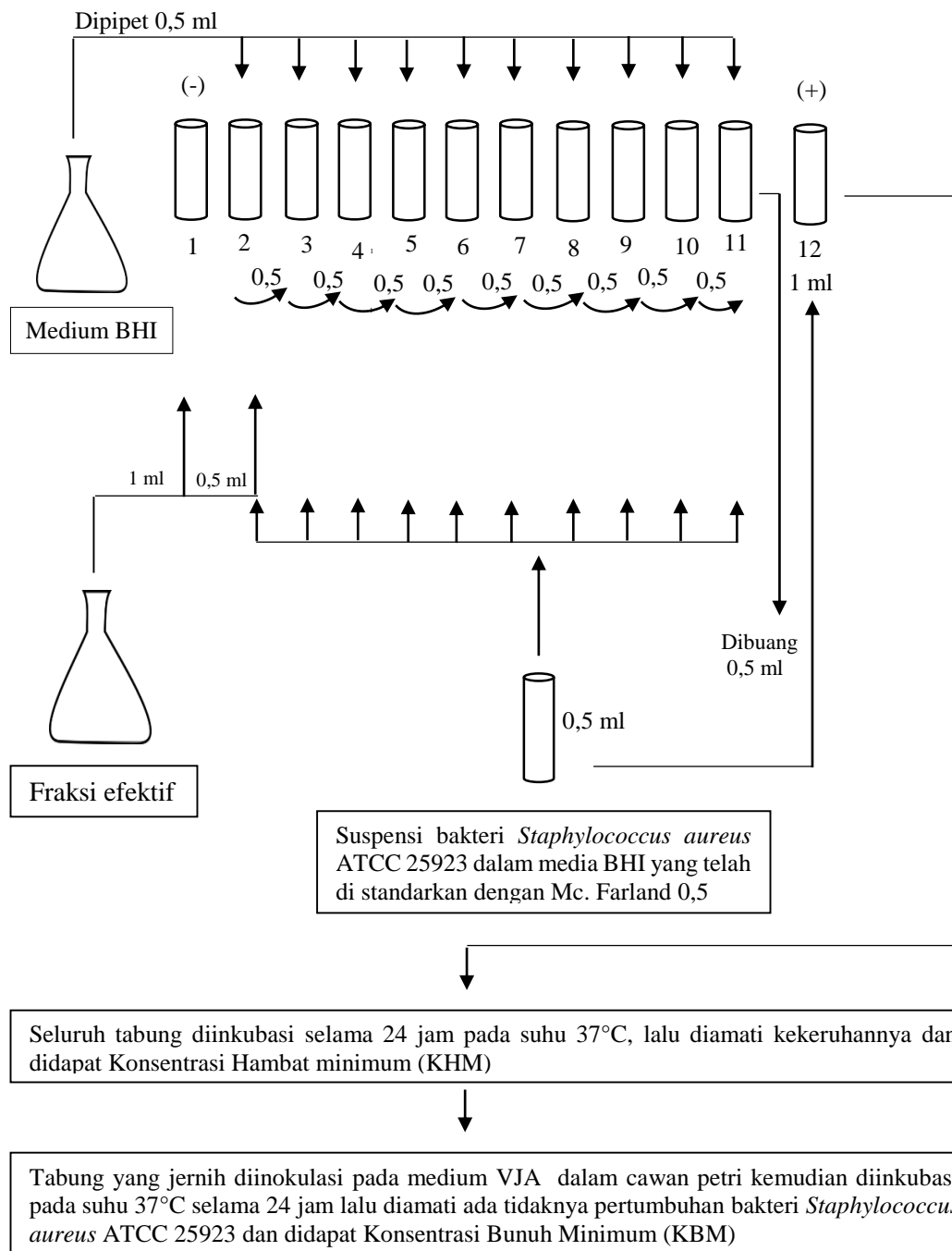
Analisis hasil yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di tabung reaksi dan di media selektif. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *Kolmogorof-Sminov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan menggunakan software SPSS 17. Tujuan analisa menggunakan software tersebut untuk mengetahui beda nyata atau tidak diameter hambat antara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol 96% daun wangon dalam berbagai konsentrasi serta kontrol positif dan kontrol negatif.



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun wangon (*Olax scandens* Roxb.)



Gambar 2. Skema pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon (*Olex scandens* Roxb.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi.



Gambar 3. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun wangon terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Wangon (*Olax scandens* Roxb.)

1. Hasil determinasi tanaman wangon

Determinasi tanaman merupakan langkah awal dalam suatu penelitian dengan menggunakan sampel tanaman dan penggunaannya pada beberapa bagian dari tanaman tersebut. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dan menyesuaikan dengan ciri morfologi tanaman serta menghindari kesalahan pada saat melakukan pengumpulan bahan. Determinasi tanaman wangon (*Olax scandens* Roxb.) dilakukan di Fakultas MIPA Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bagian tanaman yang diidentifikasi adalah daun, bunga, batang, buah, dan akar. Berdasarkan hasil determinasi dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah Wangon (*Olax scandens* Roxb.) dengan ciri-ciri daun wangon yaitu tanaman yang berbentuk perdu dengan tinggi sekitar 2-10 m, batangnya berbentuk bulat berkayu, memiliki akar tunggang, daunnya tunggal tersusun berseling, anak daun berbentuk bulat memanjang, bunganya berwarna putih, dan buah berwarna jingga. Keterangan deskripsi tanaman wangon dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan dan pengeringan daun wangon

Daun wangon diambil dalam keadaan yang masih segar, daun wangon dipetik langsung dari daerah Sragen, Dukuh Pare Desa Baleharjo, Kecamatan Sukodono, Kabupaten Sragen, Jawa Tengah pada bulan September 2017. Hasil yang didapatkan untuk berat basah sebanyak 3000 g daun wangon yang kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C dan diperoleh berat kering yaitu 2100 g daun kering. Data rendemen berat daun kering terhadap berat basah daun wangon dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Berat Basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)b/b
3000	2100	70

Dari tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa hasil rendemen berat kering terhadap berat basah adalah 70%. Suhu pada saat proses pengeringan harus konstan sebab jika terlalu tinggi akan menyebabkan kemungkinan terjadinya kerusakan senyawa aktif di dalam daun dan bila terlalu rendah pengeringan menjadi tidak sempurna serta waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan semakin lama sehingga akan menyebabkan terjadinya kebusukan.

3. Hasil pembuatan serbuk daun wangon

Daun wangon yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan alat penggiling dan diayak dengan ayakan nomor 40. Hasil pembuatan serbuk daun wangon dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%) b/b
2.100	1.950	92,85 %

Berat daun kering sebanyak 2100 g dan berat serbuk sebanyak 1950 g sehingga didapatkan hasil rendemen sebanyak 92,85%. Tujuan dilakukannya pembuatan serbuk daun wangon adalah untuk memperluas ukuran partikel serbuk yang kontak dengan pelarut sehingga pada saat penyarian dapat berlangsung secara efektif. Partikel serbuk tidak boleh terlalu kecil sebab kemungkinan dapat lolos pada saat penyaringan serta dapat terjadi emulsi pada saat maserasi.

4. Hasil susut pengeringan daun wangon

Tujuan dilakukannya penetapan hasil susut pengeringan adalah untuk mengetahui kadar lembab air yang terdapat dalam serbuk daun wangon dengan menggunakan alat *moisture balance*. Hasil susut pengeringan serbuk daun wangon dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil susut pengeringan daun wangon menggunakan alat *Moisture Balance*

Serbuk	Penimbangan (g)	Kadar lembab (%)
1	2,0	3,0
2	2,0	2,5
3	2,0	2,5
Rata-rata	2,0	2,6 ± 0,28

Berdasarkan tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa bahwa presentase rata-rata kadar lembab serbuk daun wangon setelah dilakukan replikasi 3 kali adalah 2,6%. Hasil ini memenuhi syarat karena kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih

dari 10% (Depkes 1985). Kadar lembab yang kurang dari 10% dapat mencegah pertumbuhan kapang dan aktivitas enzim, sehingga kandungan zat aktifnya tidak berkurang dan bahan lebih awet.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun wangon

Pembuatan ekstrak etanol daun wangon dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Tujuan metode maserasi untuk menarik semua komponen senyawa kimia yang terdapat dalam sampel, di mana pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Adanya perbedaan konsentrasi akan melarutkan senyawa aktif dari luar dan dalam sel (Depkes 1986). Hasil rendemen pembuatan ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen pembuatan ekstrak etanol daun wangon

Serbuk daun wangon (g)	Hasil ekstrak kental (g)	Rendemen ekstrak (%)b/b
1950	109	5,58

Hasil maserasi serbuk daun wangon sebanyak 1940 g didapatkan ekstrak kental sebesar 109 g dan rendemen sebesar 5,58 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 12.

6. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun wangon

Ekstrak kental daun wangon dilakukan uji tes bebas etanol dengan cara esterifikasi alkohol. Cara dan hasil tes bebas etanol dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun wangon

Uji bebas etanol	Hasil pengujian
5 tetes ekstrak kental daun wangon + 5 tetes asam asetat (CH_3COOH) + 2 tetes asam sulfat pekat ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{conc}$), dipanaskan	Tidak tercium bau ester etil asetat

Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil uji tes bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun wangon sudah bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau ester etil asetat dari hasil reaksi esterifikasi yang telah dilakukan. Tujuan dilakukannya uji tes bebas etanol adalah untuk memastikan bahwa di dalam ekstrak daun wangon tidak ada kandungan etanol, sehingga dapat digunakan untuk uji antibakteri dan daya hambat yang terbentuk pada saat uji aktivitas antibakteri bukan karena senyawa pelarut etanol yang membunuh bakteri tersebut melainkan senyawa aktif yang ada dalam ekstrak daun wangon.

7. Hasil fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan golongan utama yang lainnya. Fraksinasi memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. Fraksinasi dilakukan dengan cara ditimbang 10 gram ekstrak etanol daun wangon dari hasil maserasi kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air sebanyak 3 replikasi. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada tabel

Tabel 6. Hasil fraksinasi

Bobot ekstrak (g)	Pelarut	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)b/b
90	<i>n</i> -heksana	6,67	7,41
	Etil asetat	5,82	6,46
	Air	9,06	10,06

Berdasarkan tabel 6 diatas dapat dilihat bahwa hasil tiap pelarut berbeda-beda, dimana hasil dari fraksi air lebih besar dibandingkan dengan hasil fraksi *n*-heksana dan etil asetat, sedangkan hasil fraksi *n*-heksana lebih besar dibandingkan dengan hasil fraksi etil asetat. Hasil rendemen fraksinasi yang diperoleh masih jauh dari yang diharapkan yaitu 100%, hal ini terjadi mungkin disebabkan karena ekstrak banyak yang menempel pada wadah.

8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun wangon

Identifikasi kandungan kimia merupakan uji pendahuluan terhadap ekstrak, hal ini dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman wangon. Pengujian kandungan kimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna dan tabung reaksi, kemudian diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif akan memberikan tanda yang khas dari setiap pengujian senyawa. Hasil identifikasi kandungan kimia dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel. 7 Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangon.

Kandungan kimia	Pustaka	Intepretasi hasil			
		Ekstrak	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Saponin	Terbentuk busa dan bertahan selama 10 menit (Tiwari <i>et al.</i> 2011)	+	+	+	+
Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna merah bila diuji dengan reagen dragendrof dan terbentuk endapan	-	-	-	-

	berwarna kuning bila diuji dengan reagen mayer (Tiwari <i>et al.</i> 2011)				
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati <i>et al.</i> 2014)	+	-	+	+
Flavonoid	Terbentuk intensitas warna merah, kuning atau jingga (Harborne 1987)	+	-	+	+
Steroid	Terbentuk warna hijau atau biru (Harborne 1987)	+	+	+	+
Fenolik	Terbentuknya warna merah, biru, ungu, hitam atau hijau (Harborne 1987).	+	-	+	+

Kandungan : + : ada senyawa

- : tidak ada senyawa

Berdasarkan tabel 7 di atas dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun wangon mengandung senyawa yaitu, saponin, tanin, flavonoid, steroid, dan fenolik. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi *n*-heksana mengandung senyawa yaitu, saponin, dan steroid. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat mengandung senyawa yaitu, saponin, tanin, flavonoid, steroid, dan fenolik. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi air mengandung senyawa yaitu, saponin, tanin, flavonoid, dan fenolik. Senyawa flavonoid, steroid, tanin, dan fenol diduga memiliki aktivitas antibakteri.

9. Hasil identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

9.1 Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram.

Uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram, koloni diamati dengan menggunakan mikroskop cenderung berbentuk menyerupai buah anggur, bulat berwarna ungu dan bergerombol (Radji 2011). Warna ungu yang diperoleh dari pewarnaan Gram menandakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri Gram positif, karena bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal sehingga pada saat dilunturkan dengan alkohol bakteri ini tidak akan luntur dan akan tetap berwarna ungu. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat, berwarna ungu dan

bergerombol seperti buah anggur. Gambar dapat dilihat pada lampiran 6.

9.2 Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan uji koagulase. Hasil positif dari uji koagulase adalah adanya gumpalan dan apabila tabung reaksi dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada tabung reaksi (Radji 2011). Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan uji koagulase pada tabung reaksi yang berisi plasma kelinci, asam sitrat, dan bakteri menunjukkan adanya gumpalan pada plasma kelinci dan tetap melekat pada tabung reaksi. Hal ini terjadi karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase yaitu protein ekstraseluler yang dapat berikatan dengan protombin inang untuk membentuk sebuah kompleks yang disebut stafilotrombin. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui keberadaan *Staphylococcus aureus* serta menunjukkan sifat virulensi bakteri yaitu dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja sistem imunitas inang (Radji 2011). Gambar dapat dilihat pada lampiran 6.

9.3 Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan uji katalase. Hasil yang didapatkan pada saat uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya gelembung dan oksigen setelah ditetesi dengan H₂O₂ 3% sebanyak 2 tetes. Hal ini terjadi karena bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim katalase, uji katalase juga dapat digunakan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Streptococcus* karena bakteri *Streptococcus* tidak menghasilkan enzim katalase (Radji 2011). Gambar dapat dilihat pada lampiran 6.

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun wangen kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi dengan seri konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%, dengan pembanding kontrol positif ciprofloksasin dan kontrol negatif DMSO. Hal ini dilakukan untuk mengetahui fraksi yang paling efektif dengan melihat daya hambat paling besar yang ditunjukkan oleh masing-masing fraksi. Daya hambat jernih disekitar cakram yang menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan

air tidak ditumbuhi oleh bakteri. Uji difusi dilakukan dengan pengulangan 3 kali dengan tujuan untuk mendapatkan nilai rata-rata zona hambat yang ditunjukkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun wangon dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara Difusi

Sampel	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata±SD
	I	II	III	
Konsentrasi 50 %				
Ekstrak	10	9,5	8	9,16±1,04
Fraksi <i>n</i> -heksana	10	9	8	9±1
Fraksi etil asetat	14	12,5	11	12,5±1,5
Fraksi air	8	7,5	7	7,5±0,5
Konsentrasi 25 %				
Ekstrak	8,5	8	8	8,16±0,28
Fraksi <i>n</i> -heksana	8	7	6,5	7,1±0,76
Fraksi etil asetat	11	10,5	9	10,16 ±1,04
Fraksi air	6	5	5,5	5,5±0,5
Konsentrasi 12,5 %				
Ekstrak	7	6	5	6±1
Fraksi <i>n</i> -heksana	7,7	5	5,9	6,2±1,37
Fraksi etil asetat	8	7,5	6,6	7,36±0,7
Fraksi air	5,5	5	5	5,16±0,28
Kontrol +	25	22,5	21	22,83 ± 2,02
Kontrol -	0	0	0	0

**Keterangan : kontrol + : Ciprofloksasin
kontrol - : DMSO 5%**

Berdasarkan tabel 8 di atas dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% merupakan fraksi yang paling efektif karena memiliki zona hambat paling besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 jika dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana, air, dan ekstrak daun wangon. Hal ini kemungkinan disebabkan karena fraksi etil asetat mampu menarik senyawa semipolar seperti flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri lebih baik atau potensial dibandingkan dengan senyawa yang terkandung dalam fraksi *n*-heksana maupun fraksi air. Kontrol positif (Ciprofloksasin) terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan diameter rata-rata yang paling besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat konsentrasi 50%. DMSO 5% tidak memiliki aktivitas antibakteri. DMSO 5% digunakan untuk pembuatan pengenceran ekstrak, fraksi etil asetat dan *n*-heksana. Dari hasil pengujian daun wangon memiliki aktivitas antibakteri, terbukti dengan adanya diameter zona

hambat yang terbentuk, hal ini menandakan bahwa daun wangon dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian yang dilakukan oleh Duraipandiyani (2006), ekstrak daun wangon dengan metode perkolasi dingin menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Majumder *et al* (2015) menggunakan sinonim daun wangon yaitu *Olax psittacorum* dimana tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Bagian dari tanaman *Olax psittacorum* yang dipakai adalah daun dan batangnya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut metanol. Bakteri *Staphylococcus aureus* diuji dengan konsentrasi 100 mg/ml tidak menunjukkan daya hambat pada daun tetapi menunjukkan daya hambat 7,33 mm pada batang, sedangkan pada konsentrasi 250 mg/ml menunjukkan daya hambat 5,67 mm pada daun dan 9 mm pada batang.

Analisa data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisa of Varian (ANOVA) *one way* untuk membandingkan ekstrak, fraksi etil asetat, *n*-heksana dan air dari daun wangon pada setiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% dari ekstrak, fraksi etil asetat, *n*-heksana dan air dari daun wangon, kontrol positif dan kontrol negatif juga diikuti sertakan dalam analisis ANOVA *one way*, karena untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dengan membandingkan hubungan antara ekstrak, fraksi etil asetat, *n*-heksana dan air dari daun wangon, kontrol positif dan kontrol negatif.

Hasil signifikan yang diperoleh dari uji *One-Sample Kolmogorov-Sminov* adalah $0,086 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA. Berdasarkan tabel Tukey dan Bonferroni test muncul tanda * pada kolom *Mean Difference*, tanda * menunjukkan bahwa adanya perbedaan diameter daya hambat antibakteri yang signifikan. Jika tidak ada tanda *, maka diameter daya hambat aktivitas antibakteri tidak signifikan sehingga tidak memiliki perbedaan. Hasil analisis Tukey dan Bonferroni test dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel *Homogeneous Subsets* bertujuan untuk mengetahui mencari

kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Tabel *Homogeneous Subsets* terbagi menjadi 7 subset, dimana hasil yang didapatkan semakin ke kanan semakin besar daya hambatnya. Berbeda dengan sampel yang termasuk dalam satu subset tidak mempunyai perbedaan secara signifikan dalam menghambat aktivitas antibakteri. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 16.

11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

Hasil uji difusi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, karena memiliki zona hambat yang paling besar. Rata-rata diameter zona hambat fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% adalah 12,5 mm, 10,16 mm, dan 7,36 mm maka dilanjutkan dengan uji dilusi. Konsentrasi yang digunakan dalam uji dilusi untuk mendapatkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; dan 0,098%; kontrol (+) dan kontrol (-). Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun wangon dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara Dilusi

Konsentrasi Fraksi etil asetat	Replikasi		
	I	II	III
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,562%	+	+	+
0,781%	+	+	+
0,391%	+	+	+
0,195%	+	+	+
0,098%	+	+	+
Kontrol + (Susupensi bakteri)	+	+	+
Kontrol - (Fraksi etil asetat)	-	-	-

Keterangan : (+) ada pertumbuhan bakteri
(-) tidak ada pertumbuhan bakteri

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan

dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, akan tetapi pada saat uji dilusi hal ini sulit untuk diamati karena fraksi yang digunakan terlihat pekat sehingga perlu dilakukan pengamatan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) untuk masing-masing tabung. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menginokulasikan larutan cairan dari tabung ke media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambahi dengan 2-3 tetes kalium tellurit kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil yang diamati adalah tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi tertentu, sehingga nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC ditandai dengan terbentuknya koloni yang berwarna hitam dengan pinggiran yang berwarna kuning disekitar koloni. Warna hitam pada koloni terbentuk karena dapat mereduksi telurit dan warna kuning disekitar koloni terbentuk karena bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk memfermentasi manitol menjadi asam.

Uji dilusi dalam penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi etil asetat daun wangen dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; dan 0,098%; dilakukan dengan 3 replikasi. Replikasi pertama pada konsentrasi 50% dan 25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Replikasi kedua dan ketiga juga menunjukkan hasil yang sama, maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi yang paling efektif dari daun wangen adalah 25%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25293.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25293.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi etil asetat daun daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 adalah 25%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun wangon (*Olax scandens* Roxb.) terhadap bakteri patogen lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengujian aktivitas antibakteri daun wangon dengan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [Departemen Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Kemenkes RI] Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika Dan Pengendaliannya*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Denyer SP, Norman AH, Sean PG. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. 7th. Victoria. Australia: Blackwell. Science. hlm 346-363.
- Duraipandiyam V, Muniappan A, Savarimuthu I. 2006. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 6:1-7.
- Eko. 2009. Wangon. <https://ekoyw.wordpress.com/2009/12/26/wangon/> [diakses tanggal 20 Oktober 2017]
- Gan S, Setiabudi R, Syamsudin U, Bustami ZS. 1987. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Ganiswarna S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Penerbit UI : Jakarta
- Garrity GM, Timothy GL, James RC, Scott HH, Jean E, and Brian JT. 2007. *Taxonomic outline of the bacteria and Archaea, Release 7,7*. Michigan: Michigan State University Board of Trustees.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Niksolihin S, editor. Bandung: ITB.
- Hariana A. 2004. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Harmita, Maksum M. 2005. *Buku ajar Analisis Hayati*. Edisi II Jakarta: Departemen Farmasi FMIPPA Universitas Indonesia.
- Indian Medical Plant. https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-0-387-70638-2_1089 [diakses tanggal 20 oktober 2017]
- Ismarani. 2012. Potensi senyawa tanin dalam menunjang produksi ramah lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3:46.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JL, Omston LN. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-23, Nugroho, Maulany RF, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-16. Gerard Bonang, penerjemah : Jakarta : EGC Kedokteran. hlm Terjemahan dari: 330 – 331.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional Dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya Kediri.
- Madduluri S. Rao K. Babu. Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5: 679-684.
- Majumder R, Dhara M, Adhikari L. 2015. Comparative study of leaves and stem methanolic extract on antioxidant and antimicrobial activity through quantitative evaluation of phytoconstituens. *International Journal of Engineering Technology Management and Applied Sciences* 3:210.
- Malaysia Biodiversity Information System (MyBIS). <https://www.mybis.gov.my/sp/43579> [diakses tanggal 02 Februari 2018].
- Mishra R. Gandhamardan Hill Range, Orissa, India – A Treasure Trove of Medicinal Plants, Indian Herbal Traditions. Available from; <http://www.nagarjuneducationsociety.blogspot.com/> [diakses tanggal 15 Juni 2011].
- Naik R, Borkar S D, Acharya R N, Nariya M. 2015. Evaluation of antipyretic activity of *Olex scandens* (Roxb.) stem bark. *Research & Reviews: Journal of Pharmacology*, Volume 5, Issue 1
- Naik R, Borkar SD, Harisha CR, Acharya RN. 2013. A detailed pharmacognostical evaluation on leaf of *Olex scandens* Roxb. *Global Journal Research On Medical Plants & Indigenous Medicine* 2:246–253.

- Nurhalimah H, Wijayanti N, Widyaningsih TD. 2015. Efek antidiare ekstrak daun beluntas (*Pluchea Indica L.*) terhadap mencit jantan yang diinduksi bakteri *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3:1083-1094.
- Owk Kumar A, and Lagudu Naidu M. 2016. Evaluation of antimicrobial activity and phytochemicals in *Olox scandens* Roxb. roots. *An International Journal Of Pharmaceutical Sciences* 7:235.
- Pelczar MJ dan Chan ECS. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Plant Resources of South-East Asia. <https://uses.plantnet-project.org/en/Olax-psittacorum> (PROSEA) [diakses tanggal 2 Mei 2016]
- Prabhakar G, Kamalakar P. 2014. Phytochemical investigation of whole fruit of *Olox scandens* Roxb. *Journal of Applied Science And Research* 2:53-60.
- Praeparandi. 2006. *Card Systm Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. hlm 9.
- Pratiwi SI. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga: Jakarta. Hlm 155-161.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta. Buku Kedokteran ECG.
- Redha A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Berlian* 9:196-202.
- Robinson T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. hlm 132-136.
- Setyowati WAE, Sri RDA, Ashadi, Bakti M, Cici PR. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*.
- Siswandono dan Soekardjo B. 2008. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. hlm: 128.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internasional Pharmaceutical Science* 1:113-116.
- Udayakumar M dan Parthasarathy N. 2010. Angiosperms, tropical dry evergreen forest of southern coromandel coast, India. *Journal Of Species List And Distribution* 6: 368-381.

Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press. hlm 41-47.

Warsa UC. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. hlm: 103-124.

WHO. 2014. *Indonesia : Health Profile*. WHO Technical Report Series. hlm:94

WorldPlants.<http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2015/details/species/id/e8af02c492a6eef0e1075dc4e3d72d9c> [diakses Januari 2015].

L

A

M

P


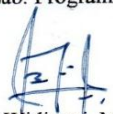

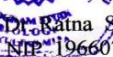

I

R

A

N

Lampiran 1. Determinasi tanaman wangon (*Olox scandens* Roxb.)

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS SEBELAS MARET FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI Jl. Ir. Sutarni 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375 http://www.biology.mipa.uns.ac.id , E-mail biologi@mipa.uns.ac.id
	Nomor : 211/UN27.9.6.4/Lab/2017 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan Lampiran : -
Nama Pemesan : Lilik Wandari NIM : 20144131A Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta	
HASIL DETERMINASI TUMBUHAN	
Nama Sampel : <i>Olox scandens</i> Roxb. Familia : Olacaceae	
Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59a-60b-64b-66a _____ 125. Olacaceae 1b-4b _____ 1. Olox 1a _____ <i>Olox scandens</i> Roxb.	
Deskripsi Tumbuhan : Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak atau merambat, tinggi 2-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bentuk bulat, berkayu, bercabang, permukaan cabang muda berambut halus, tetapi permukaan cabang tua permukaan gundul, cabang yang lebih tua kadangkala dilengkapi dengan alat tambahan berupa tanduk. Daun : tunggal, tersusun berseling; helaian anak daun berbentuk bulat telur-ellips-memanjang, panjang 2-9.5 cm, lebar 0.75-3.5 cm, pangkal tumpul atau membulat atau tidak simetris, tepi rata, ujung runcing atau tumpul atau membulat, pertulangan menyirip, permukaan gundul, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; tangkai daun bulat, panjang 0.5-0.75, hijau. Bunga : bunga majemuk berupa tandan, di ketiak daun, bunga tersusun dalam 2 baris, panjang tandan 0.5-3.5 cm, berambut pendek dan padat; panjang daun pelindung bunga 2 mm; panjang tangkai bunga 1-1.5 mm; kelopak bunga hijau; mahkota bunga 5-6, 3 diantaranya berwarna putih, panjang 7-9 mm, permukaan gundul; benangsari 3; benangsari mandul (staminodia) 5-6, bercabang 2, cabangnya kuning, sisanya putih; kepala putik bercuping 3, panjang tangkai putik 1.5-6 mm, bakal buah menumpang dan beruang 3. Buah : buah batu (drupa), bentuk ellipsoid, warna jingga, terdapat sisa kelopak bunga di bagian pangkal dan sisa tangkai putik di ujungnya. Biji : kecil, banyak.	
Kepala Lab. Program Studi Biologi  Dr. Tetri Widiyani, M.Si. NIP. 19711224 200003 2 001	Surakarta, 9 Oktober 2017 Penanggungjawab Determinasi Tumbuhan  Suratman, S.Si., M.Si. NIP. 19800705 200212 1 002
Mengetahui Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19660714 199903 2 001	
	

Lampiran 2. Gambar daun wangon dan serbuk daun wangon



Daun wangon



Serbuk daun wangon

Lampiran 3. Alat yang digunakan



Botol maserasi



Vacum buchner



Rotary evaporator



Oven



Waterbath



Alat fraksinasi



Moisture Balance



Autoclave



Inkas



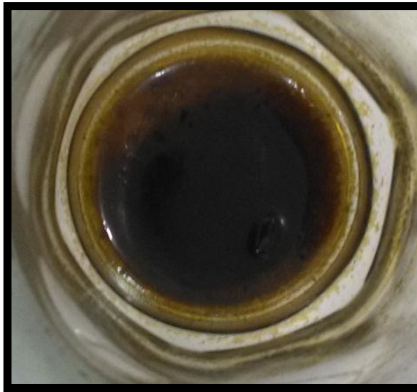
Lampiran 4. Gambar ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun wangen



Ekstrak daun wangen



Fraksi *n*-heksana

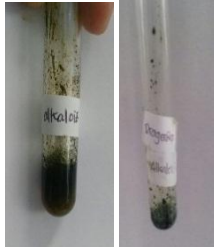

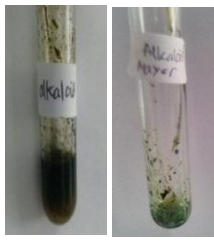







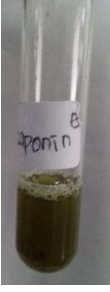






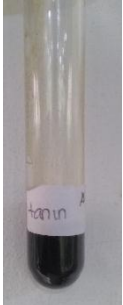

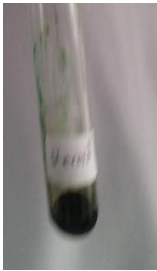



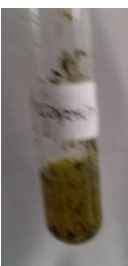


Fraksi etil asetat



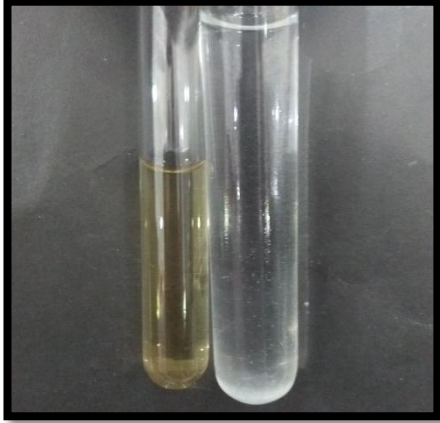
Fraksi air

Lampiran 5. Gambar hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun wangen

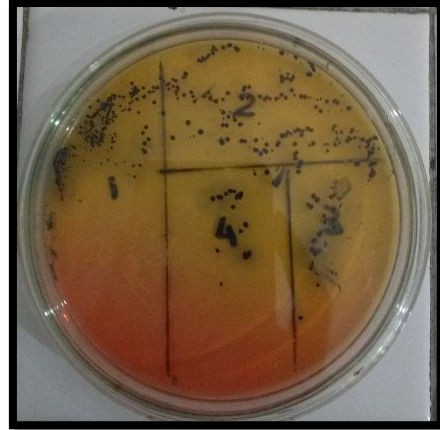
Kandungan kimia	Esktrak	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Alkaloid	 (-)	 (-)	 (-)	 (-)
Flavonoid	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)
Saponin	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)

Tanin	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)
Steroid	 (+)	 (+)	 (+)	 (-)
Fenolik	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)

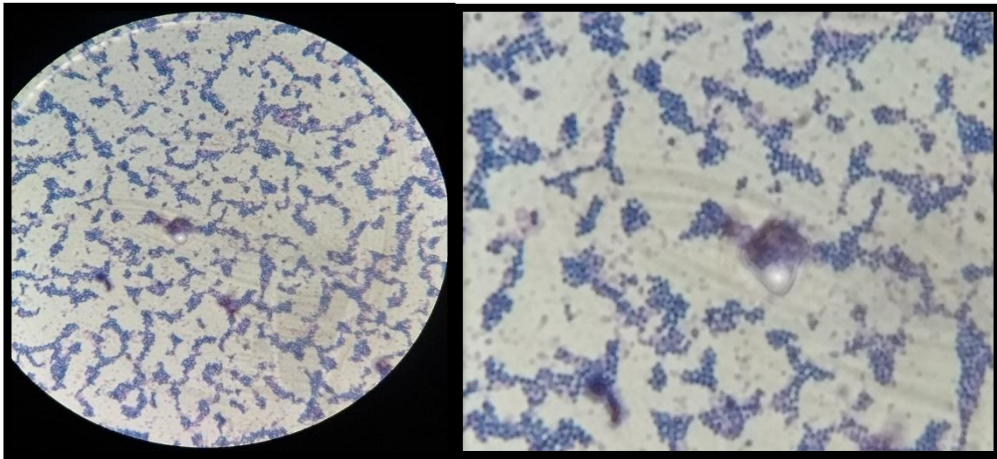
**Lampiran 6. Gambar hasil identifikasi bakteri dan pembuatan suspensi
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



Suspensi bakteri standar Mc Farland



**Identifikasi koloni bakteri pada
media VJA**



Identifikasi dengan pewarnaan Gram



Uji katalase



Uji koagulase

Lampiran 7. Gambar larutan stok DMSO 5%, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun wangon



Larutan stok konsentrasi 50%



Larutan stok konsentrasi 25%



Larutan stok konsentrasi 12,5%

Lampiran 8. Hasil uji difusi DMSO 5%, Ciprofloksasin, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari daun wangon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan media MHA dan kertas cakram.

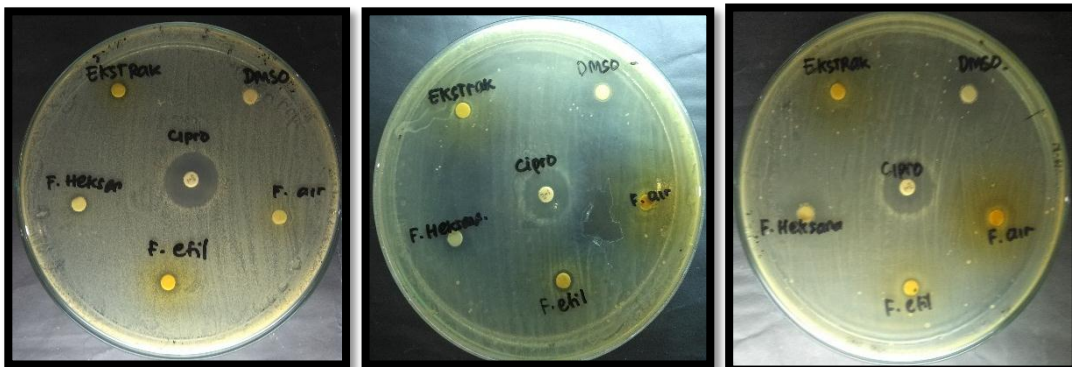
Konsentrasi 50%



Konsentrasi 25%

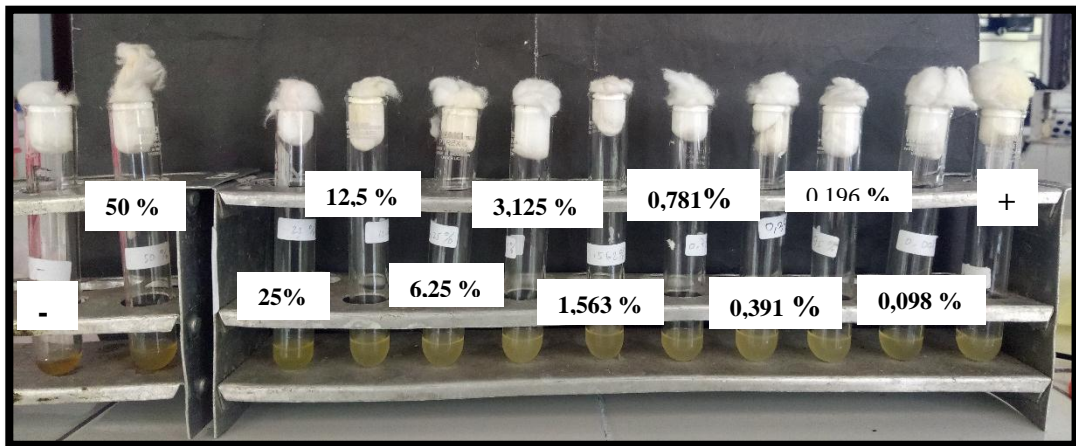


Konsentrasi 12,5%

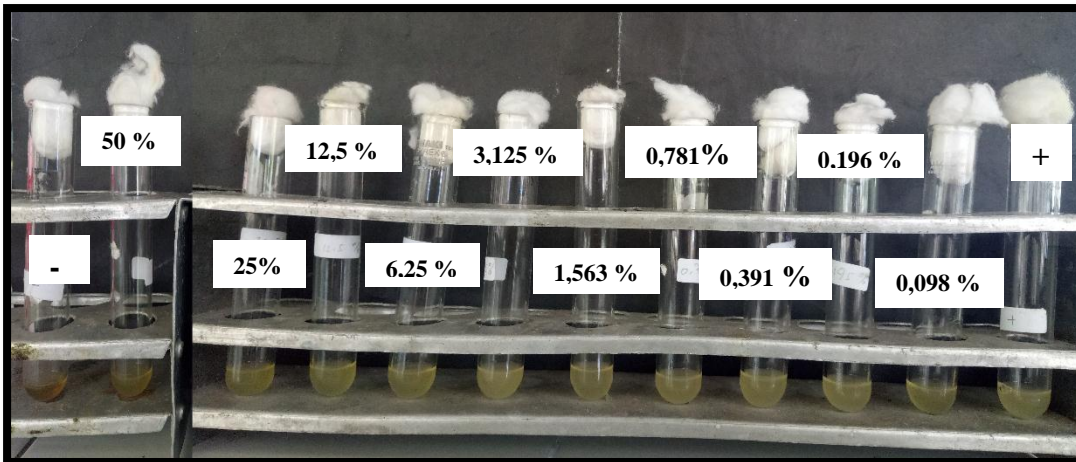


Lampiran 9. Hasil uji dilusi dari fraksi yang paling efektif ekstrak daun wangen terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pengenceran

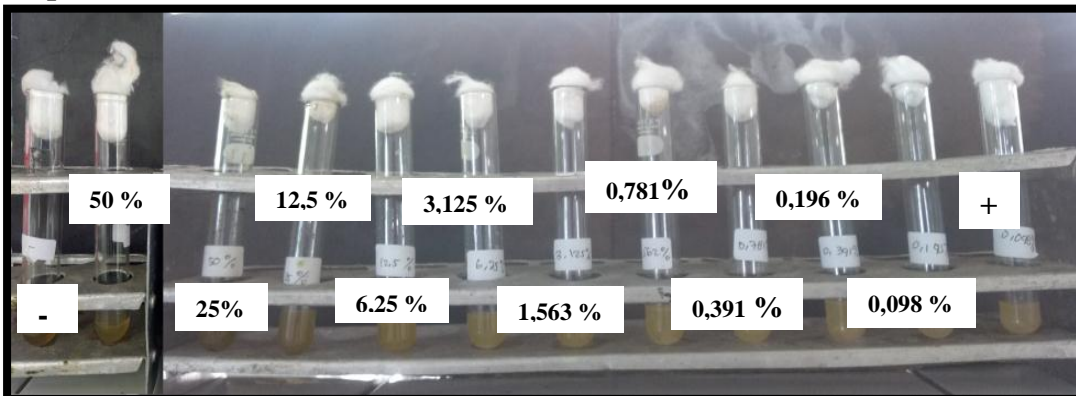
Replikasi 1.



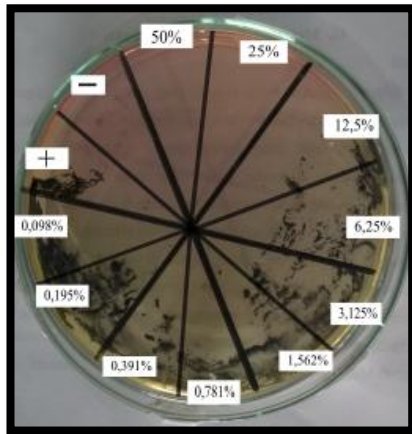
Replikasi 2.



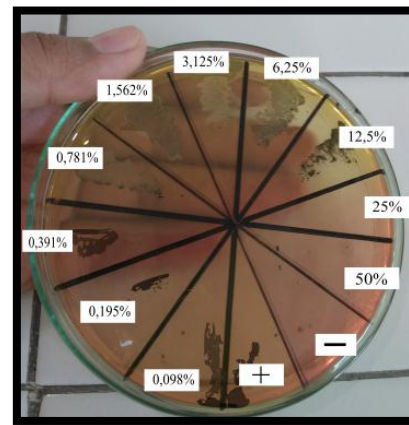
Replikasi 3.



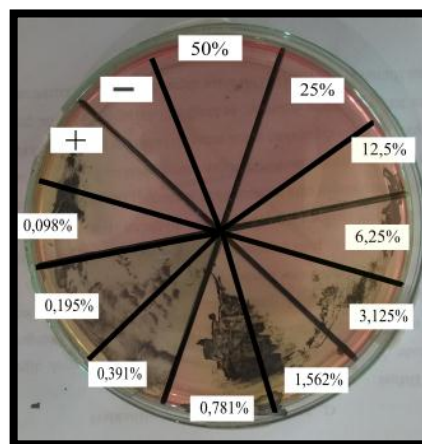
Lampiran 10. Hasil goresan uji dilusi dari fraksi yang paling efektif ekstrak daun wangen terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Lampiran 11. Hasil perhitungan rendemen bobot basah terhadap bobot kering daun wangen

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
3000	2100	70

Perhitungan rendemen

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{2100}{3000} \times 100\% = 70\%$$

Lampiran 12. Hasil perhitungan rendemen ekstrak

Serbuk daun wangen (g)	Hasil ekstrak kental (g)	Rendemen ekstrak (%)b/b
1950	109	5,58

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{109}{1950} \times 100\% = 5,58\%$$

Lampiran 13. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi daun wangen

Bobot ekstrak (g)	Pelarut	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)b/b
90	<i>n</i> -heksana	6,67	7,41
	Etil asetat	5,82	6,46
	Air	9,06	10,06

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

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{6,67}{90} \times 100\% = 7,41\%$$

$$\text{Rendemen fraksi etil asetat} = \frac{5,82}{90} \times 100\% = 6,46\%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{9,06}{90} \times 100\% = 10,06\%$$

Lampiran 14. Hasil perhitungan pembuatan larutan stok

A. Larutan stok difusi

- Konsentrasi 50 % (b/v) $= 50 \text{ g}/100 \text{ ml}$
 $= 1 \text{ g}/2 \text{ ml}$

Ditimbang 1 gram fraksi, kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% ad 2 ml.

- Konsentrasi 25 % (b/v) $V \cdot C (50\%) = V (2 \text{ ml}) \cdot C (25\%)$
 $V = 1 \text{ ml}$

Dipipet 1 ml larutan induk konsentrasi 50%, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 2 ml.

- Konsentrasi 12,5 % (b/v) $V \cdot C (50\%) = V (2 \text{ ml}) \cdot C (12,5\%)$
 $V = 1 \text{ ml}$

Dipipet 1 ml larutan induk konsentrasi 25%, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 2 ml.

B. Larutan stok dilusi fraksi etil asetat

Larutan stok 50% (b/v) $= 50 \text{ g}/100 \text{ ml}$

Konsentrasi 50% $= 1 \text{ g}/2 \text{ ml}$

Ditimbang 1 gram fraksi etil asetat, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 2 ml.

Tabung 3 sampai 11 diisi media BHI sebanyak 0,5 ml terlebih dahulu.

1. Konsentrasi 50%

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok awal kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2.

2. Konsentrasi 25 %

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (50%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 yang telah berisi media BHI.

- 3. Konsentrasi 12,5 % $V \cdot C (25\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (12,5\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (25%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 4 yang telah berisi media BHI.

4. Konsentrasi 6,25 % $V \cdot C (12,5\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (6,25\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (12,5%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 5 yang telah berisi media BHI.

5. Konsentrasi 3,125 % $V \cdot C (6,25\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (3,125\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (6,25%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 6 yang telah berisi media BHI.

6. Konsentrasi 1,563 % $V \cdot C (3,125\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (1,563\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (3,125%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 7 yang telah berisi media BHI.

7. Konsentrasi 0,781 % $V \cdot C (1,563\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,781\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (1,563%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 8 yang telah berisi media BHI.

8. Konsentrasi 0,391 % $V \cdot C (0,781\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,391\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 9 yang telah berisi media BHI.

9. Konsentrasi 0,196 % $V \cdot C (0,391\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,196\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (0,391%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10 yang telah berisi media BHI.

10. Konsentrasi 0,098 % $V \cdot C (0,196\%) = V (1 \text{ ml}) \cdot C (0,098\%)$
 $V = 0,5 \text{ ml}$

Dipipet 0,5 ml dari larutan stok (0,196%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 11 yang telah berisi media BHI. Dipipet dari tabung 11 sebanyak 0,5 ml lalu dibuang.

Dari tabung reaksi 2 sampai tabung reaksi 11 dipipet masing-masing 0,5 ml bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kontrol negatif (-) = 1 ml fraksi etil asetat

Kontrol positif (+) = 1 ml suspensi bakteri

Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media

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

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4.

2. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat Infussion	2,0 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4.

3. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-) mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH suasana basa 7,4.

Lampiran 16. Analisa data uji Anova fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanol daun ashitaba, kontrol positif dan negatif

NPar Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	42	8.3381	5.00283	.00	25.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.3381
	Std. Deviation	5.00283
Most Extreme Differences	Absolute	.194
	Positive	.194
	Negative	-.181
Kolmogorov-Smirnov Z		1.255
Asymp. Sig. (2-tailed)		.086

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.741	13	28	.107

Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimu m	Maximu m
					Lower Bound	Upper Bound		
					Ciprofloksasin	3		
DMSO 5%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Ekstrak 12,5%	3	6.0000	1.00000	.57735	3.5159	8.4841	5.00	7.00
Ekstrak 25%	3	8.1667	.28868	.16667	7.4496	8.8838	8.00	8.50
Ekstrak 50%	3	9.1667	1.04083	.60093	6.5811	11.7522	8.00	10.00
n-heksana 12,5%	3	6.2000	1.37477	.79373	2.7849	9.6151	5.00	7.70
n-heksana 25%	3	7.1667	.76376	.44096	5.2694	9.0640	6.50	8.00
n-heksana 50%	3	9.0000	1.00000	.57735	6.5159	11.4841	8.00	10.00
Etil asetat 12,5%	3	7.3667	.70946	.40961	5.6043	9.1291	6.60	8.00
Etil asetat 25%	3	10.1667	1.04083	.60093	7.5811	12.7522	9.00	11.00
Etil asetat 50%	3	12.5000	1.50000	.86603	8.7738	16.2262	11.00	14.00
Air 12,5%	3	5.1667	.28868	.16667	4.4496	5.8838	5.00	5.50
Air 25%	3	5.5000	.50000	.28868	4.2579	6.7421	5.00	6.00
Air 50%	3	7.5000	.50000	.28868	6.2579	8.7421	7.00	8.00
Total	42	8.3381	5.00283	.77195	6.7791	9.8971	.00	25.00

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
						Tukey HSD	Ciprofloksasin
			*			4	3
		Ekstrak 12,5%	16.83333	.82067	.000	13.829	19.837
			*			4	3
		Ekstrak 25%	14.66667	.82067	.000	11.662	17.670
			*			7	6
		Ekstrak 50%	13.66667	.82067	.000	10.662	16.670
			*			7	6
		n-heksana 12,5%	16.63333	.82067	.000	13.629	19.637
			*			4	3
		n-heksana 25%	15.66667	.82067	.000	12.662	18.670
			*			7	6
		n-heksana 50%	13.83333	.82067	.000	10.829	16.837
			*			4	3
		Etil asetat 12,5%	15.46667	.82067	.000	12.462	18.470
			*			7	6
		Etil asetat 25%	12.66667	.82067	.000	9.6627	15.670
			*				6
		Etil asetat 50%	10.33333	.82067	.000	7.3294	13.337
			*				3
		Air 12,5%	17.66667	.82067	.000	14.662	20.670
			*			7	6
		Air 25%	17.33333	.82067	.000	14.329	20.337
			*			4	3
		Air 50%	15.33333	.82067	.000	12.329	18.337
			*			4	3

DMSO 5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		22.83333			25.837	19.829
		*			3	4
	Ekstrak 12,5%	-6.00000*	.82067	.000	-9.0040	-2.9960
	Ekstrak 25%	-8.16667*	.82067	.000	-	-5.1627
					11.170	
					6	
	Ekstrak 50%	-9.16667*	.82067	.000	-	-6.1627
					12.170	
					6	
	n-heksana 12,5%	-6.20000*	.82067	.000	-9.2040	-3.1960
	n-heksana 25%	-7.16667*	.82067	.000	-	-4.1627
					10.170	
					6	
	n-heksana 50%	-9.00000*	.82067	.000	-	-5.9960
					12.004	
					0	
	Etil asetat 12,5%	-7.36667*	.82067	.000	-	-4.3627
					10.370	
					6	
	Etil asetat 25%	-	.82067	.000	-	-7.1627
		10.16667			13.170	
		*			6	
	Etil asetat 50%	-	.82067	.000	-	-9.4960
		12.50000			15.504	
		*			0	
	Air 12,5%	-5.16667*	.82067	.000	-8.1706	-2.1627
	Air 25%	-5.50000*	.82067	.000	-8.5040	-2.4960
	Air 50%	-7.50000*	.82067	.000	-	-4.4960
					10.504	
					0	
Ekstrak 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		16.83333			19.837	13.829
		*			3	4

	DMSO 5%	6.00000*	.82067	.000	2.9960	9.0040
	Ekstrak 25%	-2.16667	.82067	.361	-5.1706	.8373
	Ekstrak 50%	-3.16667*	.82067	.032	-6.1706	-.1627
	n-heksana 12,5%	-.20000	.82067	1.000	-3.2040	2.8040
	n-heksana 25%	-1.16667	.82067	.971	-4.1706	1.8373
	n-heksana 50%	-3.00000	.82067	.051	-6.0040	.0040
	Etil asetat 12,5%	-1.36667	.82067	.911	-4.3706	1.6373
	Etil asetat 25%	-4.16667*	.82067	.001	-7.1706	-1.1627
	Etil asetat 50%	-6.50000*	.82067	.000	-9.5040	-3.4960
	Air 12,5%	.83333	.82067	.999	-2.1706	3.8373
	Air 25%	.50000	.82067	1.000	-2.5040	3.5040
	Air 50%	-1.50000	.82067	.846	-4.5040	1.5040
Ekstrak 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		14.66667			17.670	11.662
		*			6	7
	DMSO 5%	8.16667*	.82067	.000	5.1627	11.170
						6
	Ekstrak 12,5%	2.16667	.82067	.361	-.8373	5.1706
	Ekstrak 50%	-1.00000	.82067	.992	-4.0040	2.0040
	n-heksana 12,5%	1.96667	.82067	.506	-1.0373	4.9706
	n-heksana 25%	1.00000	.82067	.992	-2.0040	4.0040
	n-heksana 50%	-.83333	.82067	.999	-3.8373	2.1706
	Etil asetat 12,5%	.80000	.82067	.999	-2.2040	3.8040
	Etil asetat 25%	-2.00000	.82067	.481	-5.0040	1.0040
	Etil asetat 50%	-4.33333*	.82067	.001	-7.3373	-1.3294
	Air 12,5%	3.00000	.82067	.051	-.0040	6.0040
	Air 25%	2.66667	.82067	.121	-.3373	5.6706
	Air 50%	.66667	.82067	1.000	-2.3373	3.6706

Ekstrak 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		13.66667			16.670	10.662
		*			6	7
	DMSO 5%	9.16667*	.82067	.000	6.1627	12.170
						6
	Ekstrak 12,5%	3.16667*	.82067	.032	.1627	6.1706
	Ekstrak 25%	1.00000	.82067	.992	-2.0040	4.0040
	n-heksana 12,5%	2.96667	.82067	.055	-.0373	5.9706
	n-heksana 25%	2.00000	.82067	.481	-1.0040	5.0040
	n-heksana 50%	.16667	.82067	1.000	-2.8373	3.1706
	Etil asetat 12,5%	1.80000	.82067	.636	-1.2040	4.8040
	Etil asetat 25%	-1.00000	.82067	.992	-4.0040	2.0040
	Etil asetat 50%	-3.33333*	.82067	.020	-6.3373	-.3294
	Air 12,5%	4.00000*	.82067	.003	.9960	7.0040
	Air 25%	3.66667*	.82067	.007	.6627	6.6706
	Air 50%	1.66667	.82067	.737	-1.3373	4.6706
n-heksana 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		16.63333			19.637	13.629
		*			3	4
	DMSO 5%	6.20000*	.82067	.000	3.1960	9.2040
	Ekstrak 12,5%	.20000	.82067	1.000	-2.8040	3.2040
	Ekstrak 25%	-1.96667	.82067	.506	-4.9706	1.0373
	Ekstrak 50%	-2.96667	.82067	.055	-5.9706	.0373
	n-heksana 25%	-.96667	.82067	.994	-3.9706	2.0373
	n-heksana 50%	-2.80000	.82067	.086	-5.8040	.2040
	Etil asetat 12,5%	-1.16667	.82067	.971	-4.1706	1.8373
	Etil asetat 25%	-3.96667*	.82067	.003	-6.9706	-.9627
	Etil asetat 50%	-6.30000*	.82067	.000	-9.3040	-3.2960
	Air 12,5%	1.03333	.82067	.989	-1.9706	4.0373
	Air 25%	.70000	.82067	1.000	-2.3040	3.7040
	Air 50%	-1.30000	.82067	.936	-4.3040	1.7040

n-heksana 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-12.
		15.66667			18.670	6627
		*			6	
	DMSO 5%	7.16667*	.82067	.000	4.1627	10.170
						6
	Ekstrak 12,5%	1.16667	.82067	.971	-1.8373	4.1706
	Ekstrak 25%	-1.00000	.82067	.992	-4.0040	2.0040
	Ekstrak 50%	-2.00000	.82067	.481	-5.0040	1.0040
	n-heksana 12,5%	.96667	.82067	.994	-2.0373	3.9706
	n-heksana 50%	-1.83333	.82067	.610	-4.8373	1.1706
	Etil asetat 12,5%	-.20000	.82067	1.000	-3.2040	2.8040
	Etil asetat 25%	-3.00000	.82067	.051	-6.0040	.0040
	Etil asetat 50%	-5.33333*	.82067	.000	-8.3373	-2.3294
	Air 12,5%	2.00000	.82067	.481	-1.0040	5.0040
	Air 25%	1.66667	.82067	.737	-1.3373	4.6706
	Air 50%	-.33333	.82067	1.000	-3.3373	2.6706
n-heksana 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		13.83333			16.837	10.829
		*			3	4
	DMSO 5%	9.00000*	.82067	.000	5.9960	12.004
						0
	Ekstrak 12,5%	3.00000	.82067	.051	-.0040	6.0040
	Ekstrak 25%	.83333	.82067	.999	-2.1706	3.8373
	Ekstrak 50%	-.16667	.82067	1.000	-3.1706	2.8373
	n-heksana 12,5%	2.80000	.82067	.086	-.2040	5.8040
	n-heksana 25%	1.83333	.82067	.610	-1.1706	4.8373
	Etil asetat 12,5%	1.63333	.82067	.761	-1.3706	4.6373
	Etil asetat 25%	-1.16667	.82067	.971	-4.1706	1.8373
	Etil asetat 50%	-3.50000*	.82067	.012	-6.5040	-.4960
	Air 12,5%	3.83333*	.82067	.004	.8294	6.8373

	Air 25%	3.50000*	.82067	.012	.4960	6. 5040
	Air 50%	1.50000	.82067	.846	-1.5040	4.5040
Etil asetat 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		15.46667			18.470	12.462
		*			6	7
	DMSO 5%	7.36667*	.82067	.000	4.3627	10.370
						6
	Ekstrak 12,5%	1.36667	.82067	.911	-1.6373	4.3706
	Ekstrak 25%	-.80000	.82067	.999	-3.8040	2.2040
	Ekstrak 50%	-1.80000	.82067	.636	-4.8040	1.2040
	n-heksana 12,5%	1.16667	.82067	.971	-1.8373	4.1706
	n-heksana 25%	.20000	.82067	1.000	-2.8040	3.2040
	n-heksana 50%	-1.63333	.82067	.761	-4.6373	1.3706
	Etil asetat 25%	-2.80000	.82067	.086	-5.8040	.2040
	Etil asetat 50%	-5.13333*	.82067	.000	-8.1373	-2.1294
	Air 12,5%	2.20000	.82067	.339	-.8040	5.2040
	Air 25%	1.86667	.82067	.584	-1.1373	4.8706
	Air 50%	-.13333	.82067	1.000	-3.1373	2.8706
Etil asetat 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-9.6627
		12.66667			15.670	
		*			6	
	DMSO 5%	10.16667	.82067	.000	7.1627	13.170
		*				6
	Ekstrak 12,5%	4.16667*	.82067	.001	1.1627	7.1706
	Ekstrak 25%	2.00000	.82067	.481	-1.0040	5.0040
	Ekstrak 50%	1.00000	.82067	.992	-2.0040	4.0040
	n-heksana 12,5%	3.96667*	.82067	.003	.9627	6.9706
	n-heksana 25%	3.00000	.82067	.051	-.0040	6.0040
	n-heksana 50%	1.16667	.82067	.971	-1.8373	4.1706
	Etil asetat 12,5%	2.80000	.82067	.086	-.2040	5.8040

	Etil asetat 50%	-2.33333	.82067	.260	-5.3373	.6706
	Air 12,5%	5.00000*	.82067	.000	1.9960	8.0040
	Air 25%	4.66667*	.82067	.000	1.6627	7.6706
	Air 50%	2.66667	.82067	.121	-.3373	5.6706
Etil asetat 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-7.3294
		10.33333			13.337	
		*			3	
	DMSO 5%	12.50000	.82067	.000	9.4960	15.504
		*				0
	Ekstrak 12,5%	6.50000*	.82067	.000	3.4960	9.5040
	Ekstrak 25%	4.33333*	.82067	.001	1.3294	7.3373
	Ekstrak 50%	3.33333*	.82067	.020	.3294	6.3373
	n-heksana 12,5%	6.30000*	.82067	.000	3.2960	9.3040
	n-heksana 25%	5.33333*	.82067	.000	2.3294	8.3373
	n-heksana 50%	3.50000*	.82067	.012	.4960	6.5040
	Etil asetat 12,5%	5.13333*	.82067	.000	2.1294	8.1373
	Etil asetat 25%	2.33333	.82067	.260	-.6706	5.3373
	Air 12,5%	7.33333*	.82067	.000	4.3294	10.337
						3
	Air 25%	7.00000*	.82067	.000	3.9960	10.004
						0
	Air 50%	5.00000*	.82067	.000	1.9960	8.0040
Air 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		17.66667			20.670	14.662
		*			6	7
	DMSO 5%	5.16667*	.82067	.000	2.1627	8.1706
	Ekstrak 12,5%	-.83333	.82067	.999	-3.8373	2.1706
	Ekstrak 25%	-3.00000	.82067	.051	-6.0040	.0040
	Ekstrak 50%	-4.00000*	.82067	.003	-7.0040	-.9960
	n-heksana 12,5%	-1.03333	.82067	.989	-4.0373	1.9706

	n-heksana 25%	-2.00000	.82067	.481	-5.0040	1.0040
	n-heksana 50%	-3.83333*	.82067	.004	-6.8373	-.8294
	Etil asetat 12,5%	-2.20000	.82067	.339	-5.2040	.8040
	Etil asetat 25%	-5.00000*	.82067	.000	-8.0040	-1.9960
	Etil asetat 50%	-7.33333*	.82067	.000	-	-4.3294
					10.337	
					3	
	Air 25%	-.33333	.82067	1.000	-3.3373	2.6706
	Air 50%	-2.33333	.82067	.260	-5.3373	.6706
Air 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		17.33333			20.337	14.329
		*			3	4
	DMSO 5%	5.50000*	.82067	.000	2.4960	8.5040
	Ekstrak 12,5%	-.50000	.82067	1.000	-3.5040	2.5040
	Ekstrak 25%	-2.66667	.82067	.121	-5.6706	.3373
	Ekstrak 50%	-3.66667*	.82067	.007	-6.6706	-.6627
	n-heksana 12,5%	-.70000	.82067	1.000	-3.7040	2.3040
	n-heksana 25%	-1.66667	.82067	.737	-4.6706	1.3373
	n-heksana 50%	-3.50000*	.82067	.012	-6.5040	-.4960
	Etil asetat 12,5%	-1.86667	.82067	.584	-4.8706	1.1373
	Etil asetat 25%	-4.66667*	.82067	.000	-7.6706	-1.6627
	Etil asetat 50%	-7.00000*	.82067	.000	-	-3.9960
					10.004	
					0	
	Air 12,5%	.33333	.82067	1.000	-2.6706	3.3373
	Air 50%	-2.00000	.82067	.481	-5.0040	1.0040
Air 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		15.33333			18.337	12.329
		*			3	4
	DMSO 5%	7.50000*	.82067	.000	4.4960	10.504
						0

		Ekstrak 12,5%	1.50000	.82067	.846	-1.5040	4.5040
		Ekstrak 25%	-.66667	.82067	1.000	-3.6706	2.3373
		Ekstrak 50%	-1.66667	.82067	.737	-4.6706	1.3373
		n-heksana 12,5%	1.30000	.82067	.936	-1.7040	4.3040
		n-heksana 25%	.33333	.82067	1.000	-2.6706	3.3373
		n-heksana 50%	-1.50000	.82067	.846	-4.5040	1.5040
		Etil asetat 12,5%	.13333	.82067	1.000	-2.8706	3.1373
		Etil asetat 25%	-2.66667	.82067	.121	-5.6706	.3373
		Etil asetat 50%	-5.00000*	.82067	.000	-8.0040	-1.9960
		Air 12,5%	2.33333	.82067	.260	-.6706	5.3373
		Air 25%	2.00000	.82067	.481	-1.0040	5.0040
Bonferroni	Ciprofloksasin	DMSO 5%	22.83333	.82067	.000	19.632	26.033
			+			9	7
		Ekstrak 12,5%	16.83333	.82067	.000	13.632	20.033
			+			9	7
		Ekstrak 25%	14.66667	.82067	.000	11.466	17.867
			+			3	1
		Ekstrak 50%	13.66667	.82067	.000	10.466	16.867
			+			3	1
		n-heksana 12,5%	16.63333	.82067	.000	13.432	19.833
			+			9	7
		n-heksana 25%	15.66667	.82067	.000	12.466	18.867
			+			3	1
		n-heksana 50%	13.83333	.82067	.000	10.632	17.033
			+			9	7
		Etil asetat 12,5%	15.46667	.82067	.000	12.266	18.667
			+			3	1
		Etil asetat 25%	12.66667	.82067	.000	9.4663	15.867
			+				1
		Etil asetat 50%	10.33333	.82067	.000	7.1329	13.533
			+				7

	Air 12,5%	17.66667 ⁺	.82067	.000	14.466 3	20.867 1
	Air 25%	17.33333 ⁺	.82067	.000	14.132 9	20.533 7
	Air 50%	15.33333 ⁺	.82067	.000	12.132 9	18.533 7
DMSO 5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		22.83333 ⁺			26.033 7	19.632 9
	Ekstrak 12,5%	-6.00000 ⁺	.82067	.000	-9.2004	-2.7996
	Ekstrak 25%	-8.16667 ⁺	.82067	.000	-	-4.9663
					11.367 1	
	Ekstrak 50%	-9.16667 ⁺	.82067	.000	-	-5.9663
					12.367 1	
	n-heksana 12,5%	-6.20000 ⁺	.82067	.000	-9.4004	-2.9996
	n-heksana 25%	-7.16667 ⁺	.82067	.000	-	-3.9663
					10.367 1	
	n-heksana 50%	-9.00000 ⁺	.82067	.000	-	-5.7996
					12.200 4	
	Etil asetat 12,5%	-7.36667 ⁺	.82067	.000	-	-4.1663
					10.567 1	
	Etil asetat 25%	-	.82067	.000	-	-6.9663
		10.16667 ⁺			13.367 1	
	Etil asetat 50%	-	.82067	.000	-	-9.2996
		12.50000 ⁺			15.700 4	
	Air 12,5%	-5.16667 ⁺	.82067	.000	-8.3671	-1.9663
	Air 25%	-5.50000 ⁺	.82067	.000	-8.7004	-2.2996

	Air 50%	-7.50000*	.82067	.000	-	-4.2996
					10.700	
					4	
Ekstrak 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		16.83333			20.033	13.632
		*			7	9
	DMSO 5%	6.00000*	.82067	.000	2.7996	9.2004
	Ekstrak 25%	-2.16667	.82067	1.000	-5.3671	1.0337
	Ekstrak 50%	-3.16667	.82067	.056	-6.3671	.0337
	n-heksana 12,5%	-20000	.82067	1.000	-3.4004	3.0004
	n-heksana 25%	-1.16667	.82067	1.000	-4.3671	2.0337
	n-heksana 50%	-3.00000	.82067	.095	-6.2004	.2004
	Etil asetat 12,5%	-1.36667	.82067	1.000	-4.5671	1.8337
	Etil asetat 25%	-4.16667*	.82067	.002	-7.3671	-.9663
	Etil asetat 50%	-6.50000*	.82067	.000	-9.7004	-3.2996
	Air 12,5%	.83333	.82067	1.000	-2.3671	4.0337
	Air 25%	.50000	.82067	1.000	-2.7004	3.7004
	Air 50%	-1.50000	.82067	1.000	-4.7004	1.7004
Ekstrak 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		14.66667			17.867	11.466
		*			1	3
	DMSO 5%	8.16667*	.82067	.000	4.9663	11.367
						1
	Ekstrak 12,5%	2.16667	.82067	1.000	-1.0337	5.3671
	Ekstrak 50%	-1.00000	.82067	1.000	-4.2004	2.2004
	n-heksana 12,5%	1.96667	.82067	1.000	-1.2337	5.1671
	n-heksana 25%	1.00000	.82067	1.000	-2.2004	4.2004
	n-heksana 50%	-.83333	.82067	1.000	-4.0337	2.3671
	Etil asetat 12,5%	.80000	.82067	1.000	-2.4004	4.0004
	Etil asetat 25%	-2.00000	.82067	1.000	-5.2004	1.2004
	Etil asetat 50%	-4.33333*	.82067	.001	-7.5337	-1.1329

	Air 12,5%	3.00000	.82067	.095	-2.004	6.2004
	Air 25%	2.66667	.82067	.273	-.5337	5.8671
	Air 50%	.66667	.82067	1.000	-2.5337	3.8671
Ekstrak 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		13.66667			16.867	10.466
		*			1	3
	DMSO 5%	9.16667*	.82067	.000	5.9663	12.367
						1
	Ekstrak 12,5%	3.16667	.82067	.056	-.0337	6.3671
	Ekstrak 25%	1.00000	.82067	1.000	-2.2004	4.2004
	n-heksana 12,5%	2.96667	.82067	.106	-.2337	6.1671
	n-heksana 25%	2.00000	.82067	1.000	-1.2004	5.2004
	n-heksana 50%	.16667	.82067	1.000	-3.0337	3.3671
	Etil asetat 12,5%	1.80000	.82067	1.000	-1.4004	5.0004
	Etil asetat 25%	-1.00000	.82067	1.000	-4.2004	2.2004
	Etil asetat 50%	-3.33333*	.82067	.032	-6.5337	-.1329
	Air 12,5%	4.00000*	.82067	.004	.7996	7.2004
	Air 25%	3.66667*	.82067	.011	.4663	6.8671
Air 50%	1.66667	.82067	1.000	-1.5337	4.8671	
n-heksana 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		16.63333			19.833	13.432
		*			7	9
	DMSO 5%	6.20000*	.82067	.000	2.9996	9.4004
	Ekstrak 12,5%	.20000	.82067	1.000	-3.0004	3.4004
	Ekstrak 25%	-1.96667	.82067	1.000	-5.1671	1.2337
	Ekstrak 50%	-2.96667	.82067	.106	-6.1671	.2337
	n-heksana 25%	-.96667	.82067	1.000	-4.1671	2.2337
	n-heksana 50%	-2.80000	.82067	.180	-6.0004	.4004
	Etil asetat 12,5%	-1.16667	.82067	1.000	-4.3671	2.0337
	Etil asetat 25%	-3.96667*	.82067	.004	-7.1671	-.7663
	Etil asetat 50%	-6.30000*	.82067	.000	-9.5004	-3.0996
	Air 12,5%	1.03333	.82067	1.000	-2.1671	4.2337

	Air 25%	.70000	.82067	1.000	-2.5004	3.9004
	Air 50%	-1.30000	.82067	1.000	-4.5004	1.9004
n-heksana 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		15.66667			18.867	12.466
		*			1	3
	DMSO 5%	7.16667*	.82067	.000	3.9663	10.367
						1
	Ekstrak 12,5%	1.16667	.82067	1.000	-2.0337	4.3671
	Ekstrak 25%	-1.00000	.82067	1.000	-4.2004	2.2004
	Ekstrak 50%	-2.00000	.82067	1.000	-5.2004	1.2004
	n-heksana 12,5%	.96667	.82067	1.000	-2.2337	4.1671
	n-heksana 50%	-1.83333	.82067	1.000	-5.0337	1.3671
	Etil asetat 12,5%	-.20000	.82067	1.000	-3.4004	3.0004
	Etil asetat 25%	-3.00000	.82067	.095	-6.2004	.2004
	Etil asetat 50%	-5.33333*	.82067	.000	-8.5337	-2.1329
	Air 12,5%	2.00000	.82067	1.000	-1.2004	5.2004
	Air 25%	1.66667	.82067	1.000	-1.5337	4.8671
	Air 50%	-.33333	.82067	1.000	-3.5337	2.8671
n-heksana 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		13.83333			17.033	10.632
		*			7	9
	DMSO 5%	9.00000*	.82067	.000	5.7996	12.200
						4
	Ekstrak 12,5%	3.00000	.82067	.095	-.2004	6.2004
	Ekstrak 25%	.83333	.82067	1.000	-2.3671	4.0337
	Ekstrak 50%	-.16667	.82067	1.000	-3.3671	3.0337
	n-heksana 12,5%	2.80000	.82067	.180	-.4004	6.0004
	n-heksana 25%	1.83333	.82067	1.000	-1.3671	5.0337
	Etil asetat 12,5%	1.63333	.82067	1.000	-1.5671	4.8337
	Etil asetat 25%	-1.16667	.82067	1.000	-4.3671	2.0337
	Etil asetat 50%	-3.50000*	.82067	.019	-6.7004	-.2996

	Air 12,5%	3.83333*	.82067	.006	.6329	7.0337
	Air 25%	3.50000*	.82067	.019	.2996	6.7004
	Air 50%	1.50000	.82067	1.000	-1.7004	4.7004
Etil asetat 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		15.46667			18.667	12.266
		*			1	3
	DMSO 5%	7.36667*	.82067	.000	4.1663	10.567
						1
	Ekstrak 12,5%	1.36667	.82067	1.000	-1.8337	4.5671
	Ekstrak 25%	-.80000	.82067	1.000	-4.0004	2.4004
	Ekstrak 50%	-1.80000	.82067	1.000	-5.0004	1.4004
	n-heksana 12,5%	1.16667	.82067	1.000	-2.0337	4.3671
	n-heksana 25%	.20000	.82067	1.000	-3.0004	3.4004
	n-heksana 50%	-1.63333	.82067	1.000	-4.8337	1.5671
	Etil asetat 25%	-2.80000	.82067	.180	-6.0004	.4004
	Etil asetat 50%	-5.13333*	.82067	.000	-8.3337	-1.9329
	Air 12,5%	2.20000	.82067	1.000	-1.0004	5.4004
	Air 25%	1.86667	.82067	1.000	-1.3337	5.0671
	Air 50%	-.13333	.82067	1.000	-3.3337	3.0671
	Etil asetat 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-
		12.66667			15.867	
		*			1	
DMSO 5%		10.16667	.82067	.000	6.9663	13.367
		*				1
Ekstrak 12,5%		4.16667*	.82067	.002	.9663	7.3671
Ekstrak 25%		2.00000	.82067	1.000	-1.2004	5.2004
Ekstrak 50%		1.00000	.82067	1.000	-2.2004	4.2004
n-heksana 12,5%		3.96667*	.82067	.004	.7663	7.1671
n-heksana 25%		3.00000	.82067	.095	-.2004	6.2004
n-heksana 50%		1.16667	.82067	1.000	-2.0337	4.3671
Etil asetat 12,5%	2.80000	.82067	.180	-.4004	6.0004	

	Etil asetat 50%	-2.33333	.82067	.750	-5.5337	.8671
	Air 12,5%	5.00000*	.82067	.000	1.7996	8.2004
	Air 25%	4.66667*	.82067	.000	1.4663	7.8671
	Air 50%	2.66667	.82067	.273	-.5337	5.8671
Etil asetat 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-7.1329
		10.33333			13.533	
		*			7	
	DMSO 5%	12.50000	.82067	.000	9.2996	15.700
		*				4
	Ekstrak 12,5%	6.50000*	.82067	.000	3.2996	9.7004
	Ekstrak 25%	4.33333*	.82067	.001	1.1329	7.5337
	Ekstrak 50%	3.33333*	.82067	.032	.1329	6.5337
	n-heksana 12,5%	6.30000*	.82067	.000	3.0996	9.5004
	n-heksana 25%	5.33333*	.82067	.000	2.1329	8.5337
	n-heksana 50%	3.50000*	.82067	.019	.2996	6.7004
	Etil asetat 12,5%	5.13333*	.82067	.000	1.9329	8.3337
	Etil asetat 25%	2.33333	.82067	.750	-.8671	5.5337
	Air 12,5%	7.33333*	.82067	.000	4.1329	10.533
						7
	Air 25%	7.00000*	.82067	.000	3.7996	10.200
						4
	Air 50%	5.00000*	.82067	.000	1.7996	8.2004
Air 12,5%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		17.66667			20.867	14.466
		*			1	3
	DMSO 5%	5.16667*	.82067	.000	1.9663	8.3671
	Ekstrak 12,5%	-.83333	.82067	1.000	-4.0337	2.3671
	Ekstrak 25%	-3.00000	.82067	.095	-6.2004	.2004
	Ekstrak 50%	-4.00000*	.82067	.004	-7.2004	-.7996
	n-heksana 12,5%	-1.03333	.82067	1.000	-4.2337	2.1671
	n-heksana 25%	-2.00000	.82067	1.000	-5.2004	1.2004

	n-heksana 50%	-3.83333*	.82067	.006	-7.0337	-6329
	Etil asetat 12,5%	-2.20000	.82067	1.000	-5.4004	1.0004
	Etil asetat 25%	-5.00000*	.82067	.000	-8.2004	-1.7996
	Etil asetat 50%	-7.33333*	.82067	.000	-	-4.1329
					10.533	
					7	
	Air 25%	-.33333	.82067	1.000	-3.5337	2.8671
	Air 50%	-2.33333	.82067	.750	-5.5337	.8671
Air 25%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		17.33333			20.533	14.132
		*			7	9
	DMSO 5%	5.50000*	.82067	.000	2.2996	8.7004
	Ekstrak 12,5%	-.50000	.82067	1.000	-3.7004	2.7004
	Ekstrak 25%	-2.66667	.82067	.273	-5.8671	.5337
	Ekstrak 50%	-3.66667*	.82067	.011	-6.8671	-.4663
	n-heksana 12,5%	-.70000	.82067	1.000	-3.9004	2.5004
	n-heksana 25%	-1.66667	.82067	1.000	-4.8671	1.5337
	n-heksana 50%	-3.50000*	.82067	.019	-6.7004	-.2996
	Etil asetat 12,5%	-1.86667	.82067	1.000	-5.0671	1.3337
	Etil asetat 25%	-4.66667*	.82067	.000	-7.8671	-1.4663
	Etil asetat 50%	-7.00000*	.82067	.000	-	-3.7996
					10.200	
					4	
	Air 12,5%	.33333	.82067	1.000	-2.8671	3.5337
	Air 50%	-2.00000	.82067	1.000	-5.2004	1.2004
Air 50%	Ciprofloksasin	-	.82067	.000	-	-
		15.33333			18.533	12.132
		*			7	9
	DMSO 5%	7.50000*	.82067	.000	4.2996	10.700
						4
	Ekstrak 12,5%	1.50000	.82067	1.000	-1.7004	4.7004
	Ekstrak 25%	-.66667	.82067	1.000	-3.8671	2.5337
	Ekstrak 50%	-1.66667	.82067	1.000	-4.8671	1.5337

n-heksana 12,5%	1.30000	.82067	1.000	-1.9004	4.5004
n-heksana 25%	.33333	.82067	1.000	-2.8671	3.5337
n-heksana 50%	-1.50000	.82067	1.000	-4.7004	1.7004
Etil asetat 12,5%	.13333	.82067	1.000	-3.0671	3.3337
Etil asetat 25%	-2.66667	.82067	.273	-5.8671	.5337
Etil asetat 50%	-5.00000*	.82067	.000	-8.2004	-1.7996
Air 12,5%	2.33333	.82067	.750	-.8671	5.5337
Air 25%	2.00000	.82067	1.000	-1.2004	5.2004

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

Homogeneous Subsets

iameter

		N	Subset for alpha = 0.05						
Perlakuan			1	2	3	4	5	6	7
Tukey	DMSO 5%	3	.0000						
HSD ^a	Air 12,5%	3		5.1667					
	Air 25%	3		5.5000					
	Ekstrak 12,5%	3		6.0000	6.0000				
	n-heksana 12,5%	3		6.2000	6.2000	6.2000			
	n-heksana 25%	3		7.1667	7.1667	7.1667	7.1667		
	Etil asetat 12,5%	3		7.3667	7.3667	7.3667	7.3667		
	Air 50%	3		7.5000	7.5000	7.5000	7.5000		
	Ekstrak 25%	3		8.1667	8.1667	8.1667	8.1667		
	n-heksana 50%	3			9.0000	9.0000	9.0000		
	Ekstrak 50%	3				9.1667	9.1667		
	Etil asetat 25%	3					10.1667	10.1667	
	Etil asetat 50%	3						12.5000	
	Ciprofloksasin	3							22.8333
	Sig.		1.000	.051	.051	.055	.051	.260	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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