

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG  
(*Terminalia catappa* L,) DAN UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L,)  
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**



Oleh :

**Mariana Kristiani  
20144325A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG  
(*Terminalia catappa* L,) DAN UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L,)  
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

*SKRIPSI*

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

**Oleh:**

**Mariana Kristiani  
20144325A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Oleh :

**Mariana Kristiani**  
20144325A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 2 Juli 2018



Dekan,

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing utama,

Drs. Mardiyono, M.Si

Pembimbing pendamping,

Destik Wulandari, S.Pd., M.Si

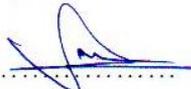
Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
3. D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si
4. Drs. Mardiyono, M.Si

1.  .....

2.  .....

3.  .....

4.  .....

## PERSEMBAHAN

### **GLORY TO THE LORD**

“Dia memberi kekuatan kepada yang lelah dan menambah semangat kepada yang tiada berdaya.”  
(Yesaya 40:29)

“Masih ada harapan untuk hari depanmu, demikianlah firman Tuhan.”  
(Yeremia 31:17a)

Terima kasih untuk:

1. Tuhan Yesus atas penyertaan dan janji-Nya yang telah Tuhan berikan kepadaku yang menjadikanku tetap kuat dan semangat atas setiap langkah yang ku ambi
2. Papa, Mama, Kaka dan Adikku (Papa Derek, Mama Yuli, Kaka Rosa dan Adik Nia) yang selalu memberikan semangat dan dukungan doa kepadaku
3. Keluarga besar PMK Katharos
4. Teman-teman seperjuangan angkatan M.U.D.A 2014 yang telah membantuku
5. Kakak-kakak yang telah membantu dan memberikan pengetahuannya kepadaku
6. Almamater, Bangsa, dan Negara tercinta

## **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 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 siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Mei 2018



Mariana Kristiani

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke Hadirat Allah Bapa di Sorga, karena atas kasih karunia dan anugrah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L,) DAN UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L,) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusun skripsi ini tidak dapat lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari banyak pihak. Dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak yang terlibat langsung maupun tidak, khususnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus yang sungguh luar biasa atas kelimpahan berkat, perlindungan, serta pertolongan-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Drs. Mardiyono, M.Si selaku Dosen pembimbing utama dan Destik Wulandari. S.Pd., M.Si selaku Dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu, dan motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu dami kelancaran dan selesainya skripsi ini.
7. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.

8. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.
9. Papa, Mama, Kaka yang cerewet dan Adik manjaku tercinta (Rosa dan Nia) serta seluruh keluarga besarku, yang selalu memberikan doa, cinta kasih, dukungan, dan semangat.
10. Keluarga besar PMK Katharos yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan semangat. Keep Spirit Of Excellent.
11. Teman pusingku Yuliana dan Mariyo yang selalu bantuan, motivasi dan kerjasamanya walaupun sama-sama pusing dan bingung.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam skripsi ini. Kritik dan Saran yang membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, Mei 2018



Mariana Kristiani

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiiiiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar belakang masalah .....	1
B. Perumusan masalah .....	3
C. Tujuan penelitian .....	4
D. Kegunaan penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.).....	5
1. Klasifikasi tanaman .....	5
2. Nama daerah .....	5
3. Morfologi ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	5
4. Senyawa kimia yang terdapat dalam daun ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	6
4.1 Flavonoid.....	7
4.2 Tanin.....	7
4.3 Saponin.....	7
B. Bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.).....	8
1. Klasifikasi bawang putih sebagai berikut :.....	8
2. Morfologi.....	8
3. Nama daerah.....	8
4. Kandungan kimiawi bawang putih.....	8
5. Mekanisme antibakteri bawang putih.....	9
6. Khasiat bawang putih .....	10
7. Senyawa antibakteri bawang putih.....	10
8. Aktivitas antibakteri bawang putih.....	12
9. Efek toksik bawang putih .....	13

C.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
1.	Klasifikasi.....	13
2.	Morfologi.....	13
3.	Struktur organisme .....	14
4.	Struktur antigen dan toksin.....	15
5.	Patogenesis .....	16
6.	Temuan klinis .....	16
D.	Simplisia .....	17
1.	Pengertian simplisia .....	17
2.	Pengeringan simplisia.....	17
E.	Penyarian .....	18
1.	Pengertian penyarian .....	18
2.	Pengertian ekstrak .....	18
3.	Metode ekstraksi.....	18
3.1	Mesari.....	18
3.2	Perkolasi .....	19
3.3	Infundasi.....	19
3.4	Sokletasi .....	19
3.5	Refluks .....	19
F.	Antibakteri.....	20
G.	Antibiotik.....	21
H.	Ciprofloxacin.....	22
I.	Resistensi Antibiotik .....	23
J.	Uji aktivitas bakteri .....	23
1.	Metode difusi.....	24
2.	Metode dilusi .....	24
3.	Metode bioautografi .....	24
K.	Cairan Penyari .....	24
1.	Etanol.....	25
2.	Air.....	25
3.	Dimethyl sulfoxida (DMSO).....	25
L.	Media.....	25
1.	Media padat .....	26
2.	Media cair .....	26
3.	Media semi cair atau padat .....	26
M.	Landasan Teori .....	26
N.	Hipotesis .....	28

### BAB III METODE PENELITIAN.....29

A.	Populasi dan Sampel.....	29
B.	Variabel Penelitian .....	29
1.	Identifikasi variabel utama .....	29
2.	Klasifikasi variabel utama .....	29
3.	Definisi operasional variabel utama .....	30
C.	Alat, Bahan dan Bakteri .....	31

1. Alat .....	31
2. Bahan.....	31
3. Bakteri uji .....	32
D. Jalannya Penelitian .....	32
1. Pengambilan bahan.....	32
2. Determinasi tanaman daun ketapang dan bawang putih .....	32
3. Pengeringan daun ketapang dan bawang putih .....	32
4. Pembuatan ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih.....	32
5. Uji bebas etanol .....	33
6. Pembuatan kombinasi bahan uji.....	33
7. Kontrol positif dan kontrol negatif .....	33
8. Sterilisasi alat .....	33
9. Identifikasi kandungan kimia .....	33
9.1. Identifikasi flavonoid .....	33
9.2. Identifikasi tannin.....	34
9.3. Identifikasi saponin .....	34
10. Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	34
10.1 Media selektif.....	34
10.2 Pewarnaan Gram.....	34
10.3 Uji biokimia .....	34
11. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	35
12. Aktivitas antibakteri dengan metode difusi.....	35
13. Aktivitas antibakteri dengan metode dilusi .....	36
E. Analisis hasil .....	37
F. Skema cara kerja.....	38
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
A. Hasil Penelitian.....	43
1. Hasil identifikasi tanaman ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) dan bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.).....	43
2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	43
3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	44
4. Hasil pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	44
5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	45
6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih.....	45
7. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	47
7.1 Identifikasi bakteri secara goresan .....	47
7.2 Identifikasi bakteri uji secara biokimia dengan menggunakan media LIA, KIA, SIM, dan Citrat.....	47

7.3 Identifikasi bakteri secara morfologi.....	48
8. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	49
9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih .....	49
9.1 Pengujian secara difusi daun ketapang dan umbi bawang putih .....	49
9.2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi .....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
A. Kesimpulan.....	54
B. Saran .....	54
DAFTAR PUSTAKA .....	55
LAMPIRAN.....	59

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun ketapang.....	6
Gambar 2. Buah ketapang.....	6
Gambar 3. Mekanisme kerja bawang putih.....	9
Gambar 4. Struktur Allinase .....	11
Gambar 5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	14
Gambar 6. Skema prosedur pembuatan ekstrak etanol daun ketapang .....	38
Gambar 7. Skema prosedur pembuatan ekstrak etanol bawang putih .....	39
Gambar 8. Pembuatan suspensi bakteri .....	40
Gambar 9. Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Difusi .....	41
Gambar 10. Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Dilusi .....	42
Gambar 11. Hasil identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara inokulasi pada media PSA.....	47
Gambar 12. Hasil uji biokimia <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	48
Gambar 13. Hasil identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 dengan menggunakan pewarnaan Gram .....	49

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil rendemen serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	44
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air daun ketapang dan umbi bawang putih .....	44
Tabel 3. Hasil pembuatan maserasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih 45	
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	45
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih.....	46
Tabel 6. Hasil identifikasi biokimia pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	48
Tabel 7. Hasil diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara difusi.....	50
Tabel 8. Hasil uji dilusi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih pada konsentrasi perbandingan 50% : 50% .....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi daun ketapang .....	59
Lampiran 2. Determinasi umbi bawang putih.....	60
Lampiran 3. Foto daun ketapang dan umbi bawang putih.....	61
Lampiran 4. Foto serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih.....	61
Lampiran 5. Ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih.....	62
Lampiran 6. Foto pengayak dan blender.....	62
Lampiran 7. Foto dengan berbagai konsentrasi .....	63
Lampiran 8. Foto uji bebas etanol.....	64
Lampiran 9. Kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih.....	65
Lampiran 10. Foto hasil difusi uji aktivitas antibakteri berbagai konsentrasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	66
Lampiran 11. Hasil konsentrasi dilusi pada bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	67
Lampiran 12. Foto replikasi hasil goresan dilusi .....	68
Lampiran 13. Foto rangkaian alat pengukuran kadar air dan penyari.....	69
Lampiran 14. Foto.....	70
Lampiran 15. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.....	71
Lampiran 16. Hasil pembuatan maserasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	72
Lampiran 17. Perhitungan pembuatan media .....	73
Lampiran 18. Hasil penetapan kadar air daun ketapang dan umbi bawang putih.....	74
Lampiran 19. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak.....	76
Lampiran 20. Grafik hasil difusi .....	77
Lampiran 21. Hasil dari SPSS.....	78

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang tersebar luas di alam, bersifat saprofit pada orang sehat dan berkoloni. Penyebaran utama *Pseudomonas aeruginosa* berada di lingkungan rumah sakit sehingga menjadi penyebab utama terjadinya infeksi di rumah sakit (infeksi nosokomial). Bakteri ini menyebabkan beberapa penyakit infeksi yaitu dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi pada mata, dan infeksi pada luka bakar. Selain dapat menyebabkan infeksi pada kulit, mata, atau telinga, *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan infeksi pada saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lain. Di bangsal luka bakar atau unit perawatan penyakit kanker, prevalensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mencapai lebih dari 30% dari semua penyebab infeksi (Radji, 2011). *Centres of Disease Control* (CDC) melaporkan prevalensi angka kejadian infeksi nosokomial di negara maju seperti Eropa berkisar 3,5 – 12% dengan angka rata-rata 9%, sedangkan di Indonesia sendiri dapat dilihat dari data surveilans yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan RI pada tahun 1987 di 10 RSU Pendidikan, diperoleh angka infeksi nosokomial cukup tinggi yaitu sebesar 6 -16 % dengan rata-rata 9,8% (Nihi, 2011).

Upaya penanggulangan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan antibiotik (Radji, 2011). Siprofloksasin merupakan salah satu obat antibiotik pilihan pertama untuk penanganan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Goodman dan Gilman, 2008). Antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat enzim gyrase DNA (Tambayong, 2002). Hasil uji sensitivitas siprofloksasin menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat *Pseudomonas aeruginosa* (4,72 cm) lebih tinggi dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus* (3,73 cm) dengan konsentrasi siprofloksasin sebesar 0,3% (Ikonne and Odozor, 2009). Sehingga siprofloksasin lebih poten dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Radji, 2011).

Pemberian antibiotik merupakan tatalaksana penting dalam menangani pasien dengan penyakit infeksi. Namun, seiring berjalannya waktu, terjadi perubahan dalam praktik perawatan kesehatan, banyak penderita penyakit infeksi yang memerlukan perawatan jangka panjang di rumah sakit. Hal ini menyebabkan penggunaan antibiotik oral dan antibiotik parenteral terhadap pasien tersebut semakin meningkat dan dapat menimbulkan permasalahan baru yaitu munculnya mikroba patogen yang resisten terhadap antibiotik (Tambayong, 2002).

Meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik mengakibatkan pengobatan penyakit menjadi sangat sulit, juga resiko timbulnya komplikasi atau kematian akan meningkat (Tjay dan Rahardja, 2007). Shahid *et al.* (2003) telah melaporkan bahwa 83,3% isolat *Pseudomonas aeruginosa* dari pasien luka bakar di rumah sakit India Utara telah resisten terhadap tujuh atau lebih antibiotik. Jombo *et al.* (2008) menyebutkan bahwa 100% isolat *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel urin di UTH (University Teaching Hospital) Nigeria telah resisten terhadap penisilin, kloksasilin, tetrasiklin, nitrofurantoin, dan asam nalidiksat. Meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik yang telah ada harus diimbangi dengan penemuan obat baru. Hal ini mendorong untuk ditemukannya produk alternatif pengganti yang lebih poten, murah, dan memiliki efek samping yang lebih kecil sehingga resistensi bisa diatasi (Tambayong, 2002)

Penggunaan obat-obatan herbal yang berasal dari tumbuhan dan rempah, apabila dibandingkan dengan obat-obat yang diformulasikan dari bahan kimia memiliki efek samping yang lebih minimal. Penggunaan obat-obatan herbal yang berasal dari tumbuhan dan rempah meningkat. Salah satu tumbuhan yang telah lama dipercaya memiliki aktivitas antibakteri yang cukup baik terhadap berbagai macam bakteri ialah bawang putih *Allium sativum* (Salima, 2015).

Bawang putih (*Allium sativum L.*) adalah herba semusim berumpun yang mempunyai ketinggian sekitar 60 cm. Memiliki daun yang berupa helai-helai seperti pita yang pipih, dengan ujung yang runcing, berbatang semu dengan akar serabut. Tanaman ini diyakini berasal dari Negara di Asia Tengah, yaitu Cina dan Jepang yang kemudian menyebar luas keseluruh dunia, termasuk Indonesia oleh pedagang Cina dan Arab. Penggunaan bawang putih sebagai obat-obatan bersifat

alami telah lama dipraktikkan oleh manusia selama berabad-abad lamanya (Salima, 2015).

*Allicin* merupakan komponen sulfur bioaktif utama yang terkandung dalam bawang putih. Komponen ini hanya akan muncul apabila bawang putih dipotong atau dihancurkan. Pada saat bawang putih dihancurkan atau dipotong. Pada saat bawang putih dihancurkan, kerusakan membrane sel bawang putih ini akan mengaktifkan enzim *allinase*, yang akan membantu proses metabolisme *alliin* yang terkandung dalam selain menjadi *allicin*. *Allicin* merupakan senyawa yang bersifat tidak stabil, senyawa ini dalam waktu beberapa jam akan kembali dimetabolisme menjadi senyawa sulfur lain seperti *vinylthiines* dan *Diallyl disulfide (ajoene)* yang juga memiliki daya antibakteri berspektrum luas, namun dengan aktivitas yang lebih kecil (Salima, 2015).

Tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) juga merupakan salah satu tanaman anggota suku Combretaceae yang berasal dari Asia Tenggara, khususnya kepulauan-kepulauan Melayu. Nilai guna dari tanaman ini sangat banyak, salah satunya sebagai antibakteri (Hardhiko *et al* 2004). Chee Mun (2003) melaporkan bahwa ekstrak daun ketapang mengandung senyawa tannin dan flavonoid yang diduga bersifat antibakteri.

Alasan pemilihan daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah karena bakteri tersebut secara alami telah resisten pada berbagai antimikroba dan memiliki kemampuan untuk mengembangkan *Multi Drug Resistance* (MDR) yang tinggi, sehingga infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* tidak diterapi dengan obat tunggal. Karena bakteri akan dapat dengan cepat menjadi resistensi jika menggunakan obat tunggal. Inilah yang menjadi alasan pemilihan dari penggunaan kombinasi ekstrak etanol daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) (Isabela 2009).

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan diatas dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), bawang putih (*Allium sativum* L.) dan kombinasi keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?
2. Manakah dari dosis tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) yang efektif mempunyai aktifitas bakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?
3. Berapakah nilai dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.)?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), bawang putih (*Allium sativum* L.) dan kombinasi keduanya terhadap aktivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Untuk mengetahui dosis tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) yang efektif mempunyai aktivitas bakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
3. Untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.)

### **D. Kegunaan Penelitian**

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat serta menunjang pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang obat tradisional. Dari penelitian ini diharapkan dapat menambah data klinis mengenai khasiat daun ketapang dan bawang putih sebagai antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*, sekaligus menjadi dasar penelitian selanjutnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Ketapang (*Terminalia catappa* L.)**

##### **1. Klasifikasi tanaman**

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliopsida
Class	: Magnoliopsida
Order	: Myrtales
Family	: <i>Combretaceae</i>
Genus	: <i>Terminalia</i>
Species	: <i>Terminalia catappa</i> L (Bilqis 2016)

##### **2. Nama daerah**

Ketapang memiliki nama lain dimasing-masing daerah seperti Beowa, Ki, Geutapang, Lahapang, Kayafa, Katapleng, Sairise (Sumatera), Katapang (Jawa), Katapang, Klihi, Lisa, Ketapas (Nusa Tenggara), Ketapang, Katapang, Sadina, Salisa, Saliha, Klis, Ngusu (Maluku), Tarisei, Dumpayang, Talisei, Kananga, Katapang, Atapang (Sulawesi), Kalis, Kris (Irian Jaya) (antidiabets buah ketapang (Mamik 2012).

##### **3. Morfologi Ketapang (*Terminalia catappa* L.)**

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) adalah pohon tropis yang tumbuh tegak hingga 35 m. Ketapang memiliki daun yang besar dengan panjang 15-25 cm dan lebar 10-14 cm, berwarna hijau mengkilap dan kasar. Sebelum gugur biasanya daun berubah warna kemerahan atau menjadi kuning dan coklat. Bentuk daun ketapang dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



**Gambar 1. Daun ketapang  
(Koleksi pribadi 2017)**

Daun ketapang juga memiliki bunga sebagai alat perkembangbiakan jantan dan betina dalam satu pohon serta berwarna putih kehijauan. Tanaman ini juga memiliki buah yang berbiji panjang sekitar 5-7 cm dan lebar 3-3,5 cm, berwarna hijau dan akan berubah menjadi kuning atau merah saat telah matang.



**Gambar 2. Buah ketapang  
(Koleksi pribadi 2017)**

#### **4. Senyawa kimia yang terdapat dalam daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)**

Bagian dari tanaman yang digunakan sebagai obat adalah bagian daun, kulit batang dan bijinya. Senyawa yang terkandung pada batang dan daun yakni alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin. Daun ketapang memiliki kandungan flavonoid seperti kaempferol dan quecetin. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki efek seperti antioksidan, antitumor, antiradang, antibakteri dan antivirus. Pada tanaman ini juga memiliki kandungan tannin seperti punicalin dan punicalagin atau tercatin. Tannin merupakan komponen penting dalam tumbuhan untuk melindungi dari serangan jamur dan bakteri (Mamik 2012)

**4.1 Flavonoid** termasuk dalam senyawa polifenol yang digolongkan sebagai flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, katekin, antosianin dan kalkon. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein eksraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Mamik 2012).

**4.2 Tanin** adalah senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat. Tanin merupakan senyawa polifenol yang diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barier dalam mikroorganisme, sehingga bersifat antibakteri (Harborne 1987). Efek antibakteri tanin mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas sel, sel tidak bisa melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat (Mamik 2012).

**4.3 Saponin** adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Triterpen tertentu terkenal karena rasanya, terutama kepahitannya. Pencarian saponin dalam tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber saponin yang mudah diperoleh. Saponin dan glikosida saponin adalah salah satu tipe glikosida yang tersebar luas dalam tumbuhan (Harborne 1987). Dikenal dua macam saponin, yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida dengan struktur steroid. Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Mekanisme kerja saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi 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 (Darsana *et al* 2012)

## **B. Bawang Putih (*Allium sativum* L.)**

### **1. Klasifikasi bawang putih sebagai berikut :**

Kingdom	: Plantae
Sub-Kingdom	: Tracheobionta
Super division	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliidae
Order	: Liliales
Family	: <i>Liliaceae</i>
Genus	: <i>Allium</i> L.
Spesies	: <i>Allium sativum</i> L. (Johan 2007)

### **2. Morfologi**

Bawang putih adalah tanaman tradisional yang sering digunakan dalam masakan. Saat ini, bawang putih telah terbukti memiliki berbagai manfaat dalam kesehatan. Bawang putih juga merupakan salah satu tanaman obat paling tua dan dipercaya berasal dari benua Asia lebih dari 6.000 tahun yang lalu (Johan 2007)

Bawang putih merupakan tanaman berumput yang mempunyai ketinggian sekitar 60 cm. Umbi bawang putih memiliki 4-6 siung dengan berbagai bentuk dan ukuran. Siung bawang putih dibungkus oleh membran tipis berwarna putih (Johan 2007).

### **3. Nama daerah**

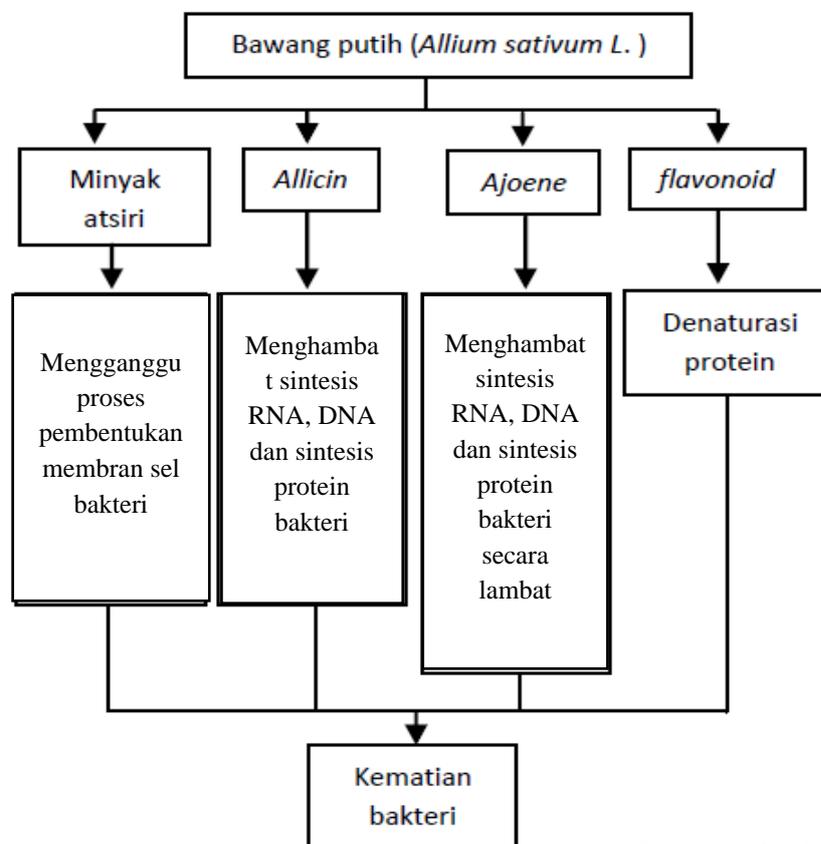
Bawang putih juga memiliki nama lain di setiap daerah dan negaranya seperti garlic (Inggris), vitlok (Swedia), thoam (Arab), ajo (Spanyol), bawang bodas/ bawang/ bawang putih/ bhabangpote (Jawa), lasuna kebo/ lasuna pute (Sulawesi), bawang handak/ bawang putich/ lasum/ bawang mental/ lasuna/ palasuna/ bawang honh (Sumatera), kasuna (Bali) dan bawa bodudo (Ternate) (Johan 2007).

### **4. Kandungan kimiawi bawang putih**

Bawang putih memiliki kandungan 65% air, 28% karbohidrat (terutama fruktosa), 2,3% bahan organosulfur, 2% protein (terutama allinase), 1,2% asam amino bebas (terutama arginin) (Jeana 2015).

Alicin biasanya berdekomposisi menjadi diallyl disulfide (DADS), diallyl sulfide (DAS), diallyl trisulfide (DTS) dan sulfur dioxide. Ekstrak air dan alkohol bawang putih mengandung terutama *S-allyl-L-cysteines* (SAC) terutama dari  $\delta$ -*glutamyl-S-allyl-L-cysteine* ditemukan pada ekstrak bawang putih dalam AGE (*Aged Garlic Extract*). AGE juga mengandung bahan lain seperti flavonoid, asam fenol, dan beberapa zat bermanfaat lainnya (Jeana 2015).

### 5. Mekanisme antibakteri bawang putih



Gambar 3. Mekanisme kerja bawang putih

Sumber : Jeana 2015

Diantara banyaknya kandungan sulfur yang terkandung dalam bawang putih, *allicin* merupakan komponen sulfur yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar, selain itu pula, *allicin* juga merupakan komponen yang bertanggung jawab atas manfaat terapeutik bawang putih yang lainnya, seperti antijamur, dan antivirus. *Alicin* yang baru akan muncul dari metabolis *alliin* oleh *allinase* apabila sebuah bawang putih mengalami kerusakan sel akibat dipotong

atau ditumbuk ini dapat menghambat secara total sintesis RNA bakteri, dan menghambat sintesis DNA dan protein bakteri secara parsial. Walaupun dikatakan bahwa sintesis DNA dan protein juga mengalami penghambatan oleh aktivitas *allicin*, namun perlu diketahui bahwa RNA tetap menjadi target utama aktivitas antibakteri yang dimiliki *allicin* (Jeanna 2015)

*Allicin (Diallyl Thiosulfinate)* memiliki sifat yang kurang stabil, oleh karena itu, dalam beberapa jam dalam suhu ruangan, akan kembali mengalami metabolisme menjadi *vynilthidiines* atau *dyallildisulfide* atau yang disebut *ajoene*. Senyawa sulfur ini memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja dengan mekanisme yang sama dengan *allicin*, namun memiliki potensi yang lebih kecil daripada *allicin* (Jeanna 2015).

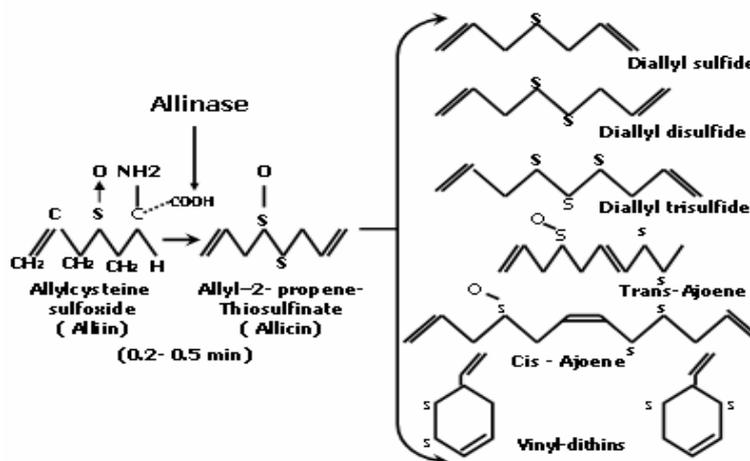
## **6. Khasiat bawang putih**

Bawang putih memiliki banyak potensi klinis dari studi eksperimental (Kemper 2005). Banyak bukti epidemiologi yang mendemonstrasikan tentang efek terapeutik dan preventif dari bawang putih. Efek-efek ini memiliki implikasi dalam mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler, mengurangi resiko kanker, memiliki efek hepatoprotektor, antioksidan dan antimikroba (Bayan *et al* 2014). Aktivitas antibakteri bawang putih sebagian besar karena *allicin* yang muncul ketika sel bawang putih rusak. *Allicin* dan derivatnya mempunyai efek menghambat secara total sintesis RNA dan menghambat secara parsial pada sintesis DNA dan protein. *Allicin* bekerja dengan cara memblok enzim bakteri yang memiliki gugus thiol yang akhirnya menghambat pertumbuhan bakteri (Boboye *et al* 2008).

## **7. Senyawa antibakteri bawang putih**

Kandungan kimia umbi bawang putih yang berfungsi sebagai antibakteri adalah minyak atsiri, flavonoid, polifenol, dan saponin (Johan 2007).

Jika *Allium sativum* dihancurkan, maka akan terjadi pelepasan enzim *alliinase* yang dengan cepat melisiskan *alliin* dengan memecah ikatan karbon dan sulfur *alliin* untuk membentuk *sulfenic acid* (RSOH). Dan senyawa ini dengan segera akan berkondensasi menjadi *allicin* dan senyawa *thiosulfinat* lainnya. (Singh *et al* 2008)



Gambar 4. Struktur Allinase  
Sumber : Singh et al 2008

*Allicin* (*diallyl thiosulfinate* atau *allyl 2-propene thiosulfinate*) merupakan anggota dari kelas senyawa organosulfur reaktif dan tidak stabil yang disebut *thiosulfinat*. *Allicin* mewakili 70%-80% dari kandungan *thiosulfinat* yang terbentuk pada bawang putih. Perubahan *alliin* menjadi *allicin* terjadi dalam waktu 0,2 sampai 0,5 menit pada suhu kamar. *Allicin* berpotensi sebagai agen antimikroba terkuat pada *Allium sativum* (Singh et al 2008).

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam bawang putih juga memiliki daya antibakteri. Harbone (1987) menyebutkan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik 3-karbon. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid mengandung senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sel bakteri mengandung protein dan lemak (Ary 2007).

Saponin yang terkandung dalam bawang putih merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok di dalam air serta pada

konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Robinson dalam Supardi (2007) menyebutkan beberapa saponin bekerja sebagai anti mikroba. Saponin merupakan senyawa yang berasa pahit dan menusuk, biasanya dapat menyebabkan bersin dan iritasi terhadap sel lendir.

### **8. Aktivitas antibakteri bawang putih**

*Allicin* memiliki spektrum antibiotik luas melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif seperti penisilin. Mengacu pada William *et.al.* dalam Rantapina (2003). *Allium sativum* lebih mudah menghambat bakteri intestinal patogenik daripada flora intestinal normal. hal ini disebabkan oleh senyawa sulfur yang menghancurkan gugus *thiol* dan *DNA polymerase* yang dibutuhkan untuk replikasi kromosom bakteri. Senyawa ini juga merangsang sistem imun dengan meningkatkan jumlah limfosit, fagosit dan titer antibodi. *Allium sativum* aktif melawan mikroorganisme yang resisten antibiotik seperti MRSA (*Methicillin resistant Staphylococcus aureus*) dan strain *multi drug resistance terotoxigenic* (*E.coli*, *Enterococcus*, *Shigella disenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*). aktivitas bakterisidal *Allium sativum* juga mencegah produksi toksin bakteri seperti enterotoksin *Staphylococcus A*, *B*, *C1* dan *thermonuclease*. *Allicin* akan penetrasi dengan cepat ke dalam sel bakteri melalui membran sel. Protein enzim di dalam membran bakteri yang mengandung sistein memiliki sisi rantai *terminating* pada grup sulfhidril. Kemudian gugus *thiosulfinat* S(=O)S dalam *allicin* akan mengikat gugus *thiol* / gugus sulfhidril SH- enzim bakteri yang bersebelahan pada rantai disulfide (Singh *et al* 2008).

Pada akhirnya metabolisme sel bakteri akan terganggu dan terjadi kematian mikroorganisme tersebut. Dalam literatur lain, menyebutkan bahwa proteinase bakteri diaktifkan oleh senyawa sulfhidril pada pH 5,5-6,5. Jika sulfhidril ini diikat oleh gugus S(=O)S dari senyawa *allicin* atau senyawa *thiosulfinat* lainnya, maka mekanisme pengaktifan proteinase bakteri ini juga akan dihambat (Huriawati *et al* 2006).

Sel-sel manusia tidak teracuni oleh derivat *allicin* karena sel-sel ini mengandung *glutathion* (asam amino bersulfur) yang akan memodifikasi derivat *allicin*, sehingga mencegah kerusakan sel. menyebutkan *glutathion* terlibat dalam

pembentukan dan pemeliharaan ikatan disulfida pada protein serta transpor asam amino melewati membran sel (Singh *et al* 2008).

## 9. Efek toksik bawang putih

Bawang putih juga memiliki efek yang merugikan jika dikonsumsi secara berlebihan seperti peningkatan efek farmakologis dari antikoagulan (*warfarin*, *fluindione*) dan penurunan efektivitas obat AIDS Saquinavir, senyawa *thiol*-nya dapat menyebabkan akantolisis *in vitro* dan pemphigus *in vivo*, gangguan traktus digestivus (jarang) berupa mual, muntah, diare, bau nafas dan keringat, *diaphoresis* (keringat banyak), sakit kepalaringan, *menoragi*, *metroragi*, *spinal epidural hematoma*, pada tikus yang diberi dosis masif (50 mg/hari *powder* bawangputih) menimbulkan perubahan degeneratif dalam 4 hari dan lesitestikular setelah 70 hari (Singh *et al* 2008).

### C. *Pseudomonas aeruginosa*

#### 1. Klasifikasi dari *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

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

#### 2. Morfologi

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus dan lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Dapat ditemukan tidak berkoloni, berpasangan dan kadang-kadang berbentuk seperti rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Irene 2011).



**Gambar 5. *Pseudomonas aeruginosa***  
(Koleksi pribadi 2017)

*Pseudomonas* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37-42<sup>0</sup>C, pertumbuhannya pada suhu 42<sup>0</sup>C membantu membedakan spesies ini dari spesies *Pseudomonas* yang lain dalam kelompok fluoresensi. Bakteri ini dapat bersifat oksidase-positif, dan tidak memfermentasi karbohidrat tetapi banyak strain yang mengoksidasi glukosa (Brooks2007). Koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbau seperti buah-buahan dan berwarna spesifik (Radji 2011).

*Pseudomonas aeruginosa* sering kali dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit (Radji 2011). Selain itu *Pseudomonas aeruginosa* juga tergolong organisme oportunistik, yaitu organisme yang mampu menyebabkan penyakit pada orang yang memiliki mekanisme pertahanan umum lemah, misal terlalu tua, anak-anak, pasien yang luka bakar, sedang menjalani terapi immunosupresan, atau penderita AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*). Prevalensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mencapai lebih dari 30% dari semua penyebab infeksi pada bangsal luka bakar atau unit perawatan penyakit kanker (Radji 2011).

### **3. Struktur organisme**

Golongan ini hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (5-10 nm) dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Membran luar pada Gram negatif juga memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memberikan sifat hidrofobik. Selain itu, terdapat saluran spesial terbuat dari protein yang disebut Porins yang berfungsi sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri. Lipoprotein mengandung 57 asam amino yang

merupakan ulangan sekuen 15 asam amino yang saling bertaut dengan ikatan peptida dengan residu asam diaminopimelic dari sisi tetrapeptida rantai peptidoglikan. Komponen lipidnya terdiri dari diglyseride thioether yang terikat pada sistein terminal. Lipoprotein merupakan komponen yang mendominasi dinding sel Gram negatif dan berfungsi sebagai penstabil membran luar dan tempat perlekatan pada lapisan peptidoglikan. Membran luarnya merupakan struktur bilayer komposisi lembar dalamnya mirip dengan membran sitoplasma, hanya saja fosfolipid pada lapisan luarnya diganti dengan molekul membran luarnya yang disebut ruang periplasma, terdiri dari lapisan murein dan larutan protein mirip gel (protein pengikat substrat tertentu, enzim hidrolitik, dan enzim detoksifikasi). LPS dari dinding sel Gram negatif terdiri dari lipid kompleks yang disebut lipid A, dimana melekat polisakarida yang terangkai dengan pusat dan ujung dari unit pengulangan, inti polisakarida dan antigen O. LPS terikat pada membran luar dengan ikatan hidrofobik. LPS disintesis pada membran sitoplasma dan dibawa ke posisi akhir di sebelah luar. Lipopolisakarida berfungsi sebagai antigen (Antigen O pada rantai karbohidratnya) dan toksin (Endotoksin yang berasal dari komponen lipid A) (Jawetz *et al* 2013).

#### **4. Struktur antigen dan toksin**

Pili (fimbriae) menonjol dari permukaan sel dan berfungsi untuk perlekatan pada sel epitel inang. Kapsul polisakarida menyebabkan bentuk mukoid dari koloni yang dipisahkan dari pasien dengan kista fibrosis. Liposakarida yang ada dalam beragam bentuk antigenik, bertanggung jawab pada sifat endotoksin organisme. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dibedakan secara serologis dengan anti-sera polisakarida dan dengan kepekaan terhadap piosin (*pyocin*). Sebagian besar *Pseudomonas aeruginosa* yang dipisahkan dari infeksi klinis memproduksi enzim ekstraselular, termasuk elastase, protease, dan dua hemolisin: sebuah fosfolipase C yang tidak tahan panas dan glikolipid yang tahan panas. Banyak galur *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi eksotoksin A yang menyebabkan jaringan nekrosis dan jika bentuk murni disuntikkan pada binatang bisa mematikan. Toksin memblokir sintesis protein dengan sebuah mekanisme yang identik dengan toksin difteria, meskipun struktur kedua toksin tidak identik.

Antitoksin terhadap eksotoksin A ditemukan di beberapa serum manusia, termasuk pada pasien yang sembuh dari infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Bauman 2007).

## 5. Patogenesis

*Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik hanya jika berada pada tempat dengan daya tahan tidak normal, misalnya di selaput lendir dan kulit yang rusak akibat kerusakan jaringan jika menggunakan kateter pembuluh darah atau saluran kencing, atau pada neutropenia, seperti kemoterapi kanker. Bakteri menempel dan menyerang selaput lendir atau kulit, menyebar dari tempat tersebut, dan berakibat penyakit sistemik. Proses ini dipercepat oleh pili, enzim, dan toksin yang dijelaskan di atas. Lipopolisakarida mempunyai peran langsung dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia, gangguan koagulasi darah (*Disseminated Intravascular Coagulation*, DIC), dan gejala susah bernafas pada orang dewasa. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas* lain tahan terhadap berbagai antimikroba dan karena itu menjadi dominan dan penting jika bakteri yang lebih peka dari flora normal ditekan (Bauman 2007).

## 6. Temuan klinis

*Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau, meningitis jika masuk melalui fungsi lumbal, dan infeksi saluran kencing jika masuk melalui kateter dan instrumen atau karena larutan irigasi. Penyerangan pada saluran nafas, khususnya respirator yang tercemar, mengakibatkan pneumonia nekrotika (*necrotizing pneumonia*). Bakteri sering ditemukan pada otitis eksterna ringan pada perenang. Hal ini dapat menyebabkan otitis eksternaganas pada pasien diabetes. Infeksi pada mata, yang mengarah padaperusakan mata dengan cepat, biasanya terjadi sesudah luka atau operasimata. Pada bayi dan orang yang lemah *Pseudomonas aeruginosa* mungkin masukaliran darah dan mengakibatkan sepsis yang fatal, hal ini terjadi biasanya pada pasien dengan leukemia atau limfoma yang mendapatkan terapi antineoplastik atau terapi radiasi dan pada pasien dengan luka bakar yang berat (Buman 2007).

Gejala dan tandanya tidak spesifik dan berkaitan dengan organ yang terserang. Kadang-kadang verdoglobin (hasil perpecahan hemoglobin) atau

pigmen fluoresen dapat dideteksi padaluka, luka bakar, atau urine dengan sinar ultraviolet. Nekrosis hemoragik pada kulit sering terjadi dalam sepsis karena *Pseudomonas aeruginosa*, luka yang disebut ektima gangrenosum, dikelilingi daerah kemerahan dan sering tidak berisikan nanah. *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada sediaan hapusan dari lesi ektima yang diwarnai dengan Gram, dan hasil biakan positif. Ektima gangrenosum tidak biasa terjadi pada bakteremia oleh mikroba selain *Pseudomonas aeruginosa* (Bauman 2007).

## **D. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (PKBPOM 2014). Simplisia dibagi menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berasal dari tanaman secara keseluruhan, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan yang masih belum berupa zat kimia murni. Sedangkan simplisia mineral adalah simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan menggunakan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Siswanto 2004).

### **2. Pengeringan simplisia**

Pengeringan adalah suatu cara pengawetan atau pengolahan pada bahan untuk mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat dan dengan demikian dapat dihasilkan simplisia terstandar yang tidak mudah rusak dan tahan disimpan dalam waktu yang lama. Dalam proses ini, kadar air dan reaksi-reaksi zat aktif pada bahan akan berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan serta waktunya tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan ini adalah kebersihan khususnya pengeringan menggunakan sinar

matahari, kelembapan udara, aliran udara dan tebal bahan (tidak saling menumpuk) (Siswanto 2004).

## **E. Penyarian**

### **1. Pengertian penyarian**

Penyarian merupakan proses pemisahan zat aktif yang berkhasiat obat dari komponen tidak aktif atau *inert* di dalam jaringan tanaman atau hewan menggunakan pelarut yang selektif, sesuai dengan standar prosedur ekstraksi (Handa *et al* 2008)

### **2. Pengertian ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair, yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Kemenkes 2009).

Tujuan pembuatan ekstrak tanaman obat adalah untuk menstandarisasi kandungan aktifnya sehingga dapat menjamin keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia asalnya adalah penggunaannya yang lebih sederhana dan dari segi bobot, pemakaiannya lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya (BPOM RI 2005).

### **3. Metode ekstraksi**

Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik senyawa aktif dalam simplisia terbagi menjadi 2 cara, yaitu cara dingin dan panas. Maserasi dan perkolasi termasuk dalam cara dingin sedangkan cara panas adalah infus, refluks, dan soklet (Depkes 2000).

**3.1 Maseri** adalah proses pengestraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan menempatkannya dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut, lalu dibiarkan berada pada suhu kamar selama minimal 3 hari sambil sering diaduk hingga larut. Setelah beberapa waktu yang ditentukan, maserat disaring (Handa *et al* 2008). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut

setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Cara ini dapat menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Kelemahan dari proses maserasi adalah tidak dapat menghasilkan penyarian yang optimal untuk senyawa-senyawa yang kurang larut dalam suhu kamar. Namun karena dilakukan pada suhu kamar, maka hal tersebut menjadi salah satu kelebihan dari maserasi, yakni tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000).

**3.2 Perkolasi** adalah proses penyarian serbuk simplisia dengan cara merendamnya dalam pelarut yang sesuai kemudian dimasukkan ke dalam alat yang disebut perkolator. Pada proses ini, dilakukan penambahan pelarut yang baru sampai penyarian sempurna dan suhu yang digunakan adalah suhu kamar. Tahapan perkolasi meliputi pendahuluan, maserasi antara, dan perkolasi sebenarnya, yang dilakukan terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau yang disebut perkolat (Depkes 2000).

**3.3 Infusdasi** adalah proses penyarian menggunakan pelarut air dan dilakukan pada suhu air mendidih ( $96-98^{\circ}\text{C}$ ) selama waktu 15-20 menit (Depkes 2000).

**3.4 Sokletasi** adalah proses penyarian dengan pelarut yang selalu baru dan menggunakan alat khusus. Proses ini berlangsung secara berkelanjutan dengan jumlah pelarut yang konstan dan ada pendingin balik (Depkes 2000). Keuntungan dari proses ini yaitu pelarut yang digunakan lebih sedikit dan lebih efektif dalam mengikat senyawa yang akan diisolasi (Utomo *et al.*, 2012). Dengan kata lain, dapat menghasilkan jumlah ekstrak yang lebih banyak dengan pelarut yang lebih sedikit atau ekonomis (Handa *et al* 2008).

**3.5 Refluks** adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlahnya terbatas. Pelarut tersebut umumnya konstan dengan adanya pendingin balik. Namun kelemahan proses ini adalah memungkinkan terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak tahan panas (Depkes 2000).

## **F. Antibakteri**

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Sukandar *et al* 2009). Mekanisme aksi antibakteri dapat dikelompokkan dalam 4 kelompok utama :

### **1. Menghambat sintesis dinding sel mikroba**

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin.

### **2. Mengganggu atau merusak membran sel**

Membran sel mempunyai peranan penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Antibakteri yang dapat mengganggu atau merusak membran sel akan mempengaruhi kehidupan sel bakteri tersebut. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida, dan poliena (misal amfoterisin B).

### **3. Menghambat sintesis protein**

Sintesis protein merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas proses transkripsi (yaitu DNA ditranskripsi menjadi mRNA) dan proses translasi (yaitu mRNA ditranslasi menjadi protein). Antibakteri yang menghambat proses-proses tersebut akan menghambat sintesis protein. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, dan gentamisin.

### **4. Mengganggu biosintesis asam nukleat**

Proses replikasi DNA di dalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri. Antibakteri yang termasuk kelompok ini antara lain asam nalidiksik dan golongan

kuinolon. Antibakteri ini dapat menghambat enzim DNA-gyrase yang membuat lilitan pada DNA untai ganda (Radji 2011).

### **G. Antibiotik**

Antibiotik merupakan suatu zat kimiawi yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain.

Penggolongan antibiotik didasarkan pada daya bunuh terhadap bakteri, spektrum kerja antibiotik, dan mekanisme kerjanya. Berdasarkan daya bunuh bakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu antibiotik yang bersifat bakterisid yang secara aktif membunuh kuman (penisilin, sefalosporin, kotrimoksazol, rifampisin, isoniazid, siprofloksasin) dan bakteriostatik yang hanya mencegah dan atau menghambat pertumbuhan kuman (sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, trimetropin, linkomisin, klindamisin). Berdasarkan spektrum kerjanya, terdapat 2 golongan antibiotik yaitu spektrum luas (ber efek pada bakteri gram positif atau negatif) dan sempit (ber efek pada bakteri gram negatif atau positif saja) (Aini 2011).

Tingginya penggunaan antibiotik menjadi pemicu terbesar munculnya resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibakteri merupakan salah satu masalah global baik negara maju maupun negara berkembang. Berkembangnya resistensi terhadap obat-obatan hanyalah salah satu contoh proses alamiah yang tak pernah ada akhirnya yang dilakukan oleh organisme untuk mengembangkan toleransi terhadap keadaan lingkungan yang baru. Resistensi terhadap obat pada suatu mikroorganisme dapat disebabkan oleh suatu faktor yang memang sudah ada pada mikroorganisme itu sebelumnya atau mungkin juga faktor itu diperoleh kemudian organisme resisten mempunyai gen yang berfungsi melindungi bakteri tersebut dari pengaruh bakterisidal antibiotik. Beberapa individu dalam suatu spesies bakteri membawa gen resisten sewaktu terjadi infeksi, kemudian memperbanyak diri, sedangkan galur galur yang sensitif terhambat atau mati. Gen resisten ini dapat pula dipindah sebarakan melalui konjugasi, transformasi atau transduksi dari bakteri lain selama berlamgungnya pengobatan antibiotik (Pelczar *et al* 2012).

## H. Ciprofloxacin

### 1. Identifikasi

Identifikasi ciprofloxacin adalah sebagai berikut :

Rumus kimia :  $C_{17}H_{18}FNO_3$

Sinonim : Siprofloksasin Base; 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7(piperazin-1-yl)-1,4,7-dihydroquinoline-3-carboxylic-acidhydrochloride

Nama generik : Ciprofloxacin

Ciprofloxacin merupakan antibakteri dari golongan kuinolon yaitu merupakan kemoterapetika sintesis yang akhir-akhir ini mulai populer dengan spektrum antikuman yang luas terutama untuk kuman-kuman Gram negatif dan Gram positif, enterobacteriaceae dan pseudomonas. Ciprofloxacin sering dipakai untuk infeksi-infeksi nosokomial, termasuk di sini adalah asam nalidixat, norfloksasin, ofloksasin, pefloksasin dan lain-lain.

Ciprofloxacin merupakan golongan fluorokuinolon dengan mekanisme kerja merintangi aktivitas enzim DNA-gyrase yang berfungsi mempertahankan struktur superkoil DNA. Gangguan terhadap enzim ini akan berakibat pada perubahan struktur superkoil DNA menjadi bentuk melingkar, sehingga tidak dapat diekspresikan. Sifat ciprofloxacin yang mampu menghambat DNA-gyrase ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan plasmid. Pada kadar rendah diperkirakan agen ini dapat menghambat replikasi plasmid, tanpa mengganggu kromosom bakteri (Ning *et al* 1998).

Ciprofloxacin mempunyai substituen 6-fluoro yang sangat memperkuat potensi antibakteri melawan organisme Gram positif dan terutama Gram negatif, termasuk *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, dan *Campylobacter*. Sejauh ini resistensi tidak sering terjadi. Siprofloksasin diabsorpsi dengan baik secara oral dan dapat diberikan secara intravena. Siprofloksasin dieliminasi oleh ginjal dan sebagian besar dieliminasi dalam bentuk yang tidak berubah (Neal 2006).

## I. Resistensi Antibiotik

Kemoterapetika yang digunakan pada penyakit infeksi kuman adakalanya tidak bekerja lagi terhadap kuman-kuman tertentu yang ternyata memiliki daya tahan kuat dan menunjukkan resistensi terhadap obat tersebut (Tjay *et al* 2007). Asal mula terjadinya resistensi kuman terhadap obat dapat dibagi menjadi:

### 1. Resistensi non genetik

Bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivitas metabolik) biasanya tidak dipengaruhi oleh antimikroba. Bila berubah menjadi aktif kembali, mikroba kembali bersifat sensitif terhadap antimikroba. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi non genetik.

### 2. Resistensi genetik

Terjadinya resistensi kuman terhadap antibiotik umumnya terjadi karena perubahan genetik. Perubahan genetik bisa terjadi secara kromosomal dan ekstra kromosomal.

### 3. Resistensi kromosomal

Ini terjadi akibat mutasi spontan pada lokus yang mengendalikan kepekaan terhadap obat antimikroba yang diberikan.

### 4. Resistensi ekstrakromosomal (resistensi dipindahkan)

Bakteri sering mengandung unsur-unsur genetik ekstra kromosom yang dinamakan plasmid. Bahan genetik dan plasmid tersebut dapat dipindahkan melalui mekanisme transduksi, transformasi, dan konjugasi.

### 5. Resistensi silang

Mikroorganisme yang resisten terhadap suatu obat tertentu dapat pula resisten terhadap obat-obat lain yang memiliki mekanisme kerja yang sama (Jawetz *et al* 2005).

## J. Uji aktivitas bakteri

Metode uji yang sering digunakan untuk mendeteksi aktivitas antibakteri dibagi menjadi 3 kelompok yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antibakteri.

Sedangkan metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan konsentrasi hambat minimum (Winda 2016).

### **1. Metode difusi**

Metode difusi dibagi menjadi tiga, yaitu difusi cakram, difusi silinder dan *hole plate*. Dalam prosedur cakram, kertas cakram (berdiameter  $\pm 6$  mm) yang mengandung senyawa uji ditempatkan pada permukaan agar yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Senyawa uji berdifusi ke medium agar menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Cawan petri diletakkan pada suhu kamar sebelum inkubasi, kemudian zona hambat diukur (Winda 2016).

### **2. Metode dilusi**

Keuntungan utama dari metode dilusi dapat memperkirakan konsentrasi senyawa uji dalam medium agar atau suspensi *broth*, biasanya digunakan untuk penentuan nilai KHM. Pada metode dilusi agar, medium diinokulasi dengan organisme uji dan sampel yang diuji dicampur dengan inokulum. Material yang diinokulasi dan pertumbuhan mikroorganisme dapat terlihat dan dibandingkan dengan kultur kontrol yang tidak mengandung sampel uji. Pengujian diulang dengan variasi dilusi sampel uji dalam medium kultur dan menentukan dilusi yang paling tinggi dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme sampel. Pada uji mikrodilusi cair, mikroorganisme yang tumbuh disumur plat, dimana berbagai konsentrasi senyawa uji ditambahkan. Pertumbuhan mikroorganisme ditunjukkan oleh adanya kekeruhan dalam sumur (Winda 2016).

### **3. Metode bioautografi**

Prosedur dalam metode bioautografi mirip dengan yang digunakan dalam metode difusi agar. Perbedaannya adalah bahwa senyawa uji berdifusi dari kertas kromatografi ke media agar yang diinokulasi. Metode bioautografi dibagi lagi menjadi bioautografi kontak, imersi, dan langsung (Winda 2016).

## **K. Cairan Penyari**

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah

diperoleh, stabil secara fisika kimia, bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol.

### **1. Etanol**

Etanol adalah pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengekstraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al*2014).

Pelarut lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Karena hampir semua komponen diidentifikasi dari tanaman yang aktif terhadap mikroorganisme adalah senyawa organik aromatik atau jenuh, mereka paling sering diperoleh melalui etanol. (Tiwari *et al* 2011).

### **2. Air**

Air digunakan sebagai cairan pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, alamiah. Air melarutkan garam, tanin dan gula (Depkes 1986).

### **3. Dimethyl sulfoxida (DMSO)**

Dimethyl sulfoxida (DMSO) merupakan cairan kental, jernih, tidak berwarna, higroskopik, larut dalam air, dalam etanol 95% dan dalam eter (Farmakope Indonesia 1979). DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri (Wildan *et al* 2015).

## **L. Media**

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Mikroorganisme sebagai makhluk hidup mempunyai kebutuhan dasar yang sama yaitu air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh.

Fungsi media antara lain untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, untuk memperbanyak mikroba, untuk menguji sifat-sifat mikroba, untuk menghitung jumlah mikroba, dan untuk menyimpan mikroba. Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin dan sebagainya, maka bentuk media dikenal tiga jenis yaitu :

### **1. Media padat**

Media ditambah 12-15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Media yang memerlukan kadar air tinggi, maka jumlah tepung agar-agar harus rendah tetapi untuk jenis media yang memerlukan kandungan air rendah penambahan tepung agar harus sedikit. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikro alga.

### **2. Media cair**

Media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat biasanya digunakan untuk penampilan atau morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni.

### **3. Media semi cair atau padat**

Penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang yang seharusnya. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1985).

## **M. Landasan Teori**

Seseorang mudah terkena infeksi apabila terdapat luka pada kulit sehingga mudah terpapar bakteri patogen yang menyebabkan infeksi pada kulit adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang membuat adanya nanah biru-hijau pada luka yang didapati. Nosokomial merupakan infeksi yang sering menginfeksi masyarakat terutama pasien dan keluarga yang berkunjung di rumah sakit serta merupakan infeksi yang menyebabkan kematian terbesar pada pasien yang menjalani perawatan di rumah sakit. Infeksi nosokomial menjadi bahaya tersendiri bagi setiap staf rumah sakit, pasien bahkan keluarga yang berada di wilayah rumah sakit karena infeksi nosokomial ini dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti

infeksi saluran kemih, infeksi aliran darah, pneumonia dan infeksi pada luka operasi. Infeksi ini terjadi bila toksin atau agen yang menyebabkan infeksi lokal atau sistemik masuk ke dalam tubuh host. Infeksi nosokomial terjadi bila terjadi kontak antara penderita dan host yang sehat. Infeksi nosokomial biasanya terjadi saat pekerja rumah sakit lengah atau kurang menjaga kebersihan dirinya. Infeksi nosokomial juga bisa dialami oleh pasien yang hanya berobat ke rumah sakit. Pada dasarnya staf bisa bertindak sebagai vektor.

Prevalensi infeksi nosokomial yang dilakukan WHO di 55 rumah sakit dari 14 negara yang mewakili 4 Kawasan WHO (Eropa, Timur Tengah, Asia Tenggara dan Pasifik Barat) menunjukkan rata-rata 8,7% pasien rumah sakit mengalami infeksi nosokomial. Setiap saat, lebih dari 1,4 juta orang di seluruh dunia menderita komplikasi dari infeksi yang diperoleh di rumah sakit. Frekuensi tertinggi infeksi nosokomial dilaporkan dari rumah sakit di Kawasan Timur Tengah dan Asia Tenggara (11,8% dan 10,0% masing-masing), dengan prevalensi 7,7% dan 9,0% masing-masing di Kawasan Eropa dan Pasifik Barat (WHO, 2002). Penelitian lain, infeksi nosokomial dilaporkan rata-rata sekitar 3,5% (Jerman) menjadi 5% (AS) dari seluruh pasien rawat inap, di perawatan rumah sakit tersier sekitar 10% dan di ICU sekitar 15%-20% kasus (Kayser 2005).

Antibiotik memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman dan toksisitasnya relatif kecil bagi manusia. Salah satu antibiotik yang digunakan untuk infeksi saluran kemih yaitu ciprofloxacin. Ciprofloxacin mempunyai kelarutan dalam air sekitar 36 mg/mL pada suhu 25°C dan harga pKa 6-8,8. Suspensi ciprofloxacin stabil selama 14 hari bila disimpan pada suhu ruang dan harus disimpan pada suhu kurang dari 30°C. Siprofloksasin digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh kuman patogen yang peka terhadap siprofloksasin yang menyerang. (Peni *et al* 2011)

Ciprofloxacin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon dengan mekanisme kerja merintangi aktivitas enzim DNA-gyrase yang berfungsi mempertahankan struktur superkoil DNA. Gangguan terhadap enzim ini akan berakibat pada perubahan struktur superkoil DNA menjadi bentuk melingkar

sehingga tidak dapat diekspresikan. Sifat siprofloksasin yang mampu menghambat DNA-*gyrase* ini yang dapat mengendalikan plasmid.

Bawang putih memiliki zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu allisin dan derivatnya seperti dialil thiosulfinat dan dialil disulfida. Allisin akan aktif ketika bawang putih telah hancur, ciri-cirinya adalah dengan keluarnya bau menyengat dari dalam bawang putih. Aktivitas antibakteri bawang putih dapat mengendalikan bakteri-bakteri patogen, baik Gram negatif maupun positif.

Ketapang memiliki zat aktif flavonoid, saponin dan tannin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri sehingga daun ketapang dapat digunakan sebagai salah satu alternative pengobatan penyakit akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang lebih aman dan ramah lingkungan karena dapat mengurangi pemakaian obat-obat kimia yang berbahaya bagi masyarakat.

## N. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini bahwa:

1. Ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), bawang putih (*Allium sativum* L.) tunggal dan kombinasi keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), bawang putih (*Allium sativum* L.) dan kombinasi keduanya pada konsentrasi tertentu dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
3. Terdapat efek yang paling efektif dalam menghambat dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ketapang dan bawang putih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada November 2017.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Jadi sampel merupakan bagian populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ketapang dan bawang putih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah daya hambat pertumbuhan dan daya bunuh dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan berdasar pola hubungan sebab akibat kedalam berbagai macam variable yaitu variabel bebas, variable tergantung, dan variable kendali.

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variable tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dalam pelarut yang diuji antibakteri dalam berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung merupakan titik pusat persoalan yang menjadi kriteria penelitian ini dan memberikan respon jika dihubungkan dengan variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan melihat zona hambat pertumbuhan bakteri dan daya bunuh dari bakteri tersebut.

Variabel kendali merupakan variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi laboratorium, kondisi fisik peneliti, metode uji dan kondisi fisik dari media agar untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun ketapang dan bawang putih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada November 2017.

Kedua, serbuk daun ketapang dan bawang putih adalah serbukdaun ketapang dan bawang putih yang diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, kemudian dikempa.

Ketiga, ekstrak etanol 96% daun ketapang dan bawang putih yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak daun ketapang dan bawang putih.

Keempat, ekstrak daun ketapang dan bawang putih adalah ekstrak-ekstrak daun ketapang dan bawang putih yang diperoleh dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etanol 96%.

Kelima, bakteri yang dipakai adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang ditumbuhkan kedalam media agar.

Keenam, bakteri yang dipakai adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Gadjha Mada.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih (30%:70%) adalah kombinasi dari ekstrak daun ketapang dan bawang putih yaitu satu bagian ekstrak daun ketapang dan satu bagian ekstrak bawang putih.

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih (70%:30%) adalah kombinasi dari ekstrak daun ketapang dan bawang putih yaitu satu bagian ekstrak daun ketapang dan dua bagian ekstrak bawang putih.

Kesembilan, kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih (50%:50%) adalah kombinasi dari ekstrak daun ketapang dan bawang putih yaitu dua bagian ekstrak daun ketapang dan satu bagian ekstrak bawang putih.

Kesepuluh, uji aktivitas antibakteri adalah pengujian aktivitas dengan menggunakan metode dilusi dan difusi untuk melihat pertumbuhan bakteri media uji dengan berbagai konsentrasi.

### **C. Alat, Bahan dan Bakteri**

#### **1. Alat**

Alat untuk pembuatan ekstrak daun ketapang dan bawang putih yaitu bejana maserasi berisi bahan yang sedang dimaserasi, tutup bejana, pengaduk yang digerakkan secara mekanik, bejana tempat hasil maserasi, dan penyerkai. Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri steril, kertas cakram, lampu spritus, penjepit, korek api, masker, handscoon, karet, oven, tabung reaksi, OSE, rak tabung reaksi, *Sterling-bidwell*, pipet dan dandang besar.

#### **2. Bahan**

Bahan uji yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun ketapang dan bawang putih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada November 2017. kemudian diekstrak dengan cara maserasi. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah ciprofloxacin, DMSO 5 %, media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), dan larutan spritus, etanol 96%. Medium yang digunakan adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Citrat, Pseudomonas Selektif Agar* (PSA).

### **3. Bakteri uji**

Bakteri uji yang dipakai dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Gadjha Mada.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Pengambilan bahan**

Bahan yang digunakan dari penelitian ini adalah daun ketapang dan bawang putih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada November 2017.

### **2. Determinasi tanaman daun ketapang dan bawang putih**

Determinasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel berdasarkan ciri-ciri morfologi tanaman dari ketapang dan umbi bawang putih. Determinasi tanaman ketapang dan bawang putih dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### **3. Pengeringan daun ketapang dan bawang putih**

Daun ketapang dan umbi bawang putih yang telah kering kemudian diserbukkan dengan cara diblender, diayak dengan menggunakan pengayak no. 40. Hasil penyerbukkan disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat agar tidak terkena cemaran.

### **4. Pembuatan ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih**

Ekstraksi serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun ketapang sebanyak 500 gram dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 5000 ml ditutup dan direndam selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Sari yang diperoleh dipekatkan dengan evaporator sampai didapat ekstrak kental. Pelarut etanol 96% yang masih tertinggal diuapkan didalam oven.

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil masing-masing ekstrak kemudian dibagi berat serbuk dan dikali 100%.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

## 5. Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan esterifikasi yaitu ekstrak ditambah  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol.

## 6. Pembuatan kombinasi bahan uji

Tujuan dibuatnya kombinasi ekstrak daun ketapng dan umbi bawang putih adalah untuk melihat pada perbandingan berapa ekstrak dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih dengan beberapa konsentrasi yaitu ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 50% : 50%, ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 70% : 30%, ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 70% : 30%, ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50% dan 70% serta ekstrak tunggal umbi bawang putih 30%, 50% dan 70%.

## 7. Kontrol positif dan kontrol negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah cakram antibiotik siprofloksasin 0,0005% sedangkan kontrol negatifnya yang digunakan adalah pelarut DMSO 5%.

## 8. Sterilisasi alat

Seluruh alat yang akan digunakan dilakukan pencucian hingga bersih dan dilanjutkan pengeringan. Langkah selanjutnya dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 20 menit dengan tekanan 1 atm.

## 9. Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi dengan kimia dilakukan untuk memastikan kebenaran zat kimia terkandung didalam daun ketapang. Identifikasi senyawa meliputi senyawa flavonoid, tannin dansaponin.

**9.1. Identifikasi flavonoid.** 2 mg ekstrak ditambah 5 ml aquadest dan dipanaskanselama 1 menit, filtrate ditambah 0,1 gram larutan Mg, ditambahkan 2 ml larutan alkohol:asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini

dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning ataupun jingga pada lapisan amil alcohol.

**9.2. Identifikasi tannin.** Ekstrak ditambahkan tiga tetes pereaksi Besi (III) klorida pada tabung reaksi. Warna akan berubah menja dibiru kehitaman atau hijau kehitaman

**9.3. Identifikasi saponin.** Sampel dididihkan dengan air panas kemudian didinginkan lalu dikocok dan didiamkan beberapa menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin

## **10. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

**10.1 Media Selektif.** Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan diinokulasi secara perataan pada media PSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penampakan membentuk koloni bulat halus dengan membentuk pigmen berwarna kehijauan

**10.2 Pewarnaan Gram.** Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui struktur dan morfologi dari bakteri. Identifikasi yang dilakukan selanjutnya adalah pewarnaan Gram. Bakteri diambil satu ose kemudian dioleskan pada objek glass. Smear pada objek glass kemudian ditetesi dengan Gram A (larutan Kristal violet) selama 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram B (*lugol's iodine*) selama 1 menit kemudian dibilas kembali, kemudian tetesi lagi dengan Gram C (etanol 70%) selama 1 menit kemudian dibilas, terakhir tetesi kembali dengan Gram D (safranin) selama 1 menit kemudian bilas kembali. Objek glass yang telah dilakukan pewarnaan dilihat di mikroskop.

### **10.3 Uji Biokimia**

**10.3.1 Media KIA.** Cara identifikasi dengan biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara tusukan dan goresan pada tebing kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KIA adalah media gabungan yang mengandung glukosa, laktosa, phenol merah dan ferri sulfat. Bagian dasar menunjukkan bagian fermentasi glukosa, sedangkan bagian tebing menunjukkan bagian fermentasi laktosa. Gelembung udara dalam medium menunjukkan adanya pembentukan gas dari fermentasi glukosa dan laktosa. Warna hitam menunjukkan produksi H<sub>2</sub>S

oleh bakteri. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat.

**10.3.2 Media LIA.** Tujuannya adalah untuk mengetahui apakah bakteri mempunyai dekarboksilase dan/atau deaminase yang akan menguraikan lysine menjadi caqaverin yang bersifat basa, karena adanya indikator *Brom Cresol Purple* (BCP) tetap berwarna ungu. Cara identifikasi dengan biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**10.3.3 Media SIM.** Cara identifikasi dengan biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diinokulasi pada media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan dari media SIM adalah untuk melihat adanya sulfid, indol dan motilitas.

**10.3.4 Media Citrat.** Tujuannya adalah untuk mengetahui apakah bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal, dengan adanya indikator *Brom tymol Blue* (BTB) media menjadi biru. Cara identifikasi yaitu dengan biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

## **11. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diambil dengan jarum ose steril. Kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang telah berisi media BHI (*Brain Heart Infusion*) cair. Kemudian dihomogenkan dan setarakan kekeruhan dengan Mc Farland 0,5 kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

## **12. Aktivitas antibakteri dengan metode difusi**

Ekstrak etanol hasil maserasi dari daun ketapang dan bawang putih diuji secara mikrobiologi dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian aktivitas antibakteri daun ketapang dan bawang putih di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi. Metode yang digunakan adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan luas zona diameter hambat terhadap bakteri uji. Metode ini mempunyai keuntungan dibandingkan metode yang lainnya yaitu lebih ekonomis, sederhana dan mudah dibuat.

Metode difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, kemudian diinokulasi kedalam medium MHA dengan metode perataan dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut diisi kertas cakram ukuran 6 mm menggunakan pinset. Masing-masing kertas cakram yang sudah diberi agen antimikroba sesuai konsentrasi yang berisi ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 50% : 50%, ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 70% : 30%, ekstrak etanol daun ketapang dan bawang putih 70% : 30%, ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50% dan 70% serta ekstrak tunggal umbi bawang putih 30%, 50% dan 70%, ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Media yang telah berisi kertas cakram dimasukkan kedalam inkubator dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasil, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar kertas cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun ketapang dan bawang putih memiliki daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

### **13. Aktivitas antibakteri dengan metode dilusi**

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis.

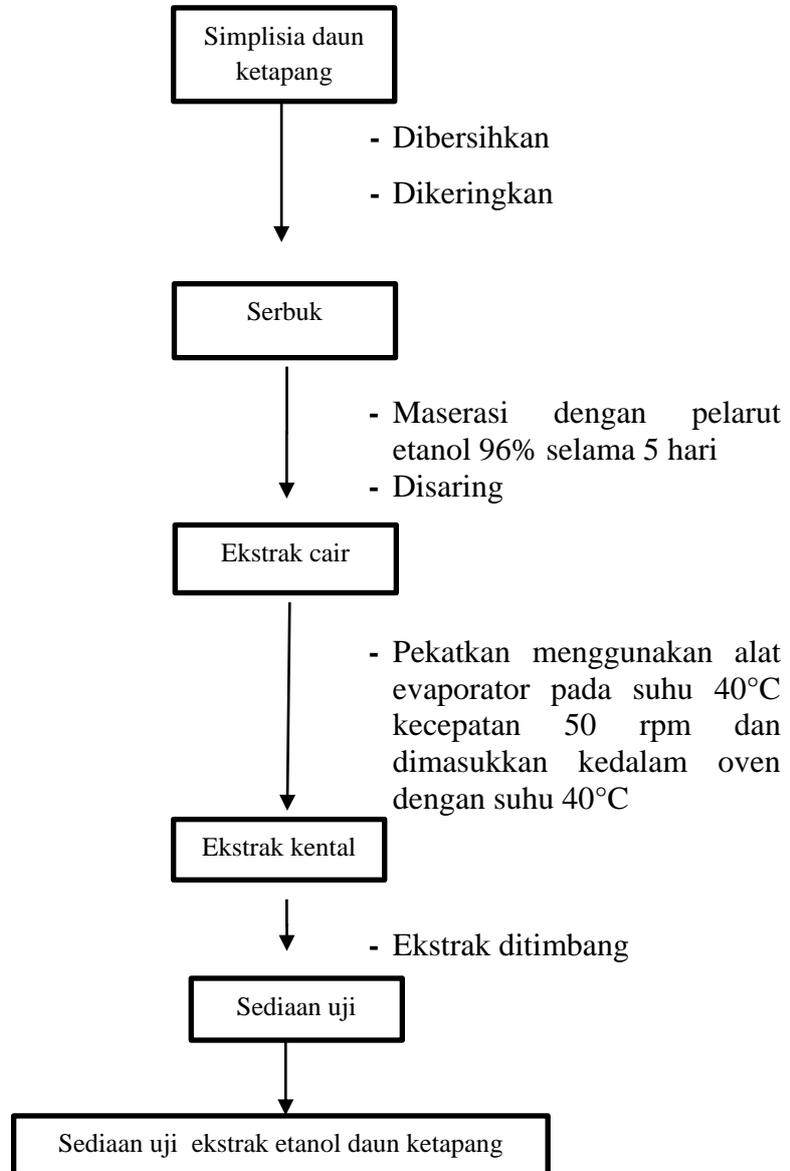
Metode dilusi dengan memasukkan media BHI kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan kontrol negatif serta tabung kedua. Pembuatan larutan stok teraktif menggunakan media BHI. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, 0,196%. Disiapkan dua belas tabung uji steril, pada tabung pertama diisi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih sebanyak 2 ml sebagai kontrol negatif dan pada tabung dua belas diisi suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sebanyak 2 ml sebagai kontrol positif. Pada tabung dua sampai tabung sepuluh diisi suspensi bakteri dalam medium BHI sebanyak 1 ml. Dilakukan pengenceran

dengan cara pada tabung dua ditambah ekstrak sebanyak 1 ml kemudian dihomogenkan, dari tabung dua pindahkan 1 ml ke tabung tiga, kemudian dari tabung tiga pindahkan 1 ml ke tabung empat dan lakukan hal yang sama sampai pada tabung kesebelas. Pada tabung kesebelas ambil 1 ml larutan kemudian buang hingga hasil akhir dari tabung pertama sampai tabung kesebelas diperoleh larutan sebanyak 2 ml. kemudian seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif PSA. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang tumbuh pada permukaan media lempeng.

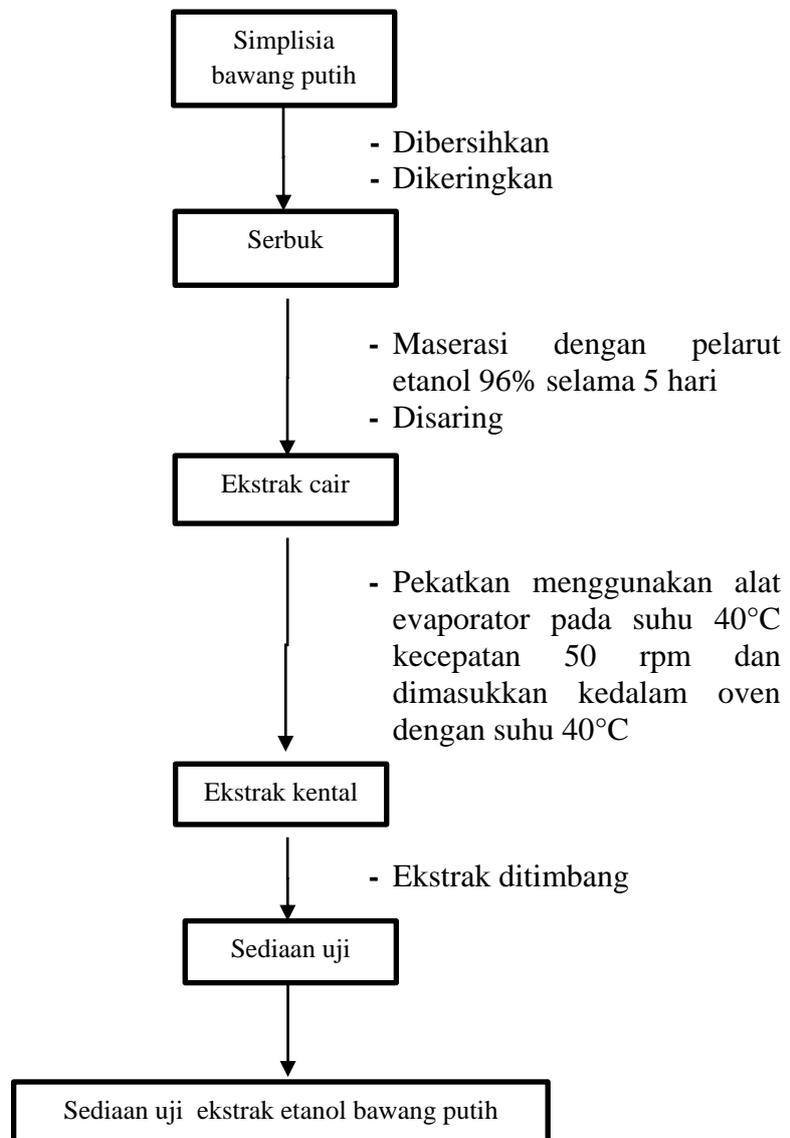
#### **E. Analisis Hasil**

Hasil pada penelitian dianalisis berdasarkan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ditabung reaksi dan di media selektif dengan metode dilusi dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) berdasarkan hasil pengamatan pada tabung reaksi, dimana konsentrasi terkecil bahan uji pada tabung menunjukkan hasil biakan yang terlihat mulai jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan berdasarkan hasil pengamatan dari bahan uji dan konsentrasi terkecil bahan uji pada media PSA yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media padat.

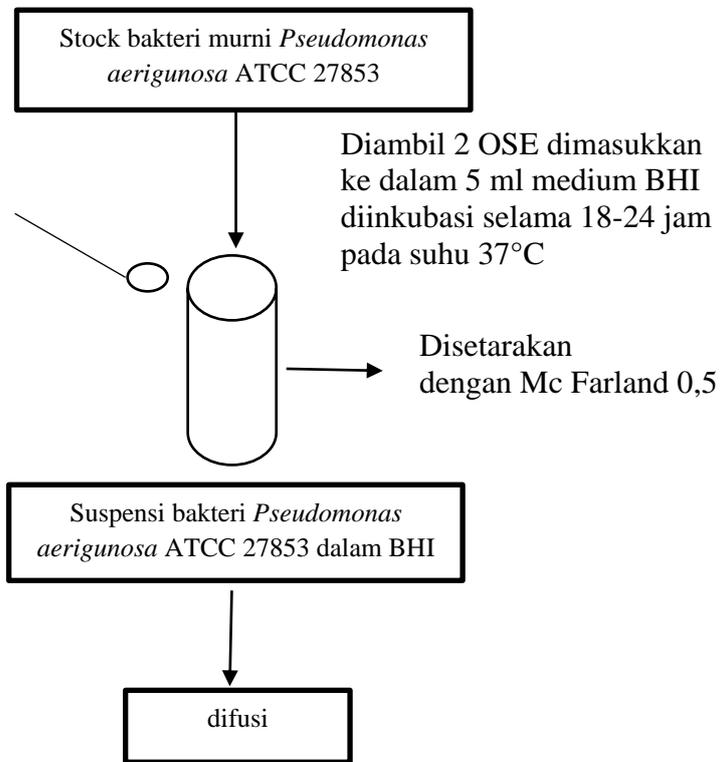
## F. Skema Cara Kerja



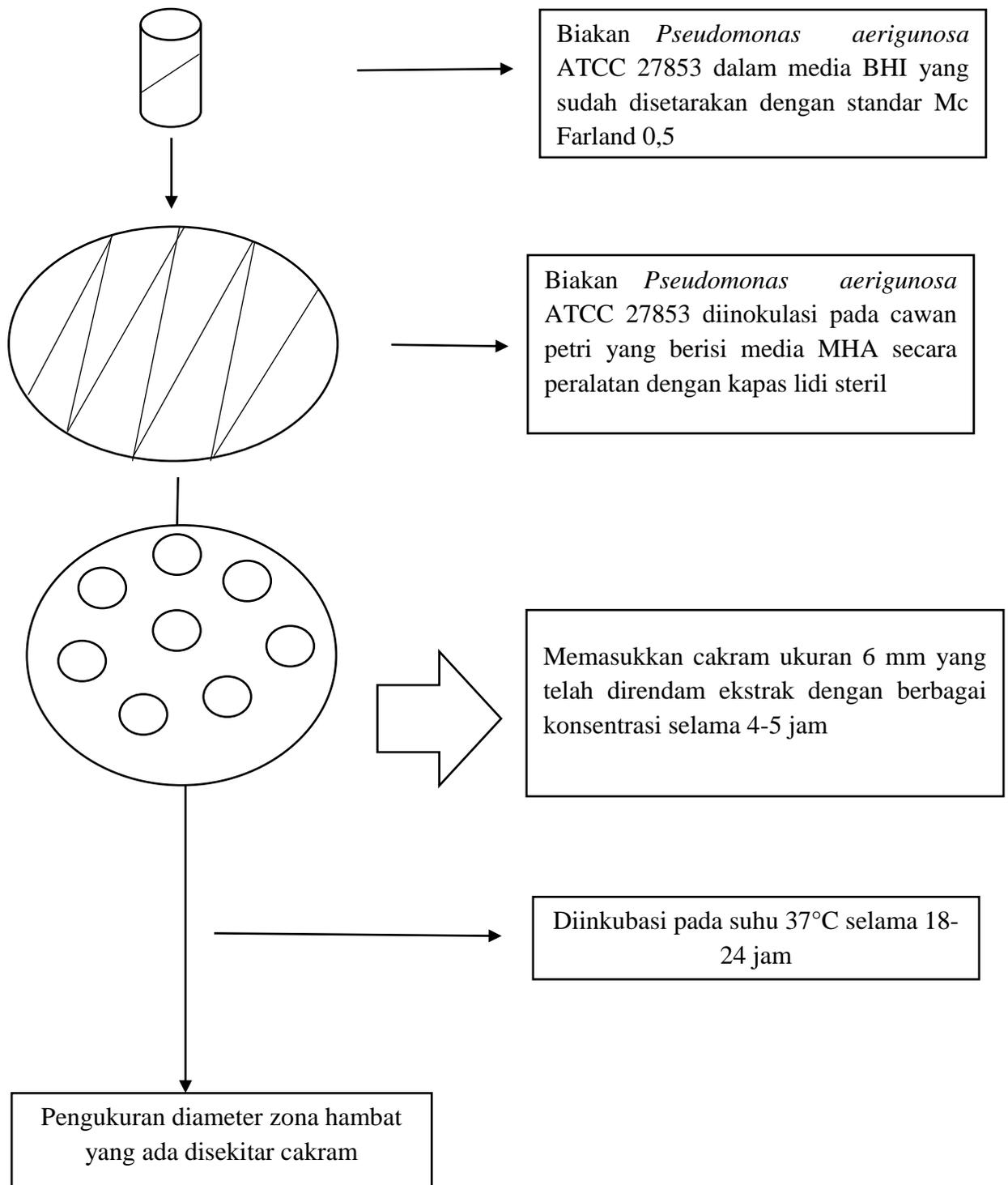
Gambar 6. Skema prosedur pembuatan ekstrak etanol daun ketapang



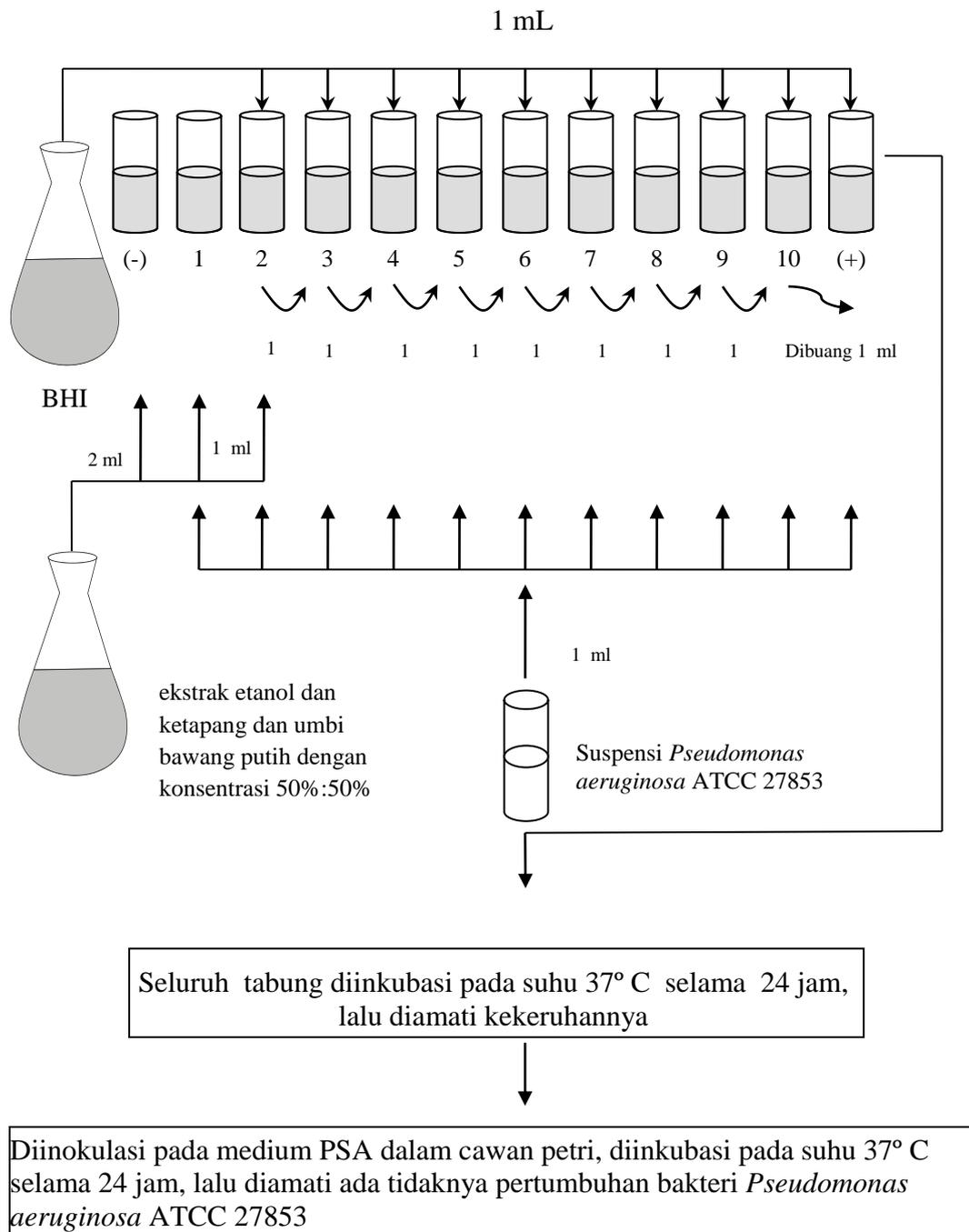
**Gambar 7. Skema prosedur pembuatan ekstrak etanol bawang putih**



Gambar 8. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Gambar 9. Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Difusi



**Gambar 10.** Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Dilusi

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil dan pembahasan**

##### **1. Hasil identifikasi tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.)**

Determinasi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta.

Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman daun ketapang dan umbi bawang putih untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan serta kemungkinan tercampurnya dengan bahan tanaman lainnya. Dari hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan oleh peneliti adalah benar daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan lampiran 2.

##### **2. Hasil pengumpulan bahan dan pengeringan daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.)**

Daun ketapang dan umbi bawang putih segar diambil secara acak dari salah satu kebun di Tawangmangu pada bulan November 2017. Pengeringan bahan dilakukan untuk mengurangi kadar air serta mencegah tumbuhnya mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Daun ketapang sebanyak 3000 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering 800 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 26,67 %. Umbi bawang putih sebanyak 6000 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapatkan bobot kering sebanyak 1200 gram sehingga didapatkan rendemennya adalah 20%. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 15.

**Tabel 1. Hasil rendemen serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih**

<b>Nama tanaman</b>	<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Bobot kering (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
Daun ketapang	3000	800	26,67
Umbi bawang putih	6000	1200	20

### 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih

Penetapan kadar air daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) menggunakan alat *Sterling-bidwell*. Hasil penetapannya tercantum pada tabel 2 di bawah ini:

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar air daun ketapang dan umbi bawang putih**

<b>Nama tanaman</b>	<b>Replikasi</b>	<b>Bobot serbuk (g)</b>	<b>Volume air (ml)</b>	<b>Kadar (%)</b>
Daun ketapang	1	20	1,1	5,5
	2	20	1	5
	3	20	1,5	7,5
<b>Rata-rata</b>				6
Umbi bawang putih	1	20	2,0	10
	2	20	1,8	9
	3	20	1,4	7
<b>Rata-rata</b>				8,67

Hasil perhitungan penetapan kadar air daun ketapang dan umbi bawang putih menggunakan alat *Sterling-bidwel* didapatkan kadar air serbuk daun ketapang dengan rata-rata sebesar 6% dan umbi bawang putih sebesar 8,67%. Nilai kadar air memenuhi syarat yaitu kurang dari 10%. Karena dengan kadar air kurang dari 10% bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

### 4. Hasil pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Keuntungan cara penyari dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga komponen yang tidak tahan panas seperti flavonoid, tannin dan saponin tetap ada di dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental daun

ketapang dan umbi bawang putih dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil pembuatan maserasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

<b>Nama ekstrak</b>	<b>Bobot serbuk (gram)</b>	<b>Bobot ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
Daun ketapang	800	150	18,75
Umbi bawang putih	900	109	12,11

Hasil pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih diperoleh persen rendemen daun ketapang sebesar 18,75 % dan umbi bawang putih sebesar 12,11%. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 16.

### **5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

Hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

<b>Nama ekstrak</b>	<b>Hasil</b>	<b>Pustaka</b>
Daun ketapang	Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Kurniawati 2015)
Umbi bawang putih	Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Kurniawati 2015)

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih agar mendapatkan hasil pengujian aktivitas antibakteri yang benar-benar berasal dari kandungan kimia daun ketapang dan umbi bawang putih sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

### **6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

Ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih selanjutnya dilakukan pengujian kimia untuk mengetahui kandungan kimia seperti flavonoid, tanin dan saponin. Dari hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang

dan umbi bawang putih menggunakan tabung reaksi. Hasil dapat dilihat pada tabel 5 dibawah ini.

**Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

Senyawa	Hasil	Pustaka	Hasil	
			Daun ketapang	Umbi bawang putih
Flavonoid	Warna kuning pada lapisan amil alkohol.	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)	(+)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang.	Terbentuknya busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)	(+)
Tanin	Menunjukkan warna hijau kehitaman	Terbentuknya warna hijau kehitaman (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)	(+)

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dapat dilihat pada lampiran 9. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun ketapang dan umbi bawang putih dengan menggunakan tabung reaksi. Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih positif mengandung flavonoid, saponin, dan tanin yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel terganggu dan sel bakteri menjadi pecah yang berakibat pada kematian sel bakteri. Flavonoid juga menyebabkan pembengkakan

sel bakteri dan akhirnya membran sel menjadi pecah, pecahnya membran tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri (Kusdarwati *et al* 2010).

Saponin merupakan glikosida yang larut dalam air dan etanol. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan kehancuran bakteri

Tanin memberikan efek antibakteri yaitu dengan mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel, akibat terganggunya permeabilitas sel, sel tidak bisa melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat

## 7. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

**7.1 Identifikasi bakteri secara goresan.** Hasil identifikasi bakteri secara goresan menunjukkan penampakan koloni yang membentuk koloni bulat, halus dengan warna hijau yang dihasilkan dari pigmen pyocyanine. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara inokulasi dapat dilihat pada gambar 10.



**Gambar 11.** Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara inokulasi pada media PSA

**Identifikasi bakteri uji secara biokimia dengan menggunakan media LIA, KIA, SIM, dan Citrat.** Hasil pengamatan pada media SIM (*Sulfida Indol Motility*) menunjukkan sulfida (-) karena tidak terbentuk warna hitam pada medium SIM yang artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfat ( $H_2SO_4$ ). Indol (-) karena setelah ditambah reagen Erlich A dan B diatas media, diamati permukaan media tidak berwarna merah artinya *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon, motilitas (+) karena pertumbuhan bakteri

yang menyebar pada tusukan. Hasil identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia dapat dilihat pada table 6 berikut

**Tabel 6. Hasil identifikasi biokimia pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

Pengujian	Hasil	Pustaka (WHO 2003)
KIA	K / K S(-)	K / K S(-)
SIM	- - +	- - +
LIA	K / K S(-)	K / K S(-)
CITRAT	+	+

Keterangan :

SIM : *Sulfida Indol Agar*

KIA : *Kliger Iron Agar*

LIA : *Lysine Iron Agar*

K : merah (pada media KIA)

A : terbentuk warna kuning

K: terbentuk warna ungu (pada media LIA)

S(-) : tidak terbentuk warna hitam

Pengamatan pada medium KIA (*Kliger's Iron Agar*) bagian lereng berwarna merah (K) yang artinya bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, bagian dasar berwarna merah (K), dan sulfida (-) karena tidak menghasilkan warna hitam.

Pengamatan pada medium LIA (*Lysin Iron Agar*) diperoleh hasil bagian lereng media berwarna ungu (K) dan bagian dasar ungu (K), dan sulfida (-) karena *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak mampu mendeaminasi lisin dan tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S.

Pengamatan pada medium citrat positif berwarna biru artinya *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



**Gambar 12. Hasil uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

**7.2 Identifikasi bakteri.** Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan mikroskopis dengan pengecatan Gram didapatkan hasil bahwa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 merupakan

bakteri Gram negatif, sel berbentuk batang susunan tersebar, berwarna merah muda karena rusaknya lapisan lipopolisakarida pada dinding sel sehingga pewarna primer kristal violet yang telah membentuk kompleks dengan iodin bisa dicuci dengan air. Sel-sel Gram negatif yang tidak berwarna akan berwarna merah saat diberikan safranin (pewarna merah). Hasil identifikasi secara morfologi dapat dilihat pada gambar 13.



**Gambar 13.** Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan menggunakan pewarnaan Gram

## **8. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Pembuatan bakteri menggunakan media BHI dengan standar kekeruhan menggunakan pembanding *Mc Farland* 0,5. Jika sangat keruh maka diencerkan tetapi jika kurang keruh maka diinkubasi lagi. Standar kekeruhan *Mc Farland* ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Pembuatan suspensi bakteri bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri.

## **9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih**

### **9.1 Pengujian secara difusi daun ketapang dan umbi bawang putih.**

Masing-masing ekstrak dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu umbi bawang putih 30%, 50%, dan 70% ; umbi bawang putih 30%, 50% dan 70% ; kombinasi 1:1 daun ketapang dan umbi bawang putih 30%:70%, 70%:30% dan 50%:50%. kontrol positif yang digunakan adalah ciprofloksasin 5 µg atau setara dengan 0,0005% dimana siprofloksasin merupakan antibiotik golongan florokuinolon yang penting untuk terapi infeksi yang disebabkan *Pseudomonas aeruginosa* dan memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat DNA girase dan

topoisomerase IV yang keduanya merupakan enzim yang penting untuk replikasi DNA bakteri. Kontrol positif ciprofloksasin 5 µg atau setara dengan 0,0005% berfungsi sebagai pembanding terhadap aktivitas antimikroba ekstrak karena antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang telah dibuat secara standart. Kontrol negatif menggunakan DMSO 5% yang berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut.

Metode difusi pada pengujian aktivitas antibakteri dipilih karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Prinsip dari metode ini adalah kapas lidi steril dimasukkan kedalam tabung yang berisi suspensi bakteri yang sebelumnya telah disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi standart Mc farland 0,5 kemudian kapas lidi steril tersebut ditekan-tekan pada ujung tabung dan digoreskan merata pada media MHA. Kertas cakram yang sebelumnya telah di rendam selama 4 jam dalam konsentrasi ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50%, 70%, tunggal umbi bawang putih 30%, 50%, 70% dan kombinasi keduanya 30%:70%, 70%:30% dan 50%:50%, DMSO 5%, dan ciprofloxacin 0,0005% diletakkan diatas media MHA yang telah mengandung bakteri uji dan sedikit ditekan. Kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 18-24 jam. Diameter daerah hambat diamati dan dihitung dan dinyatakan dalam satuan mm.

**Tabel 7. Hasil diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi**

Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
	Replikasi			
	I	II	III	
Ekstrak Daun ketapang 30%	22,5	19,3	25	22,15 ± 4,03
Ekstrak Daun Ketapang 50%	24,1	22,6	24	23,57 ± 0,83
Ekstrak Daun Ketapang 70%	25,9	26,3	22	24,73 ± 2,37
Ekstrak umbi bawang putih 30%	11,2	11	14,3	12,17 ± 1,85
Ekstrak umbi bawang putih 50%	13,8	14	17	14,93 ± 1,79
Ekstrak umbi bawang putih 70%	16,9	15	16,3	16,06 ± 0,97
Kombinasi 70% : 30%	32,7	25	21,3	26,33 ± 5,81
Kombinasi 30% : 70%	23,2	26,3	22,6	24,03 ± 1,98
Kombinasi 50% :50%	28,1	29,3	26,3	27,9 ± 1,50
Kontrol (+)	22,2	25	23	23,4 ± 1,44
Kontrol (-)	-	-	-	-

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih memiliki daya hambat yang lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya. Hasil rata-rata diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih yaitu pada konsentrasi 50% : 50% yaitu sebesar 27,9 mm. pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ini menggunakan kontrol negatif DMSO 5% dan kontrol positif siprofloksasin 0,0005%.

Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm maka dikategorikan lemah, apabila berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Pengujian antibakteri selanjutnya menggunakan metode dilusi. Ekstrak yang diujikan yaitu ekstrak teraktif yang memiliki zona hambat terbesar di uji antibakteri dengan metode difusi sebelumnya. Metode dilusi berguna untuk mencari konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,5%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, kontrol negatif dan kontrol positif. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 7.

Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis Of Varians (ANOVA) *oneway*. anova *oneway* untuk membandingkan ekstrak ekstrak daun ketapang 30%, ekstrak daun ketapang 50%, ekstrak daun ketapang 70%, ekstrak umbi bawang putih 30%, ekstrak umbi bawang putih 50%, ekstrak umbi bawang putih 70%, kombinasi 70% : 30%, kombinasi 30% : 70%, kombinasi 50% :50%, kontrol (+), kontrol (-)

Hasil uji anova *oneway* pada tabel diameter hambat didapatkan hasil  $F = 34,276$  dengan probabilitas  $0,000 > 0,05$  berarti kedua belas sediaan uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Berdasarkan tabel *tukey test* dan dapat dijelaskan bahwa ada tanda \* pada *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan dengan maksud memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas

antibakteri, sedangkan tidak ada tanda \* maka perbedaan signifikan dengan maksud tidak memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas antibakteri. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih 50% :50% yang memiliki aktivitas antibakteri lebih optima dan signifikan dalam membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya lebih menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak yaitu flavonoid, tanin dan saponin.

**9.2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.** Hasil pengujian dari ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih 50%:50% dilakukan dengan metode dilusi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Konsentrasi ekstrak etanol 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%. Aktivitas antibakteri dapat diketahui dari kekeruhan pada tabung reaksi lalu kemudian digoreskan pada media agar, hasil menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Kemudian dilakukan penggoresan pada media PSA untuk melihat Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat antibakterial. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media PSA dalam cawan petri steril.

Hasil uji dilusi yang telah diinkubasi menunjukkan kekeruhan yang tidak dapat dilihat karena adanya pengaruh warna dari ekstrak sehingga dilanjutkan dengan penggoresan pada media *Pseudomonas Selektif Agar* untuk menentukan KBM yang ditentukan dari konsentrasi paling rendah yang tidak ditumbuhi koloni bakteri. Pada uji dengan metode dilusi pada media *Pseudomonas Selektif Agar* didapatkan hasil bahwa kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih 50%:50% membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi 50%. Hal ini terjadi karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang patogen serta bakteri ini memiliki kemampuan untuk mengembangkan *Multi Drug Resistance* (MDR) atau kemampuan organisme penyebab penyakit untuk bertahan atas obat atau bahan kimia. Konsentrasi 25%-0,19% memberikan hasil positif yang berarti senyawa antibakteri pada daun ketapang dan umbi bawang

putih tidak berfungsi sebagai antibakteri. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih dengan perbandingan konsentrasi 50%:50% lebih efektif membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol lebih banyak dan semua kandungan senyawa dalam ekstrak etanol bekerja secara sinergis sehingga menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat.

**Tabel 8. Hasil uji dilusi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih pada konsentrasi perbandingan 50% : 50%**

No	Konsentrasi (%)	Replikasi		
		I	II	III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	+	+	+
4	12,5%	+	+	+
5	6,5%	+	+	+
6	3,125%	+	+	+
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	0,19%	+	+	+
11	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-

Keterangan :

(+) = terdapat pertumbuhan bakteri

(-) = tidak terdapat pertumbuhan bakteri

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) tunggal dan kombinasi keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih dengan perbandingan konsentrasi 50%:50% merupakan ekstrak yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 50%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut daun ketapang dan Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif yang lain selain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa aktif dari ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan seperti salep yang dapat dikonsumsi masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Journal Of Marine Research* 3:69-78.
- Alli JA, Boboye BE, Okonko IO, Kolade AF, Nwanze JC. 2011. Cellular effects of garlic (*Allium sativum*) extract on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Pelagia Research Library*. 2:25–36.
- Arifianti L, Oktariana RD, Kusumawati I. 2014 pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sintesis dalam ekstra daun *Orthosiphon stamineus* benth. *E-journal Planta Husada* 2:1-4
- Ary Susanti. 2007. Daya antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica*) terhadap *Echerichia coli* secara *in vitro* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Aini Zabra. 2011. Skrining panjang gelombang serapan maksimum tablet soprofloksasin di pasar pramuka dengan spektrofotometer UV-VIS [Skripsi]. Jakarta. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Bauman, R. 2007. *Microbiology With Diseases by Taxonomy*. 2<sup>th</sup> edition. Pearson Educating Inc. San Fransisco.
- Bayan L, Koulivand PH, Gorji A. 2014. Garlic: a review of potential therapeutic effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 4:1–14.
- [BPOM RI]. (2005). Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK 00.05.41.1384 tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka. Jakarta
- Boboye BE and Alli AJ. 2008. Cellular Effects of Garlic (*Allium sativum*) Extract on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Research Journal of Medicinal Plant*. 2:19-85.
- Cempaka Rumah Sakit Ortopedi Prof. Dr. R. Soeharso Surakarta *Invitro*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Chee Mun F. 2003. Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) Leaves-Black Water: Understanding Black Water. *INBS ForumIndex*. <http://www.joyabetta.com> [24 Agst 2018].

- Choma, Irena M, Edyta M, Grzelak.2010. bioautography Detection in Thin-Layer Chromatography. *Journal of Chromatography A* Chroma-351708.
- Darsana I.G.O, Besung I.N.K, Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *in Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 1:337-351
- [Depkes RI]. 1986. *Sedian Galenik*. Jakarta: DitjenPOM. Hal. 12, 26.
- [Depkes RI] 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Departemen kesehatan republic Indonesia. Jakarta. 9-11,16
- Gerald K. 2005. *AHFS Drug Information*. 451. 2644. American Society of Health. System Pharmacist. USA.
- Gilman, A.G., 2007, *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, diterjemahkan oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Edisi X, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta. 887
- Gul, A. F. Kidoglu., Y. Tüzel dan I. H. Tüzel. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. *Spanish Journal of Agricultural*. 6(3), 422-429
- Gustiani, E. 2009. Pengendalian Cemaran Mikroba pada Bahan Pangan Asal Ternak (Daging dan Susu) Mulai dari Peternakan sampai Dihidangkan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(3) 96-100
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre for Science and High Technology.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung, Penerbit ITB.
- Hardhiko, R.S., A.G. Suganda dan E.Y. Sukandar. 2004. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol, Ekstrak Air Daun yang Dipetik dan Daun Gugur Pohon Ketapang (*Terminalia cattapa* L.). *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 29: 129-133.
- Huriawati Hartanto, dkk. (eds). 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC, pp: 933.
- Ikonne, E. U. & Odozor, P. J., 2009, Comparative Efficacy of Topical Ciprofloxacin on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro, *JNOA*, 15 (8-15).
- Isabela Ariane. 2009. Pengaruh Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera* ) Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada Pasien Osteomyelitis Bangsaal

- Jawetz et al. 2005. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2005, Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Edisi XXII, 205-211, 315-327, 352- 361, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz E, Melbick JL, Adelberg FA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*, Ed ke-25, penerjemah: Nugroho AW, dkk, editor Adityaputri A, dkk. Jakarta:EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Kemper KJ. 2005. Garlic (*Allium sativum*). *The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research*.
- Kurniawati E. 2015. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata 2*: 83-90
- Mulyani, S dan Laksana T. 2011. Analisis Flavonoid dan Tannin dengan metode Mikroskopi-Mikrokimiawi. *Majalah obat tradisional*. Yogyakarta. Fakultas Farmasi Universitas Gajha Mada
- Nihi S. 2011. Gambaran Penderita Infeksi Nosokomial Pada Pasien Rawat Inap Di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Tahun 2010. [Skripsi]. Fakultas Kesehatan Masyarakat Epidemiologi, Universitas Hasanuddin
- Shahid, M., Malik, A. & Sheeba, 2003, Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains Harboring R-Plasmids and Ampc L-Lactamases Isolated from Hospitalised Burn Patients in A Tertiary Care Hospital of North India, *FEMS Microbiology Letters*, 228,181-186.
- Siswanto YW, 2004. *Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial*. Edisi Revisi. Jakarta: Penebar Swadaya
- Suriawiria, U.1985. Pengantar Mikrobiologi Umum. Angkasa. Bandung. Hal 224
- Tambayong. (2002). *Anatomi Fisiologi untuk Keperawatan*. Editor Monica Ester, Jakarta: EGC.
- Tiwari, M., 2011. Science Behind Human Saliva. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* Vol. 2. Issue. 1: 53-58.
- Tjay, T. H. & Rahardja, K., 2007, *Obat-obat Penting*, Edisi 6, 43, Jakarta, PT. Gramedia.
- Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta

- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice. University of Mysore. Karnataka. India. *Journal of Pharmacy Research* 8: 4554-4558.
- Rantapina Kurnia Sari. 2003. *Pengaruh Allicin pada Bawang Putih (allium sativum L.) terhadap Pertumbuhan Streptococcus Sp* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran UNS.
- Singh, V.K. and Singh, D.K. 2008. Pharmacological effects of garlic (*Allium sativum L.*). *Annu Rev Biomed Sci.* 10: 6-26.
- Supardi, A. 2007. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Umbi Bawang Putih (Allium sativum Linn.) Lanang terhadap Streptococcus pneumoniae dan Klebsiella pneumoniae secara dilusi* [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Setya Bud.
- Pastra, D.A, Melki dan H. Surbakti. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp. sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Maspari Journal.* 4, 77-82
- Pelczar MJ dan Chan ECS. 2012. *Dasar-dasar Mikrobiologi.* UI pres: Jakarta
- [PKBPOM RI] Peraturan Kepala Badan Pengawas obat dan Makanan Republik Indonesia No. 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional
- Zanuar Ichsan. 2009. efek antibakteri ekstrak bawang putih (*allium sativum*) terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans* secara *in vitro* [Skripsi]. Fakultas kedokteran. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

## Lampiran 1. Determinasi tanaman bawang putih



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 67/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Mariana Kristiani  
NIM : 20144325A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Allium sativum* L.  
Familia : Amaryllidaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963:1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-  
802a803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-  
825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834a-835a-836a-837c-851a-852b-853b-854a-855c-856b-857a-  
858a-859c-860b-872b-874b-875b-876b-877c-916b-920b-921b-922b-923b-924a\_218. Amaryllidaceae  
1a-2b-3a-4a 1. *Allium*  
1a-2a-3b *Allium sativum* L.

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : herba semusim, tumbuh tegak, tinggi 30-60 cm, menghasilkan umbi. Umbi : terdapat di dalam tanah, berbau aromatis, umbi tunggal dan tidak terbagi menjadi beberapa siung, diameter 25-50 mm, dilapisi kulit seperti kertas berwarna putih. Akar : akar serabut, muncul dari bagian bawah cakram, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : batang semu berbentuk bulat dan beralur, berwarna hijau, batang sejati terletak pada pangkal umbi yang berupa cakram pipih, tempat tumbuhnya akar-akar serabut di bagian bawah dan tempat tumbuhnya mata tunas yang dapat tumbuh menjadi tanaman baru di bagian atas, berwarna putih atau putih kekuningan. Daun : tunggal, berupa roset akar, bentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, beralur, panjang 60 cm, lebar 4-12 mm, menebal dan berdaging serta mengandung persediaan makanan yang terdiri atas subang yang dilapisi daun sehingga menjadi umbi lapis, hijau. Bunga : bunga majemuk berbentuk payung, terdiri atas 50-200 buah kuntum bunga; tangkai bunga silindris, panjang 30-50 cm, ujung dan pangkal tangkai bunga mengecil sedangkan bagian tengah menggembung, berlubang di bagian tengah; tangkai kuntum bunga pendek, 0.2-0.6 cm; daun tenda bunga 6, memanjang, ujungnya meruncing, putih atau putih kehijauan hingga ungu; benang sari 6, tersusun dalam 2 lingkaran, lingkaran luar dan dalam masing-masing terdapat 3 benang sari, tangkai sari putih, kepala sari hijau; bakal buah bentuk segitiga, duduk menumpang, terdiri dari 3 daun buah yang membentuk 3 ruang, tiap ruang terdapat 2 calon biji. Buah : buah kapsul, bulat, hijau. Biji : biji berbentuk segitiga, panjang 3 mm, lebar 2 mm, hitam, mengkerut setelah kering.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

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. Determinasi tanaman ketapang



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 70/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Mariana Kristiani  
NIM : 20144325A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Terminalia cattapa* L.  
Familia : Combretaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34b-333b-334b-335a-336b-345b-346b-348b-349b-355a **87. Combretaceae**  
1b **3. Terminalia**  
1b-3b **Terminalia cattapa** L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitat : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi 10-35 m. Akar : akar tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, bercabang banyak, arah tumbuh cabang serong ke atas hingga mendatar, permukaan gundul, coklat keabu-abuan. Daun : tunggal, tersebar, sebagian besar berkumpul di ujung batang atau cabang; bentuk helaian daun bulat telur terbalik, panjang 15-31 cm, lebar 10-23.5 cm, pangkal tumpul melebar atau sedikit menjantung, tepi rata, ujung meruncing pendek hingga tumpul, pertulangan menyirip, permukaan licin dan gundul di bagian atas, hijau hingga hijau tua tetapi berubah menjadi merah sebelum rontok; tangkai daun bulat, gundul, hijau. Bunga : majemuk tipe bulir, di ketiak daun di ujung cabang atau batang, panjang bulir 12-24 cm, bulir di bagian bawah terdapat bunga berkelamin 2 (banci), di bagian atas terdapat bunga jantan; tinggi dasar bunga pada bunga jantan dan bunga banci 4-8 mm, permukaan sedikit berambut tapi kemudian gundul; kelopak bercuping 5, berbentuk piring atau lonceng, cuping kelopak bagian dalam gundul, pada bunga banci panjangnya 4-8 mm, putih; benang sari 10, dalam 2 lingkaran, masing-masing lingkaran 5, benang sari pada bunga banci dan bunga jantan muncul keluar jauh ke permukaan; tangkai putik sangat pendek atau tidak ada. Buah : batu, bersegi, panjang 2.5-7 cm, lebar 4-5.5 cm, di bagian tengah banyak rongga, di bagian dalam keras, kulit buah hijau tapi ketika masak berubah menjadi kuning hingga merah tua. Biji : kecil, bisa dimakan.

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab/Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

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 3. Foto daun ketapang dan umbi bawang putih**

			
<b>Daun segar daun ketapang</b>	<b>Daun kering ketapang</b>	<b>Umbi segar bawang putih</b>	<b>Umbi kering bawang putih</b>

**Lampiran 4. Foto serbuk dun ketapang dan umbi bawang putih**

	
<b>Serbuk daun ketapang</b>	<b>Serbuk umbi bawang putih</b>

**Lampiran 5. Ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih**

	
<b>Ekstrak etanol daun ketapang</b>	<b>Ekstrak etanol umbi bawang putih</b>

**Lampiran 6. Foto pengayak dan blender**

	
<b>Pengayak mers 40</b>	<b>blender</b>

**Lampiran 7. Foto dengan berbagai konsentrasi**

	<b>Kombinasi ekstrak daun ketapang 30%:70%, 70%:30%, 50%:50%</b>
	<b>Ekstrak tunggal bawang putih 30%, 50%, 70%</b>
	<b>Ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50%, 70%</b>

**Lampiran 8. Foto uji bebas etanol**

Bebas etanol ekstrak daun ketapang

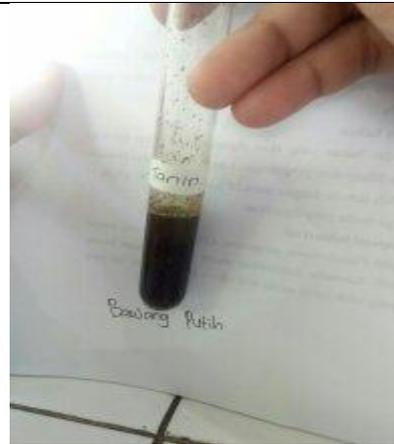


Bebas etanol ekstrak umbi bawang putih

**Lampiran 9. Kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**



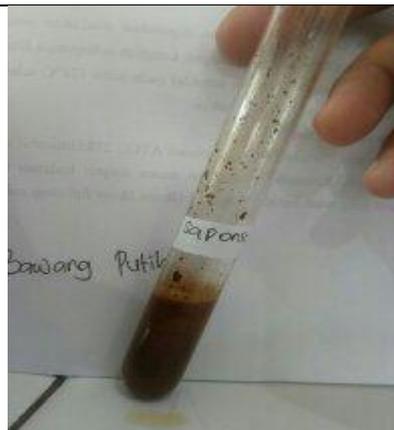
Uji tanin ekstrak daun ketapang



Uji tanin ekstrak umbi bawang putih



Uji saponin ekstrak daun ketapang



Uji saponin ekstrak umbi bawang putih



Uji flavonoid ekstrak daun ketapang

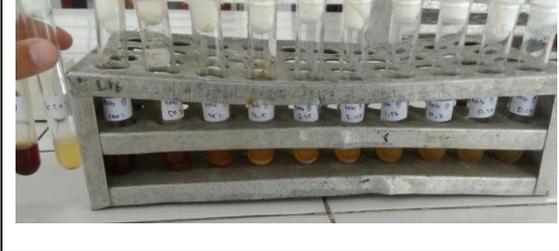
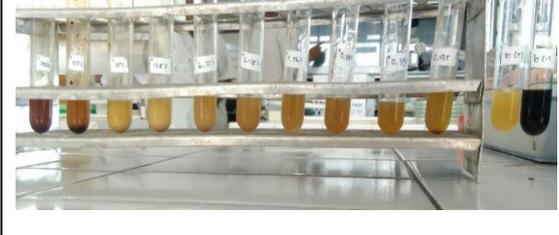


Uji flavonoid ekstrak umbi bawang putih

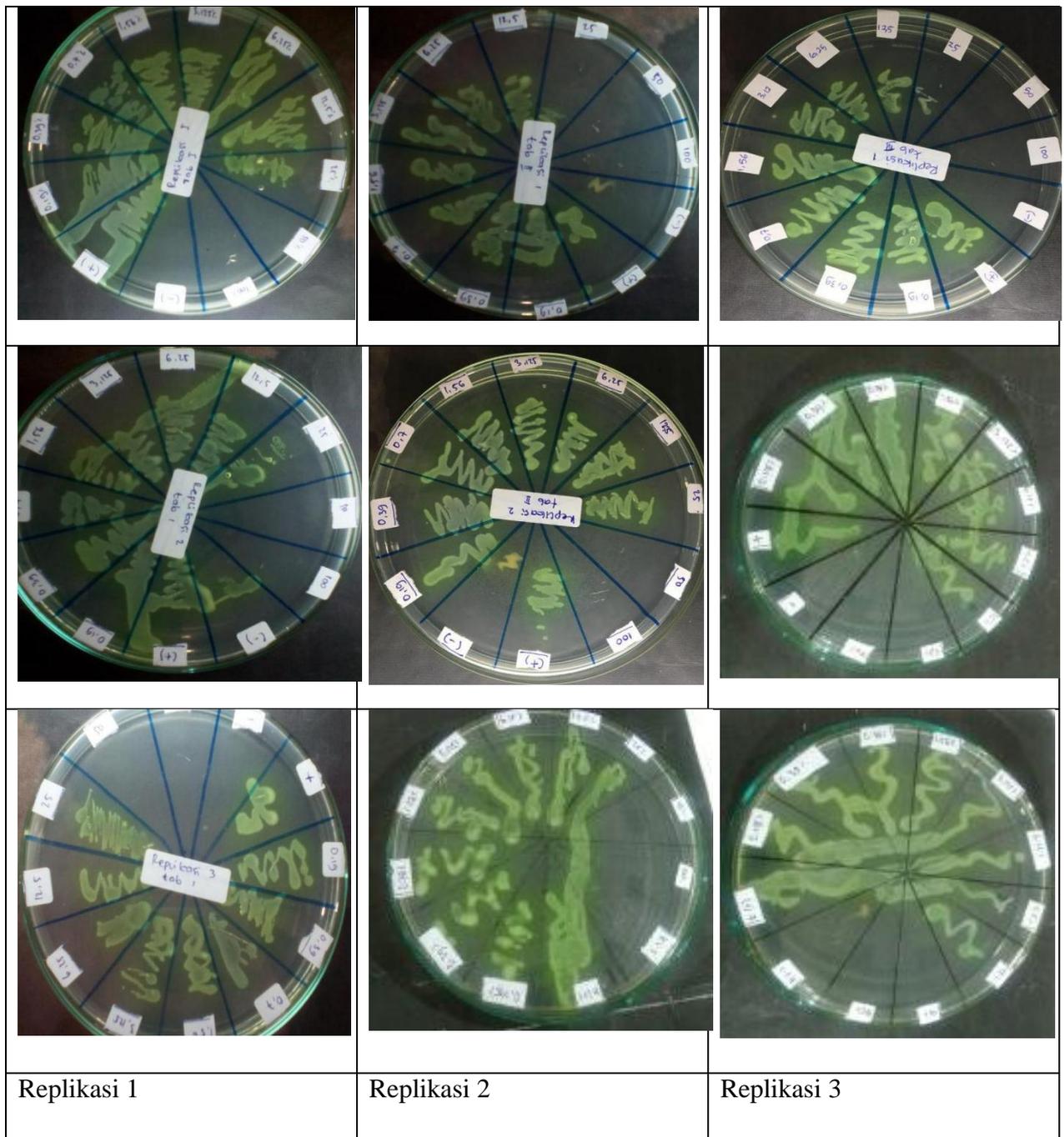
**Lampiran 10. Foto hasil difusi uji aktivitas antibakteri berbagai konsentrasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
<p>Daun ketapang 30%, daun ketapang 50%, daun ketapang 70%, bawang putih 30%, Bawang putih 50%, Bawang putih 70%, Daun ketapang+umbi bawang putih 30%:70%, Daun ketapang+umbi bawang putih 70%:30%, Daun ketapang+umbi bawang putih 50%:50%, K(-) : Ciprofloksasin, K(+) : DMSO 5%</p>		

**Lampiran 11. Hasil konsentrasi dilusi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

	<p><b>Pengenceran dilusi replikasi 1</b></p> <p><b>Pengenceran dimulai dari 100% - 0,195% , K (+) dan K (-)</b></p>
	<p><b>Pengenceran dilusi replikasi 2</b></p> <p><b>Pengenceran dimulai dari 100% - 0,195% , K (+) dan K (-)</b></p>
	<p><b>Pengenceran dilusi replikasi 3</b></p> <p><b>Pengenceran dimulai dari 100% - 0,195% , K (+) dan K (-)</b></p>

Lampiran 12. Foto replikasi hasil goresan dilusi



**Lampiran 13. Foto rangkaian alat pengukuran kadar air dan penyari**

	<p><i>Sterking-bidwell</i></p> <p>Lampu spritus</p> <p>Klem</p> <p>statif</p>
	<p>Vakum</p> <p>Erlenmeyer</p> <p>Corong</p>

**Lampiran 14. Foto****Evaporator****Timbangan****Oven binder****Autofortex****Inkubator**

**Lampiran 15. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah**

<b>Nama tanaman</b>	<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Bobot kering (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
Daun ketapang	3000	800	26,67
Umbi bawang putih	6000	1200	20

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun ketapng adalah:

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

$$\% \text{ Bobot kering} = \frac{800 (g)}{3000 (g)} \times 100\% = 26,67\%$$

Maka persentasi bobot kering terhadap bobot basah daun ketapang adalah 33,33%

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah umbi bawang putih

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

$$\% \text{ Bobot kering} = \frac{1200 (g)}{6000 (g)} \times 100\% = 20\%$$

Maka persentasi bobot kering terhadap bobot basah umbi bawang putih adalah 20%

**Lampiran 16. Hasil pembuatan maserasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**

<b>Nama ekstrak</b>	<b>Bobot serbuk (gram)</b>	<b>Bobot ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (% b/b)</b>
Daun ketapang	800	150	18,75
Umbi bawang putih	900	109	12,11

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ketapang

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

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{150 \text{ (g)}}{800 \text{ (g)}} \times 100\% = 18,75\%$$

Perhitungan rendemen ekstrak etanol umbi bawang putih

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

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{109 \text{ (g)}}{900 \text{ (g)}} \times 100\% = 12,11\%$$

**Lampiran 17. Perhitungan pembuatan media *PSA, BHI, Gliserin* dan *MHA***

BHI: 37gr/ltr

$$\text{Buat 50 mL} : \frac{50 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 37 \text{ gr} = 1,85 \text{ gr}$$

PSA: 45,3 gr/ltr

$$\text{Buat 400 mL} : \frac{400 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 45,3 \text{ gr} = 18,12 \text{ gr}$$

Gliserin: 10 gr/ltr

$$\text{Buat 400 mL} : \frac{400 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 10 \text{ gr} = 4 \text{ gr}$$

MHA: 38gr/ltr

$$\text{Buat 180 mL} : \frac{180 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 38 \text{ gr} = 6,84 \text{ gr}$$

**Lampiran 18. Hasil penetapan kadar air daun ketapang dan umbi bawang putih**

Nama tanaman	Replikasi	Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
Daun ketapang	1	20	1,1	5,5
	2	20	1	5
	3	20	1,5	7,5
<b>Rata-rata</b>				6
Umbi bawang putih	1	20	2,0	10
	2	20	1,8	9
	3	20	1,4	7
<b>Rata-rata</b>				8,67

Hasil persentasi kadar air daun ketapang

Rumus perhitungan kadar air (%) :

$$\text{kadar air sampel} = \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air sampel 1} = \frac{1,1}{20} \times 100\% = 5,5 \%$$

$$\text{kadar air sampel 2} = \frac{1}{20} \times 100\% = 5 \%$$

$$\text{kadar air sampel 3} = \frac{1,5}{20} \times 100\% = 7,5$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk daun ketapang} = \frac{5,5\%+5\%+7,5\%}{3} = 6 \%$$

Hasil persentasi kadar air umbi bawang putih

Rumus perhitungan kadar air (%) :

$$\text{kadar air sampel} = \frac{\text{volume akhir}}{\text{volume awal}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air sampel 1} = \frac{2}{20} \times 100\% = 10 \%$$

$$\text{kadar air sampel 2} = \frac{1,8}{20} \times 100\% = 9\%$$

$$\text{kadar air sampel 3} = \frac{1,4}{20} \times 100\% = 7\%$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk daun ketapang} = \frac{10\%+9\%+7\%}{3} = 8,67\%$$

**Lampiran 19. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak**

1. Ekstrak ketapang 30% (gr/vol)

$$30\% = \frac{30 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{3 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

2. Ekstrak ketapang 50% (gr/vol)

$$50\% = \frac{50 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

3. Ekstrak ketapang 70% (gr/vol)

$$70\% = \frac{70 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{7 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

4. Ekstrak umbi bawang putih 30% (gr/vol)

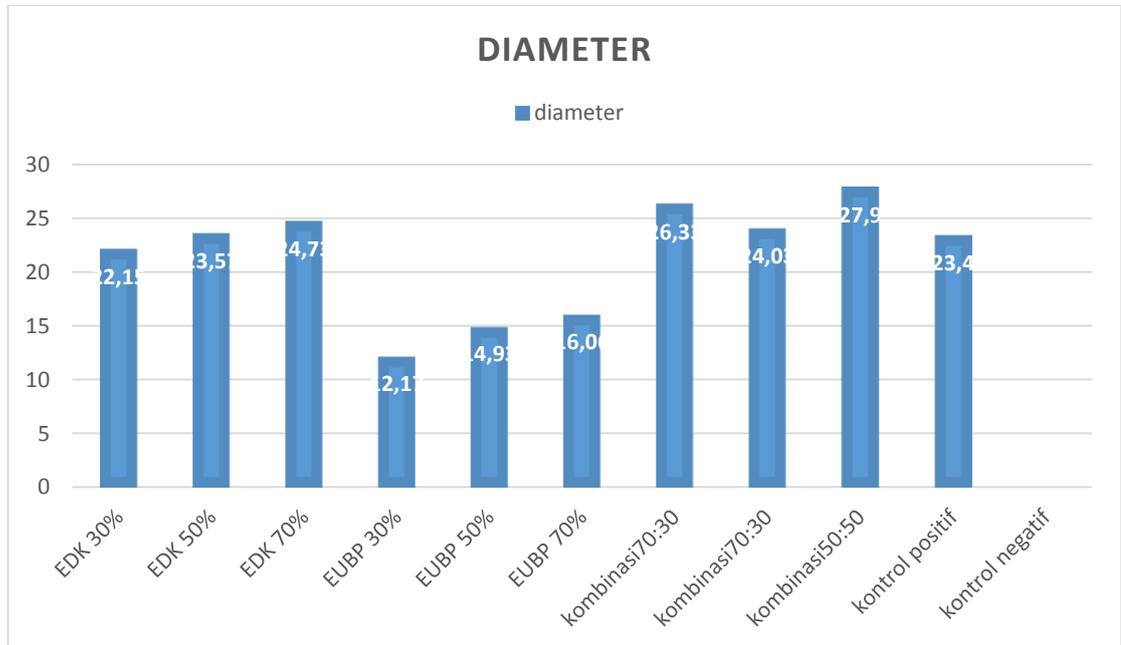
$$30\% = \frac{30 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{3 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

5. Ekstrak umbi bawang putih 50% (gr/vol)

$$50\% = \frac{50 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{5 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

6. Ekstrak umbi bawang putih 70% (gr/vol)

$$70\% = \frac{70 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{7 \text{ gr}}{10 \text{ ml}}$$

**Lampiran 20. Grafik hasil difusi**

## Lampiran 21. Hasil dari SPSS

### Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.145	10	22	.012

### ANOVA

diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1985.394	10	198.539	34.276	.000
Within Groups	127.433	22	5.792		
Total	2112.827	32			

### 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	ciprofloxacin	DMSO 5%	23.40000*	1.96510	.000	16.3751	30.4249
		Ekstrak Daun ketapang 30%	1.13333	1.96510	1.000	-5.8915	8.1582
		Ekstrak Daun Ketapang 50%	-.16667	1.96510	1.000	-7.1915	6.8582

	Ekstrak Daun ketapang 70%	- .33333	1.96510	1.000	-7.3582	6.6915
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	11.23333*	1.96510	.000	4.2085	18.2582
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	8.46667*	1.96510	.010	1.4418	15.4915
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	7.33333*	1.96510	.036	.3085	14.3582
	Kombinasi 70% : 30%	-2.93333	1.96510	.907	-9.9582	4.0915
	Kombinasi 30% : 70%	-.63333	1.96510	1.000	-7.6582	6.3915
	Kombinasi 50% :50%	-4.50000	1.96510	.473	-11.5249	2.5249
DMSO 5%	ciprofloksasin	- 23.40000*	1.96510	.000	-30.4249	-16.3751
	Ekstrak Daun ketapang 30%	- 22.26667*	1.96510	.000	-29.2915	-15.2418
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	- 23.56667*	1.96510	.000	-30.5915	-16.5418
	Ekstrak Daun ketapang 70%	- 23.73333*	1.96510	.000	-30.7582	-16.7085
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	- 12.16667*	1.96510	.000	-19.1915	-5.1418
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	- 14.93333*	1.96510	.000	-21.9582	-7.9085
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	- 16.06667*	1.96510	.000	-23.0915	-9.0418

	Kombinasi 70% : 30%	- 26.33333*	1.96510	.000	-33.3582	-19.3085
	Kombinasi 30% : 70%	- 24.03333*	1.96510	.000	-31.0582	-17.0085
	Kombinasi 50% :50%	- 27.90000*	1.96510	.000	-34.9249	-20.8751
Ekstrak Daun ketapang 30%	ciprofloksasin	-1.13333	1.96510	1.000	-8.1582	5.8915
	DMSO 5%	22.26667*	1.96510	.000	15.2418	29.2915
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	-1.30000	1.96510	1.000	-8.3249	5.7249
	Ekstrak Daun ketapang 70%	-1.46667	1.96510	.999	-8.4915	5.5582
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	10.10000*	1.96510	.001	3.0751	17.1249
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	7.33333*	1.96510	.036	.3085	14.3582
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	6.20000	1.96510	.116	-.8249	13.2249
	Kombinasi 70% : 30%	-4.06667	1.96510	.608	-11.0915	2.9582
	Kombinasi 30% : 70%	-1.76667	1.96510	.997	-8.7915	5.2582
	Kombinasi 50% :50%	-5.63333	1.96510	.197	-12.6582	1.3915
Ekstrak Daun Ketapang 50%	ciprofloksasin	.16667	1.96510	1.000	-6.8582	7.1915
	DMSO 5%	23.56667*	1.96510	.000	16.5418	30.5915
	Ekstrak Daun ketapang 30%	1.30000	1.96510	1.000	-5.7249	8.3249

	Ekstrak Daun ketapang 70%	-1.16667	1.96510	1.000	-7.1915	6.8582
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	11.40000*	1.96510	.000	4.3751	18.4249
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	8.63333*	1.96510	.008	1.6085	15.6582
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	7.50000*	1.96510	.030	.4751	14.5249
	Kombinasi 70% : 30%	-2.76667	1.96510	.934	-9.7915	4.2582
	Kombinasi 30% : 70%	-.46667	1.96510	1.000	-7.4915	6.5582
	Kombinasi 50% :50%	-4.33333	1.96510	.524	-11.3582	2.6915
Ekstrak Daun ketapang 70%	ciprofloksasin	.33333	1.96510	1.000	-6.6915	7.3582
	DMSO 5%	23.73333*	1.96510	.000	16.7085	30.7582
	Ekstrak Daun ketapang 30%	1.46667	1.96510	.999	-5.5582	8.4915
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	.16667	1.96510	1.000	-6.8582	7.1915
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	11.56667*	1.96510	.000	4.5418	18.5915
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	8.80000*	1.96510	.007	1.7751	15.8249
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	7.66667*	1.96510	.025	.6418	14.6915
	Kombinasi 70% : 30%	-2.60000	1.96510	.954	-9.6249	4.4249

	Kombinasi 30% : 70%	-3.0000	1.96510	1.000	-7.3249	6.7249
	Kombinasi 50% :50%	-4.16667	1.96510	.576	-11.1915	2.8582
Ekstrak umbi bawang putih 30%	ciprofloksasin	- 11.23333*	1.96510	.000	-18.2582	-4.2085
	DMSO 5%	12.16667*	1.96510	.000	5.1418	19.1915
	Ekstrak Daun ketapang 30%	- 10.10000*	1.96510	.001	-17.1249	-3.0751
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	- 11.40000*	1.96510	.000	-18.4249	-4.3751
	Ekstrak Daun ketapang 70%	- 11.56667*	1.96510	.000	-18.5915	-4.5418
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	-2.76667	1.96510	.934	-9.7915	4.2582
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	-3.90000	1.96510	.660	-10.9249	3.1249
	Kombinasi 70% : 30%	- 14.16667*	1.96510	.000	-21.1915	-7.1418
	Kombinasi 30% : 70%	- 11.86667*	1.96510	.000	-18.8915	-4.8418
	Kombinasi 50% :50%	- 15.73333*	1.96510	.000	-22.7582	-8.7085
Ekstrak umbi bawang putih 50%	ciprofloksasin	-8.46667*	1.96510	.010	-15.4915	-1.4418
	DMSO 5%	14.93333*	1.96510	.000	7.9085	21.9582
	Ekstrak Daun ketapang 30%	-7.33333*	1.96510	.036	-14.3582	-3.085
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	-8.63333*	1.96510	.008	-15.6582	-1.6085

	Ekstrak Daun ketapang 70%	-8.80000*	1.96510	.007	-15.8249	-1.7751
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	2.76667	1.96510	.934	-4.2582	9.7915
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	-1.13333	1.96510	1.000	-8.1582	5.8915
	Kombinasi 70% : 30%	- 11.40000*	1.96510	.000	-18.4249	-4.3751
	Kombinasi 30% : 70%	-9.10000*	1.96510	.005	-16.1249	-2.0751
	Kombinasi 50% :50%	- 12.96667*	1.96510	.000	-19.9915	-5.9418
Ekstrak umbi bawang putih 70%	ciprofloksasin	-7.33333*	1.96510	.036	-14.3582	-.3085
	DMSO 5%	16.06667*	1.96510	.000	9.0418	23.0915
	Ekstrak Daun ketapang 30%	-6.20000	1.96510	.116	-13.2249	.8249
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	-7.50000*	1.96510	.030	-14.5249	-.4751
	Ekstrak Daun ketapang 70%	-7.66667*	1.96510	.025	-14.6915	-.6418
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	3.90000	1.96510	.660	-3.1249	10.9249
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	1.13333	1.96510	1.000	-5.8915	8.1582
	Kombinasi 70% : 30%	- 10.26667*	1.96510	.001	-17.2915	-3.2418
	Kombinasi 30% : 70%	-7.96667*	1.96510	.018	-14.9915	-.9418

	Kombinasi 50% :50%	- 11.83333*	1.96510	.000	-18.8582	-4.8085
Kombinasi 70% : 30%	ciprofloksasin	2.93333	1.96510	.907	-4.0915	9.9582
	DMSO 5%	26.33333*	1.96510	.000	19.3085	33.3582
	Ekstrak Daun ketapang 30%	4.06667	1.96510	.608	-2.9582	11.0915
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	2.76667	1.96510	.934	-4.2582	9.7915
	Ekstrak Daun ketapang 70%	2.60000	1.96510	.954	-4.4249	9.6249
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	14.16667*	1.96510	.000	7.1418	21.1915
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	11.40000*	1.96510	.000	4.3751	18.4249
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	10.26667*	1.96510	.001	3.2418	17.2915
	Kombinasi 30% : 70%	2.30000	1.96510	.980	-4.7249	9.3249
	Kombinasi 50% :50%	-1.56667	1.96510	.999	-8.5915	5.4582
Kombinasi 30% : 70%	ciprofloksasin	.63333	1.96510	1.000	-6.3915	7.6582
	DMSO 5%	24.03333*	1.96510	.000	17.0085	31.0582
	Ekstrak Daun ketapang 30%	1.76667	1.96510	.997	-5.2582	8.7915
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	.46667	1.96510	1.000	-6.5582	7.4915
	Ekstrak Daun ketapang 70%	.30000	1.96510	1.000	-6.7249	7.3249

	Ekstrak umbi bawang putih 30%	11.86667*	1.96510	.000	4.8418	18.8915
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	9.10000*	1.96510	.005	2.0751	16.1249
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	7.96667*	1.96510	.018	.9418	14.9915
	Kombinasi 70% : 30%	-2.30000	1.96510	.980	-9.3249	4.7249
	Kombinasi 50% :50%	-3.86667	1.96510	.671	-10.8915	3.1582
Kombinasi 50% :50%	ciprofloksasin	4.50000	1.96510	.473	-2.5249	11.5249
	DMSO 5%	27.90000*	1.96510	.000	20.8751	34.9249
	Ekstrak Daun ketapang 30%	5.63333	1.96510	.197	-1.3915	12.6582
	Ekstrak Daun Ketapang 50%	4.33333	1.96510	.524	-2.6915	11.3582
	Ekstrak Daun ketapang 70%	4.16667	1.96510	.576	-2.8582	11.1915
	Ekstrak umbi bawang putih 30%	15.73333*	1.96510	.000	8.7085	22.7582
	Ekstrak umbi bawang putih 50%	12.96667*	1.96510	.000	5.9418	19.9915
	Ekstrak umbi bawang putih 70%	11.83333*	1.96510	.000	4.8085	18.8582
	Kombinasi 70% : 30%	1.56667	1.96510	.999	-5.4582	8.5915
	Kombinasi 30% : 70%	3.86667	1.96510	.671	-3.1582	10.8915

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

diameter

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Tukey HSD <sup>a</sup> DMSO 5%	3	.0000			
Ekstrak umbi bawang putih 30%	3		12.1667		
Ekstrak umbi bawang putih 50%	3		14.9333		
Ekstrak umbi bawang putih 70%	3		16.0667	16.0667	
Ekstrak Daun ketapang 30%	3			22.2667	22.2667
ciprofloksasin	3				23.4000
Ekstrak Daun Ketapang 50%	3				23.5667
Ekstrak Daun ketapang 70%	3				23.7333
Kombinasi 30% : 70%	3				24.0333
Kombinasi 70% : 30%	3				26.3333
Kombinasi 50% :50%	3				27.9000
Sig.		1.000	.660	.116	.197

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

