

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) dan UMBI BAWANG PUTIH  
(*Allium sativum* L.) TERHADAP *Shigella dysenteriae***



Oleh:

**Mariyo Jane Sanggel  
20144058A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) dan UMBI BAWANG PUTIH  
(*Allium sativum* L.) TERHADAP *Shigella dysenteriae***

**SKRIPSI**



*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**Mariyo Jane Sanggel  
20144058A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) dan UMBI BAWANG PUTIH  
(*Allium sativum* L.) TERHADAP *Shigella dysenteriae***

Oleh :

**Mariyo Jane Sanggel  
20144058A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 04 Juli 2018

Mengetahui  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt

Pembimbing Utama

Drs. Mardiyono, M.Si.

Pembimbing Pendamping

Destik Wulandari, S. Pd., M.Si

Penguji :

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

1.		
2.		
3.		
4.		

## PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 4 Juli 2018



Maryo Jane Sanggel

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

**“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apa pun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur.”**

**Filipi 4:6**

**“Sebab bagi Allah tidak ada yang mustahil.”**

**Lukas 1:37**

**”Tetaplah berdoa.”**

**1 Tesalonika 5::17**

**Skripsi ini kupersembahkan kepada:**

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

Keluarga PMK Khataros, Angkatan Muda 2014, Anak-anak wakanda forever, yang selalu memberikan dukungan dan motivasi.

Teman – teman seperjuangan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Almamater, Bangsa dan Negara.

## KATA PENGANTAR

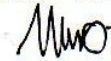
Puji Tuhan, segala puji dan syukur kepada Tuhan yang telah memberi berkat dan kebijaksanaan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L) dan UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L) TERHADAP *Shigella dysenteriae*”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

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

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Drs. Mardiyono, M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Destik Wulandari, S.pd., M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Bapak, Mama, Adik Okrady, Adik Sandi, serta seluruh keluarga yang telah memberikan semangat, doa, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat dan teman-teman dan keluarga besar PMK KHATAROS yang telah memberikan dukungan doa dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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

Surakarta, 4 Juli 2018



Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. <i>Shigella dysenteriae</i> .....	4
1. Sistematika bakteri .....	4
2. Morfologi dan identifikasi.....	4
3. Patogenesis dan patologi .....	5
4. Gambaran klinik.....	5
5. Pengobatan disentri .....	6
B. Antibakteri.....	6
1. Definisi .....	6
2. Mekanisme kerja antibakteri .....	7
2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri.....	7
2.2 Menghambat fungsi membran sel bakteri.....	7
2.3 Menghambat sintesis protein sel bakteri.....	7
2.4 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri .....	8
2.5 Menghambat metabolisme sel bakteri .....	8



C.	Uji Aktivitas Antibakteri .....	8
1.	Metode difusi.....	8
2.	Metode dilusi.....	9
3.	Cairan .....	9
4.	Konsentrasi Hambat Minimum .....	10
D.	Media.....	10
E.	Sterilisasi .....	10
F.	Ciprofloxacin.....	11
G.	Tanaman Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> L.) .....	12
1.	Klasifikasi Tanaman Ketapang .....	12
2.	Nama Daerah.....	12
3.	Morfologi Tanaman Ketapang .....	12
4.	Habitat Tanaman Ketapang .....	13
5.	Manfaat Daun Ketapang.....	13
6.	Kandungan Daun Ketapang.....	14
H.	Umbi Bawang Putih ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	14
1.	Taksonomi Bawang Putih ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	14
2.	Kandungan kimia Umbi Bawang Putih ( <i>Allium sativum</i> L.)...14	14
3.	Senyawa Antibakteri Bawang Putih.....	14
4.	Aktivitas Antibakteri ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	16
5.	Khasiat Umbi bawang putih .....	16
I.	Simplisia .....	17
J.	Pengertian Ekstrak.....	17
1.	Metode ekstraksi.....	17
1.1	Maserasi.....	17
1.2	Perkolasi.....	18
1.3	Infundasi.....	18
1.4	Sokletasi.....	18
1.5	Refluks.....	18
K.	Landasan Teori .....	18
L.	Hipotesis .....	20
BAB III METODE PENELITIAN.....		21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
B.	Variabel Penelitian .....	21
1.	Identifikasi variabel utama .....	21
2.	Klasifikasi variabel utama .....	21
3.	Definisi operasional variabel utama .....	22
C.	Alat dan Bahan .....	23
1.	Alat .....	23
1.1.	Alat.....	23
1.2.	Alat uji aktivitas antibakteri.....	23
2.	Bahan.....	23
2.1	Bahan utama.....	23
2.2	Bahan kimia .....	23
3.	Bakteri di uji.....	24

D. Jalannya Penelitian .....	24
1. Determinasi dan identifikasi tanaman .....	24
Determinasi tanaman .....	24
2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	24
3. Pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih secara maserasi .....	24
4. Uji bebas etanol .....	25
5. Pembuatan Kombinasi bahan uji .....	26
6. Sterilisasi alat .....	26
7. Identifikasi bakteri uji .....	26
7.1. Identifikasi bakteri secara goresan. ....	26
7.2. Identifikasi bakteri uji secara biokimia. ....	26
8. Pembuatan suspensi bakteri uji. ....	28
9. Pengujian aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih .....	28
9.1. Pengujian antibakteri secara difusi. ....	28
9.2. Pengujian antibakteri secara dilusi. ....	28
10. Analisis hasil .....	29

#### BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....

1. Hasil determinasi tanaman daun ketapang ( <i>Terminalia catappa L</i> ) dan umbi bawang putih ( <i>Allium sativum L</i> ) .....	33
1.1 Determinasi tanaman. ....	33
1.2 Deskripsi tanaman ketapang. ....	33
1.3 Deskripsi tanaman bawang putih. ....	34
2. Hasil Pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	34
3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	35
Berdasarkan tabel 2, .....	35
4. Hasil pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	36
5. Hasil uji bebas etanol daun ketapang dan umbi bawang putih .....	37
6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih meliputi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. ....	37
7. Hasil identifikasi bakteri uji .....	38
7.1 Identifikasi bakteri secara goresan. ....	38
7.2 Hasil pewarnaan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> . ....	38
7.3 Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia. ....	39
8. Hasil identifikasi suspensi bakteri uji .....	41
9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri tunggal dan kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	41
9.1 Hasil pengujian antibakteri secara difusi. ....	41

10. Hasil Analisis Data.....	43
11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi. ....	44
BAB V PENUTUP.....	46
A. Kesimpulan.....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN.....	51

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema prosedur ekstrak etanol Daun Ketapang Dan Umbi Bawang Putih.....	25
Gambar 2. Skema pembuatan suspensi bakteri .....	30
Gambar 3.. Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Difusi.....	31
Gambar 4. Skema kerja aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Ketapang dan Umbi Bawang Putih terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> dengan metode Dilusi.....	32
Gambar 5. Hasil identifikasi bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> dengan di gores pada media SSA.....	38
Gambar 6. Hasil pewarnaan gram bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> menggunakan mikroskop bakteri berbentuk batang ramping dan berwarna merah.....	39
Gambar 7. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Shiegella dysenteriae</i> dengan uji biokimia .....	40

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun ketapang dan umbi bawang putih .....	35
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang menggunakan alat <i>sterling bidwell</i> .....	35
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk umbi bawang putih menggunakan alat <i>sterling bidwell</i> . .....	36
Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun ketapang dan umbi bawang putih.....	36
Tabel 5. Hasil uji bebas etanol daun ketapang dan umbi bawang putih.....	37
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel . .....	37
Tabel 7. Identifikasi uji biokimia <i>Shigella dysenteriae</i> .....	39
Tabel 8. Hasil perhitungan diameter hambat pada uji antibakteri ekstrak daun ketapang dan bawang putih tunggal dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> secara difusi .....	42
Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi daun ketapang.....	52
Lampiran 2. Hasil determinasi umbi bawang putih .....	53
Lampiran 3. Foto daun ketapang dan umbi bawang putih .....	54
Lampiran 4. Foto serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih .....	55
Lampiran 5. Foto evaporator, vakum, Erlenmeyer dan corong .....	56
Lampiran 6. Foto alat timbangan, vortex, autoklaf, dan inkas.....	57
Lampiran 7. Foto <i>sterling bidwell</i> , oven, dan inkubator.....	58
Lampiran 8. Foto ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih .....	59
Lampiran 9. Foto identifikasi senyawa kimia daun ketapang.....	60
Lampiran 10. Foto identifikasi senyawa kimia umbi bawang putih.....	61
Lampiran 11. Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> secara difusi.....	62
Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> secara dilusi.....	63
Lampiran 13. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.....	65
Lampiran 14. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ketapang ( <i>Terminalia catappa L</i> ) dan umbi bawang putih ( <i>Allium sativum L</i> ) .....	66
Lampiran 15. Perhitungan kadar air daun ketapang ( <i>Terminalia catappa L</i> ) dan umbi bawang putih ( <i>Allium sativum L</i> ) .....	67
Lampiran 16. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak .....	69
Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media.....	70
Lampiran 18. Hasil Uji Statistik .....	74

## INTISARI

**MARIYO JANE S., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa L*) dan UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Tanaman ketapang dan umbi bawang putih merupakan salah satu tanaman yang dapat mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Daun ketapang mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin, sedangkan umbi bawang putih mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa L*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan metode difusi untuk mengetahui ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih tunggal dan kombinasi teraktif kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih tunggal dan kombinasi teraktif. Konsentrasi yang digunakan pada metode difusi adalah 30%, 50%, 70%, (30% : 70%), (70%:30%) dan (50%:50%) dan pada metode dilusi digunakan konsentrasi 100 %, 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun ketapang dan umbi bawang putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap daun ketapang dan umbi bawang putih pada konsentrasi 70%:30%. Rata-rata diameter hambat ekstrak daun ketapang dan bawang putih tunggal dan kombinasi adalah tunggal bawang putih konsentrasi (30%) 10,3 mm, konsentrasi (50%) 13,3 mm, konsentrasi (70%) 14,3 dan daun ketapang konsentrasi (30%) 18, 3mm, konsentrasi (50%) 26,3 mm, konsentrasi (70%) 27,3 mm dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih (30%:70%) 24mm, konsentrasi (70%:30%) 28,6 mm dan konsentrasi (50%:50%) 26 mm. Ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih yang paling aktif terhadap *Shigella dysenteriae* adalah ekstrak kombinasi daun ketapang dan bawang putih (70% : 30%) dengan Konsentrasi Bunuh Minimum adalah 12,5%.

Kata kunci : Daun ketapang, umbi bawang putih, antibakteri, *Shigella dysenteriae*

## ABSTRACT

**MARIYO JANE S., 2018, TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACT LEAVES OF KETAPANG LEAVES (*Terminalia catappa* L) and BAWANG PITHI (*Allium sativum* L.) ON BACTERIA *Shigella dysenteriae*, SKRIPSI, PHARMACEUTICAL FACULTY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Ketapang and garlic bulb plants are one of the plants that can overcome infectious diseases caused by bacteria. Ketapang leaves contain flavonoid compounds, tannins and saponins, while garlic contains essential oils, flavonoids, saponins and tannins. This study aims to examine the antibacterial activity of ketapang leaf extract combination (*Terminalia catappa* L) and garlic (*Allium sativum* L.) against *Shigella dysenteriae* bacteria.

Ketapang and garlic leaf powder was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent. Testing of *Shigella dysenteriae* bacteria using diffusion method to know the extract of ketapang leaves and garlic singles and the most active combination then continued with dilution method to know Minimum Kill Ketensi concentration of ketapang and garlic leaf sole and the most active combination. The concentrations used in the diffusion method were 30%, 50%, 70%, (30%: 70%), (70%: 30%) and (50%: 50%) and the dilution method used 100% concentration, 50% ; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.12%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%.

The results showed that ketanite and garlic ethanol extract had antibacterial activity against ketapang and garlic leaves at concentration 70%: 30%. The mean inhibitory diameter of single and combination of garlic leaves and garlic extract was single garlic concentration (30%) 10.3 mm, concentration (50%) 13.3 mm, concentration (70%) 14,3 and ketapang concentration (30%) 18,3mm, concentration (50%) 26,3 mm, concentration (70%) 27,3 mm and combination of ketapanang and garlic leaves (30%: 70%) 24mm, concentration (70%: 30% ) 28.6 mm and concentration (50%: 50%) 26 mm. The most active combination of ketapang and garlic leaf extracts against *Shigella dysenteriae* is a combination of ketapang and garlic leaves (70%: 30%) with Minimum Kill Concentration of 12.5%.

Keywords: extract of ketapang and garlic, antibacterial, *Shigella dysenteriae* combination



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Disentri merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur, dan protozoa. Organisme tersebut dapat menyerang seluruh tubuh atau hanya sebagian. Penyakit infeksi adalah penyakit utama dan penyebab kematian nomor satu, salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang, penyakit ini dapat disebabkan oleh bakteri disentri basiler dan amoeba yaitu suatu infeksi yang menimbulkan luka dan menyebabkan tukak terbatas dikolon, ditandai dengan gejala khas disebut sebagai sindroma disentri, yakni: sakit di perut yang sering disertai dengan berak-berak, tinja mengandung darah dan lendir. Penyebab disentri adalah bakteri *Shigella dysenteriae*.

*Shigella dysenteriae* adalah jenis bakteri gram negatif yang berbentuk basil dan lurus, non motile, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, susunannya tidak teratur, dari berbagai manifestasi *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan infeksi peradangan akut saluran pencernaan, dengan kondisi kronis meliputi diare, buang air besar berair yang disertai darah, lendir, dan nanah (Pelezar dan Chan, 2010). Penggunaan *Shigella dysenteriae* selama ini menggunakan antibiotik yakni ciprofloxacin.

Antibiotik terpilih untuk infeksi *Shigella dysenteriae* merupakan Ciprofloxacin adalah antibiotik yang digunakan untuk menangani berbagai jenis infeksi akibat bakteri, misalnya infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran pencernaan, infeksi pada mata, dan infeksi menular seksual. jenis obat ini bekerja dengan cara membunuh atau mencegah perkembangan bakteri yang penyebabnya adalah infeksi. Infeksi ini ditujukan untuk bakteri, maka ciprofloxacin tidak akan efektif untuk mengobati infeksi virus, seperti flu dan pilek. Maka diperlukan alternatif obat baru sebagai pengganti antibiotik alternatif tersebut, salah satunya adalah menggunakan bahan dari alam. Bahan alam yang dapat digunakan sebagai antibiotik baru adalah daun ketapang dan umbi bawang putih.

Tanaman daun ketapang (*Terminalia catappa* L) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L), Ekstrak etanol daun ketapang diketahui mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, kuinolon dan fenolik serta minyak atsiri yang berpotensi sebagai antibakteri. sedangkan ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L) mengandung minyak atsiri dan telah dikenal memiliki aktivitas menghambat berbagai bakteri patogen, virus, jamur, dan umbi bawang putih dapat mengatasi influenza, letih, lelah, dan sulit tidur, karena umbi bawang putih efektif dalam mengganti kekurangan vitamin C (Haryanto, 2009).

### **B. Perumusan Masalah**

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

1. Apakah ekstrak etanol dari kombinasi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ?
2. Berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) kombinasi ekstrak etanol daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L) pada perbandingan konsentrasi (30%:70%):(70%:30%):(50%:50%) sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae* ?
3. Manakah dari perbandingan konsentrasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *Shigella dysenteriae* ?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui kemampuan kombinasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae* .
2. Menentukan (KHM) dan (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) pada

perbandingan konsentrasi (30%:70%):(70%:30%):(50%:50%) terhadap *Shigella dysenteriae*.

3. Mengetahui perbandingan konsentrasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap *Shigella dysenteriae*.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Dari penelitian ini diharapkan menambah data klinis mengenai khasiat daun ketapang dan umbi bawang putih sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae*, dan sekaligus memberikan informasi kepada masyarakat serta menunjang pengetahuan khususnya di bidang obat tradisional, sekaligus menjadi dasar penelitian berikutnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. *Shigella dysenteriae***

##### **1. Sistematika bakteri**

Menurut Leboffe & pierce (2011), bakteri *Shigella dysenteriae* memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kerajaan : Bacteria  
Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Bangsa : Enterobacteriales  
Suku : Enterobacteriaceae  
Marga : Shigella  
Spesies : *Shigella dysenteriae*

##### **2. Morfologi dan identifikasi**

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang ramping, tidak bermotil, tidak berflagel, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, bersifat fakultatif anaerobik, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Bentuk kokobasil dapat terjadi pada biakan muda (Jawetz *et al.*2010).

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri fakultatif anaerobik tetapi paling baik tumbuh secara aerobik. Biakan bakteri memiliki koloni berbentuk cembung, bulat, dan transparan dengan pinggir-pinggir utuh, dengan diameter kira-kira 2 mm dalam 24 jam. Bakteri ini meragikan glukosa tapi tidak meragikan mannitol dan ornitin dekarboksilase. mempunyai susunan antigen yang kompleks. Terdapat banyak tumpang tindih dalam sifat serologik berbagai spesies, dan sebagian besar memiliki antigen o yang juga dimiliki oleh bakteri enterik lainnya. Antigen somatik o dari bakteri ini adalah lipopolisakarida. didasarkan pada sifat-sifat biokimia dan karakteristik antigen (Jawetz *et al.* 2010).

### 3. Patogenesis dan patologi

Habitat alami bakteri *Shigella dysenteriae* adalah di usus besar manusia, sehingga infeksi shigella praktis terbatas pada saluran cerna, invasi dalam darah sangat jarang terjadi. *Shigella dysenteriae* menimbulkan penyakit yang menular yaitu disentri. Penyakit disentri adalah salah satu jenis diare akut atau timbul mendadak, tinja pada penderita penyakit disentri diketahui mengandung darah dengan atau tanpa lendir.

Semua bakteri *Shigella dysenteriae* melepaskan lipopolisakarida waktu sel lisis dan berperan sebagai endotoksin. Endotoksin ini salah satu penyebab iritasi dinding usus. Selain itu, *Shigella dysenteriae* menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan panas. Eksotoksin merupakan protein yang antigenik yang menyebabkan diare.

Bakteri *Shigella dysenteriae* menyebabkan kerusakan pada epitel usus besar, mengarah pada pembentukan micro-ulcer, inflamasi eksudat, menyebabkan inflamasi sel dan darah muncul dalam tinja. Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui air dan makanan yang telah tercemar bakteri disentri yang dikonsumsi. Bakteri ini sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan dan akan mati dengan cepat, terutama ketika kondisi kering atau terkena sinar matahari (Jawetz *et al.* 2010).

### 4. Gambaran klinik

Setelah masa inkubasi yang pendek 9-14 hari, gejala umum infeksi *Shigella dysenteriae* yang timbul diantaranya adalah diare cair akut, tinja pada penderita penyakit diketahui mengandung darah tanpa lendir, pada umumnya disertai demam, nyeri perut, anoreksia, dan tenesmus. Darah biasanya berasal dari dinding saluran cerna yang terluka dan sering dari dinding saluran cerna yang terluka dan sering dari dinding usus besar.

Penyembuhan spontan biasanya terjadi dalam beberapa hari, tetapi anak-anak kebanyakan meninggal karena dehidrasi dan asidosis. Komplikasi yang dapat terjadi diantaranya adalah perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti, kejang, anemia septik, sindrom hemolitik uremia hingga menyebabkan kematian.

Kebanyakan orang pada fase penyembuhan mengeluarkan bakteri disentri dalam waktu yang singkat, tetapi beberapa diantaranya tetap menjadi pembawa

bakteri disentri dan dapat mengalami serangan penyakit berulang. Penyembuhan infeksi pada kebanyakan orang membentuk antibodi terhadap *Shigella dysenteriae* dalam darahnya, tetapi antibodi ini tidak melindungi terhadap reinfeksi (Jawetz *et al* 1982).

## **5. Pengobatan disentri**

Antibiotik terpilih untuk infeksi shigella adalah ciprofloksasin, ampisilin, tetrasiklin, dan kotrimoksazol (Jawet *et al.* 2010). Menurut pedoman WHO lini pertama untuk mengatasi infeksi *shigella dysenteriae* adalah dengan pemberian antibiotik ciprofloksasin. Ciprofloksasin merupakan antibiotik berspektrum luas sehingga efektif untuk melawan bakteri gram positif maupun negatif. Ciprofloxcin bekerja dengan menghambat aktivitas enzim DNA girase (topoisomerase II) sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Oliphant dan Green 2002).

Pengobatan lini kedua yang dapat digunakan adalah seftriakson yang saat ini merupakan antibiotik yang efektif untuk mengobati multi-resisten Dari *Shigella sp.* pada semua usia. Azitromisin juga dipertimbangkan untuk pilihan alternatif pasien dewasa. Penggunaan obat-obat alternatif ini memiliki beberapa kekurangan yaitu harganya mahal (azitromisin), mudah menyebabkan resistensi (azitromisin), formulasinya (seftriakson harus di injeksikan), dan data efikasinya masih terbatas (Seftriakson, Azitromisin) (WHO 2005).

## **B. Antibakteri**

### **1. Definisi**

Antibakteri merupakan zat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri zat-zat ini dapat diperoleh secara alami, melalui semisintesis, dan melalui modifikasi molekul biosintetik yang bekerja menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh bakteri. Senyawa atau zat digunakan sebagai antibakteri, harus memiliki sifat toksisitas selektif, maksudnya adalah senyawa tersebut berbahaya bagi bakteri patogen tetapi tidak menimbulkan bahaya bagi hospes (CVMP 1999; Jawetz *et al* 2010)

## 2. Mekanisme kerja antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu: menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat fungsi membran sel, menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri, dan menghambat metabolisme sel bakteri (Permatawati 2015).

**2.1 Menghambat sintesis dinding sel bakteri**, dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau merusaknya setelah selesai terbentuknya. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisi. Contoh antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin dan sikloserin. Beberapa obat lain seperti basitrasin, teicoplanin, ristocetin dan novobiocin menghambat pada biosintesis peptidoglikan (Jawetz *et al* 2010).

**2.2 Menghambat fungsi membran sel bakteri**. Membran sel berguna sebagai penghalang yang selektif dan menjalankan fungsi transport aktif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu makromolekul dan ion dan terjadilah kematian bakteri. Antibiotik polimiksin bekerja dengan merusak membran sel yang berisi fosfatidiletanolamina, yang merupakan komponen utama penyusun membran sel bakteri. Antibakteri lain yang bekerja menghambat fungsi membran sel adalah valinomisin, amfoterisin B, kolistin, imidazol dan triazol (Jawetz *et al* 2010).

**2.3 Menghambat sintesis protein sel bakteri**. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA. Salah satu mekanisme kerja antibakteri yaitu menyebabkan kode pada mRNA dan salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein dan mengakibatkan terbentuknya protein abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan menghambat sintesis protein sel bakteri adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, glisisiklin, aminoglikosida dan kloramfenikol (Jawetz *et al* 2010).

**2.4 Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.** Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh antibakteri ini adalah menghalangi sintesis DNA dengan cara memblokir DNA girase, contohnya adalah antibiotik kuinolon dan fluorokuinolon. Contoh antibiotik lain yang bekerja menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri adalah nitromidazol, nitrofurantoin, kuinolon, rifampisin (CVMP 1999).

**2.5 Menghambat metabolisme sel bakteri.** Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis asam folat untuk kebutuhan hidupnya. Contoh antibiotik yang bekerja menghambat metabolisme sel adalah sulfonamida dan trimetoprim (Permatawati 2015).

### C. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz. *et al* 2010).

#### 1. Metode difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram (disk) yang berlingkang atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada permukaan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Pada metode ini, zat yang akan diteliti aktivitas antibakterinya berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami biakan bakteri uji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri.

Kerugian dari metode difusi adalah tidak dapat mengukur secara kuantitatif konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), sedangkan keuntungannya adalah praktis, cepat, dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba (Setianingrum 2010).



## 2. Metode dilusi

Metode dilusi ada 2 macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat, pada prinsipnya metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Dilusi cair masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri dalam media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat campur media agar, kemudian ditanami bakteri, diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan (KHM) atau membunuh (KBM) bakteri uji. Metode dilusi cair (pengenceran tabung) dilakukan dengan cara membuat suatu seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali tabung untuk kontrol positif.

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat atau mematikan bakteri. Kekurangan metode dilusi adalah dapat mempersulit pengamatan, membutuhkan alat yang banyak dan tidak praktis (Jawetz *et al.* 2010).

## 3. Cairan

Pemilihan cairan atau cairan penyari harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil baik secara fisika maupun kimia dan bereaksi netral, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat dan tidak memperngaruhi zat yang berkhasiat. Pelarut yang dipakai dalam penelitian ini adalah etanol, air dan DMSO.

Etanol merupakan pelarut yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin dan flavonoid (Arifianti *et al* 2014). Pelarut etanol lebih mudah menembus membran sel serta untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Karena hampir semua komponen diidentifikasi dari tanaman yang aktif terhadap mikroorganisme adalah senyawa organik aromatik atau jenuh, (Tiwari *et al.* 2011). Air digunakan sebagai cairan pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, alamiah. DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan

hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu Dimethyl sulfoxida (DMSO) merupakan cairan kental, jernih, tidak berwarna, higroskopik, larut dalam air, dalam etanol 96% dan dalam eter (Farmakope Indonesia 1979). DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri.

#### **4. Konsentrasi Hambat Minimum**

Konsentrasi hambat minimum (KHM) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah obat yang akan menghambat pertumbuhan dari organisme setelah inkubasi semalam (periode ini diperpanjang untuk organisme seperti bakteri anaerob, yang membutuhkan inkubasi lama untuk pertumbuhan). KHM dianggap sebagai “*gold standard*” untuk menentukan kerentanan organisme terhadap antibakteri dan digunakan untuk menilai kinerja dari semua metode pengujian kerentanan. Kisaran konsentrasi antibiotik yang digunakan untuk menentukan KHM diterima secara universal menggandakan dilusi diatas dan dibawah konsentrasi 1 mg/L sesuai yang diperlukan.

#### **D. Media**

Media merupakan suatu bahan yang berisi sumber nutrisi penting untuk mikroba seperti karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, vitamin, dan bahan-bahan lain yang mendorong pertumbuhan bakteri seperti ekstrak daging atau ragi. Bakteri juga ada yang membutuhkan penyubur seperti darah, serum serta logam dari garam-garam anorganik sebagai elemen mikro seperti kalsium, mangan, natrium, magnesium, seng, kobalt, besi dan tembaga. Media tidak memberikan sumber udara, seperti oksigen dan karbon dioksida (Sutarma 2000; Leboffe dan Pierce 2011).

#### **E. Sterilisasi**

Bahan atau peralatan yang di pergunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril sehingga dilakukannya proses sterilisasi. Sterilisasi adalah proses dimana semua bentuk dari mikroorganisme hidup, termasuk didalamnya spora bakteri ditiadakan (Forbes *et al* 2007). Sterilisasi dilakukan untuk mensterilkan media kultur, cairan suspensi, reagen, wadah, dan dan peralatan yang digunakan dalam mikrobiologi. Sterilisasi dapat dilakukan dengan cara fisik dan

cara kimia. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan uap formalin dan uap hidrogen peroksida (Forbes *et al* 2007).

Sterilisasi dengan pemijaran (pemanasan api langsung ) digunakan untuk alat-alat yang terbuat dari logam seperti jarum ose dan pinset. Sterilisasi dengan cara pemanasan basah menggunakan otoklaf pada suhu 121<sup>o</sup>C selama 15 menit, cara ini di gunakan untuk sterilisasi media agar. Untuk sterilisasi alat-alat dari gelas digunakan cara sterilisasi pemanasan kering yang menggunakan oven dengan suhu 160-180 C selama 1,5 sampai 3 jam. Sterilisasi dengan cara filtrasi (penyaringan) merupakan metode yang tepat untuk sterilisasi larutan antibiotik. Sterilisasi secara kimia digunakan untuk sterilisasi inkas dengan menggunakan uap formalin (Forbes *et al* 2007).

#### **F. Ciprofloxacin**

Ciprofloxacin merupakan senyawa bakteriasid turunan florokuinolon. Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan cara menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan bakteri mati. Ciprofloksasin digunakan untuk pengobatan yang disebabkan oleh bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Proteus mirabillis*, *Klebsiela sp.* *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*,serta bakteri gram positif seperti *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp* (Siswandono & Soekardjo 2000).

Mekanisme antibakteri ciprofloxacin yaitu dengan menghambat terhadap dua jenis enzim topoisomerase yaitu enzim DNA gyrase dan enzim topoisomerase IV. Kedua enzim tersebut berperan dalam pembentukan DNA sel bakteri. Dengan mekanisme kerja tersebut ciprofloxacin dapat membunuh bakteri sehingga obat ini digolongkan sebagai bakterisidal. Obat ini merupakan antibiotik broad spectrum (spektrum luas) yang aktif mematikan bakteri gram negatif maupun positif. Dosis ciprofloxacin yang efektif pada infeksi akibat shigella dan salmonella yaitu satu tablet forte (setiap tablet mengandung trimetoprim 500 mg) yang diberikan dua kali sehari (Chambers 2004). Sifat toksik senyawa antibiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri (efek bakteristatik) atau langsung membunuh bakteri (efek

bakteriosida) (Sumardjo, 2008). Golongan Fluorokuinolon adalah antibiotik yang sangat aktif, memiliki spektrum luas dan banyak digunakan baik pada manusia maupun hewan. Fluorokuinolon memiliki kelebihan karena dapat melawan berbagai jenis patogen multiresisten disebabkan cara kerjanya yang melalui target – target yang berbeda dari golongan antimikroba lain. Mekanisme resistensi fluorokuinolon juga tidak seperti kebanyakan mekanisme resistensi dari antibiotik lain, yaitu tidak melalui plasmid atau integron.

### **G. Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.)**

#### **1. Klasifikasi Tanaman Ketapang**

Klasifikasi tanaman ketapang sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Filum	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Rosidae
Suku	: Myrtales
Marga	: Terminalia
Spesies	: <i>Terminalia catappa</i> L. (Tjitrosoepomo,1989)

#### **2. Nama Daerah**

Tanaman ketapang di beberapa daerah memiliki nama lain yaitu sariase (Sumatra), ketapang (Jawa), ketapas (Nusa Tenggara ), atapang (Sulawesi ), kalis (Irian jaya), ngusu (Maluku). Nama latin dari tanaman ketapang adalah *Terminalia catappa* L. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan lengkap yang memiliki akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji.

#### **3. Morfologi Tanaman Ketapang**

Lemmens dan Soetjipto (1999), mendiskripsikan Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Batangnya memiliki, cabang panjang dan mendatar. Daunnya berbentuk bundar telur atau menjorong. Daun menjadi merah muda kuning merah sebelum jatuh. Pigmen bertanggung jawab untuk perubahan warna daun termasuk violaxanthin, xanthoxanthin dan zeaxanthin. Bunga dengan ukuran sangat

kecil, berwarna putih dan tidak bermaklota. Buah berbentuk bulat telur, waktu muda berwarna hijau dan setelah matang berwarna merah.

Pohon ketapang memiliki tinggi mencapai 40 m dengan batangnya berwarna abu-abu sampai abu-abu kecoklatan. Bunganya memiliki lima lobed dan memiliki bau tidak sedap. Daun memiliki ujung yang berbentuk bulat tumpul, mengkilap, kasar, dan berwarna hijau tua yang kemudian akan berubah menjadi kuning dan merah ketika akan gugur (Heyne, 1987).

#### **4. Habitat Tanaman Ketapang**

*Terminalia* (Combretaceae) tersebar dari Sumatera sampai Papua. *Terminalia* dapat tumbuh pada dataran rendah sampai dataran rendah sampai dataran tinggi, di hutan primer maupun sekunder, hutan campuran Dipterocarpaceae, hutan rawa, hutan pantai, hutan jati atau sepanjang sungai (Faizal dkk, 2009). *Terminalia catappa* L. Ditanam terutama untuk perlindungan daerah pantai dan pohon peneduh (Thomson dan Evans, 2006).

Ketapang merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara dan bisa di tanam dikawasan Indonesia. Pohon ketapang cocok tumbuh didaerah panas, dataran rendah, dan dekat pesisir hingga ketinggian sekitar 800 m diatas permukaan air laut (Heyne, 1987), Tumbuhan ketapang biasanya dijumpai pada daerah-daerah tropis atau daerah dekat tropis dengan iklim lembab yaitu daerah pantai serta banyak dimanfaatkan sebagai tumbuhan peneduh. Pohon ketapang tidak hanya digunakan sebagai pohon peneduh melainkan memiliki banyak lain manfaat lain terutama pada bagian daunnya.

#### **5. Manfaat Daun Ketapang**

Menurut Pauly (2001), menyatakan bahwa daun ketapang dijadikan ekstrak memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan digunakan sebagai obat luar, ekstrak daun ketapang berguna untuk mengobati : sakit pinggang, kesleo, kudis, gatal-gatal, kulit yang terkelupas dan luka bernanah. Obat dalam, ekstrak daun ketapang berguna untuk mengobati, gangguan pada saluran pencernaan, gangguan pernapasan, menurunkan tekanan darah tinggi, dan insomnia, selain itu ekstrak daun ketapang digunakan dalam bidang kosmetik karena memiliki aktivitas anti UV dan antioksidan.

## 6. Kandungan Daun Ketapang

Secara umum kandungan kimia pada tanaman ketapang adalah tanin (punicalagin, punicalin, terflavin A dan B, tergalin, tercatin, asam chebulagic, geranin, granatin B, corilagin), flavonoid (isovitexin, vitexin, isoorientin, rutin) dan triterpenoid (Ahmed *et al* 2005). Pada daun ketapang mengandung flavonoid, saponin, triterpen, diterpen, senyawa fenolik dan tanin (pauly, 2001). zat kimia dalam ekstrak daun ketapang yang diduga bersifat antibakteri adalah tanin dan flavonoid. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun ketapang tersebut merupakan senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan maupun mematikan bakteri Menurut tropical Aquaworld (2006).

### H. Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

#### 1. Taksonomi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Liliaceae
Marga	: Allium
Spesies	: <i>Allium sativum</i> L. (Mochammad, 2005)

#### 2. Kandungan kimia Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

*Allium sativum* merupakan senyawa bersulfur yang tidak berbau, stabil dan belum memiliki aktivitas biologis. Alliin bervariasi antara 0,2% sampai 2,0% dari berat total umbi bawang putih, sedangkan enzim allinase merupakan enzim homodimerik yang terdiri atas 2 x 448 asam amino dengan berat molekul total 103.000. kandungan enzim allinase dalam *allium sativum* kurang lebih 10 % dari kandungan protein totalnya atau sekitar 10 mg/gram berat total *Allium sativum* (Sigh and Singh, 2008).

#### 3. Senyawa Antibakteri Bawang Putih

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

sativum dihancurkan, maka akan terjadi pelepasan enzim allinase yang dengan cepat melisiskan allicin dengan memecah ikatan karbon dan sulfur aliin untuk membentuk sulfenic acid (RSOH). Dan senyawa ini dengan segera akan berkondensasi menjadi allicin dan senyawa thiosulfat lainnya (singh and singh, 2008). Senyawa-senyawa thiosulfinat dari bawang putih ini memiliki daya antibakteri menurut fani et.al. (2007) dan Giles et .al. (2002). Aktivitas antimikroba bawang putih seluruhnya hilang ketika thiosulfinat (seperti misalnya allicin ) disingkirkan dari ekstrak, hal ini di perkuat dengan percobaan Hughes and Lawson yang disebutkan dalam sivam (2001).

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. Allicin berpotensi sebagai agen antimikroba terkuat pada *Allium sativum* (Singh and Singh, 2008). Allicin, thiosulfinat lain yang dapat membentuk dari aliin di antaranya adalah S-allylmercaptocysteine, allylmercaptan, diallyl disulfide, allylmethyl disulfide, vinylidithiins, ajoene, allyl sulfinic, allylsulfonic acid (Lawson dalam Singh and Singh 2008).

Selain senyawa-senyawa thiosulfinat tersebut, senyawa flavonoid yang terkandung dalam bawang putih juga memiliki daya antibakteri. 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, Harbone dan Robinson dalam supardi (2007).

Saponin yang terkandung dalam bawang putih merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok didalam air serta pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin juga bekerja sebagai anti mikroba, Saponin merupakan senyawa yang berasa pahit dan menusuk, biasanya dapat menyebabkan bersin dan iritasi terhadap sel lendir Robinson dalam Supardi (2007). Minyak atsiri adalah zat bebas yang terkandung dalam tanaman. Minyak atsiri mempunyai sifat pengobatan misalnya yang memiliki

daya karminatif, antibakteri, antiserangga dan antifungi Claus dan Tyler dalam supardi (2007).

#### **4. Aktivitas Antibakteri (*Allium sativum* L)**

Allicin memiliki spektrum antibiotik luas melawan bakteri gram positif dan gram negatif, berdasarkan Kabelik and Hejtmankova-Uhrova dalam sivam (2001) serta Cutler and Wilson (2004). *Allium sativum* lebih mudah menghambat bakteri intestinal patogenik dari pada flora intestinal normal, menurut Caldwell and Danzer dalam Sivam (2001). Hal ini disebabkan oleh senyawa sulfur yang menghancurkan gugus thiol dan DNA polimerase yang dibutuhkan untuk replikasi kromosom bakteri, Anonymus (2008). Senyawa ini juga merangsang sistem imun dengan meningkatkan jumlah limfosit, fagosit dan titer antibodi. Pada akhirnya metabolisme sel bakteri akan terganggu dan terjadi kematian mikroorganisme tersebut. Zat anti bakteri lain yang terdapat pada bawang putih yaitu flavonoid. Kegunaan flavonoid adalah sebagai antimikroba, antivirus dan anti jamur. 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). Ekstrak bawang putih sebesar (57, 1%(w/v), mengandung 220 ug/ml allicin) efektif menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri oral (Bakri and Douglas, 2005).

Shigellosis, infeksi saluran kemih, atau otitis media adalah trimetoprim 8 mg/kg dan sulfametoksazol 40 mg/kg setiap 12 jam (Chambers 2004). Ciproflosaksin pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding (kontrol +) karena shigella dysenteriae merupakan bakteri yang sensitif terhadap antibiotik ini.

#### **5. Khasiat Umbi bawang putih**

Umbi 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).



## I. 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 yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati dari bagian tanaman berupa daun ketapang dan umbi bawang putih. 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)

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

### 1. Metode ekstraksi

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

**1.1 Maserasi.** Maserasi merupakan proses penyarian serbuk simplisia dengan cara 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, maserasi disaring (Handa *et al*, 2008). 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).

**1.2 Perkolasi.** Perkolasi merupakan 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).

**1.3 Infundasi.** Infundasi adalah proses penyarian menggunakan pelarut air dan dilakukan pada suhu air mendidih (96-98°C) selama waktu 15-20 menit (Depkes, 2000).

**1.4 Sokletasi.** 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).

**1.5 Refluks.** Refluks adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlahnya terbatas.

## **K. Landasan Teori**

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang terus berkembang di Indonesia, Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Antibiotik adalah suatu substansi kimia yang diperoleh atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme. Zat atau substansi tersebut dalam jumlah yang sedikitpun masih mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lainnya (Waluyo, 2004). *Shigellosis* disebut juga

Disentri basiler. Disentri sendiri artinya salah satu dari berbagai gangguan yang ditandai dengan peradangan usus, terutama kolon dan disertai nyeri perut, dan buang air besar yang sering mengandung darah dan lendir. Habitat alamiah kuman disentri adalah usus besar manusia, dimana kuman tersebut dapat menyebabkan disentri basiler. Infeksi *Shigella* praktis selalu terbatas pada saluran pencernaan, invasi dalam darah sangat jarang. *Shigella* menimbulkan penyakit yang sangat menular. Dosis infeksi kurang dari  $10^3$  organisme (Ayuw, 2006).

Penyakit Diare masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti di Indonesia, karena morbiditas dan mortalitas-nya yang masih tinggi. Hal ini dapat dilihat dari meningkatnya angka kesakitannya diare dari tahun ke tahun. Banyak faktor yang dapat menyebabkan diare, diantaranya merupakan infeksi dari berbagai bakteri, berbagai infeksi berbagai macam virus, alergi makanan dan parasit yang masuk kedalam tubuh melalui makanan dan minuman yang kotor, menurut Depkes, (2005).

Tanaman daun ketapang (*Terminalia catappa* L) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di daerah pasifik terutama di Indonesia, Indonesia sebagai salah satu negara beriklim tropis memiliki keanekaragaman flora. Meskipun demikian, sumber daya alam ini belum sepenuhnya dikelola dan dimanfaatkan untuk menunjang kemajuan bangsa. Selain itu memiliki banyak manfaat terutama fungsinya sebagai tanaman obat tradisional, tanaman daun ketapang (*Terminalia catappa* L) memiliki kandungan antioksidan yang tinggi menurut (Kinoshita *et al.*, 2007).

Umbi Bawang putih (*Allium sativum* L.) memiliki zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu allisin dan derivatnya seperti dialil thiosulfinat dan dialil disulfida dan memiliki kandungan antioksidan. Penggunaan umbi 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 umbi bawang putih. Komponen ini hanya akan muncul apabila bawang putih dipotong atau dihancurkan, pada saat umbi bawang putih dihancurkan, kerusakan membrane sel umbi bawang putih ini akan mengaktifkan enzim *allinase*, yang akan membantu

proses metabolisme *allicin* yang terkandung dalam sel lain, menjadi *allicin*. *Allicin* merupakan senyawa yang bersifat tidak stabil, senyawa ini dalam waktu beberapa jam akan kembali dimetabolisme menjadi senyawa sulfur lain seperti *vinylidithiines* dan *Diallyl disulfide (ajoene)* yang juga memiliki daya antibakteri berspektrum luas, namun dengan aktivitas yang lebih kecil (Salima, 2015).

*Shigella dysenteriae* merupakan bakteri penyebab utama penyakit disentri, merupakan penyakit infeksi saluran pencernaan yang ditandai dengan diare cair akut, tinja mengandung darah dengan atau tanpa lendir, pada umumnya disertai demam, nyeri perut, anoreksia, dan tenesmus. Komplikasi yang dapat terjadi diantaranya adalah sindrom hemolitik uremia, perforasi usus, megakolon toksik, prolapsus rekti, kejang, anemia septik, hingga kematian (Yatim 2001;WHO 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 digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh kuman patogen (Peni *et al*, 2011).

## **L. Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan pustaka dan landasan teori dalam penelitian ini, ditarik hipotesis antara lain:

1. Ekstrak kombinasi dari daun ketapang dan umbi bawang putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.
2. Konsentrasi hambat minumun (KHM) atau konsentrasi bunuh minimum (KBM) tertentu, Ekstrak kombinasi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*
3. Ekstrak etanol kombinasi dari daun ketapang dan umbi bawang putih Terdapat konsentrasi yang paling ampuh dalam membunuh bakteri pada perbandingan kombinasi daun ketapang dan bawang putih konsentrasi (70%:30%) terhadap *Shigella dysenteriae* .

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi merupakan semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel, populasi digunakan dalam penelitian ini Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) yang diambil secara acak B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar Jawa tengah dan kampus Universitas Setia Budi

Sampel merupakan representasi populasi menjadi sumber informasi bagi semua data yang diperoleh untuk menjawab permasalahan penelitian yang digunakan, dalam penelitian ini adalah kombinasi daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) daun yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua, yang kemudian dikeringkan serta dibuat serbuk.

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

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

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

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) terhadap *Shigella dysenteriae*.

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

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

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralkan atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bakteri uji *Shigella dysenteriae*, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkubasi, alat, serta bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, pemilihan daun, dan metode ekstraksi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* di media uji, yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol 96% daun ketapang dan umbi bawang putih.

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

Pertama, daun ketapang adalah daun yang utuh, berwarna hijau tua dan umbi bawang putih yang diambil dari daerah Tawangmangu, Karanganyar Jawa Tengah.

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

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

Keempat, ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih, yang diperoleh dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut etanol 96%, DMSO 5% dan aquadest.

Kelima, bakteri yang dipakai adalah *Shigella dysenteriae* yang ditumbuhkan ke dalam media agar.

Keenam, bakteri yang dipakai adalah *Shigella dysenteriae* didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

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

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

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

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

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

**1.1. Alat.** Alat untuk pembuatan ekstrak daun ketapang dan ekstrak umbi bawang putih yaitu maserasi, maserasi berisi bahan yang sedang di maserasi kemudian di tutup bejana, lalu pengaduk yang digerakkan secara mekanik, kemudian bejana tempat hasil maserasi, dan penyerkai

**1.2. Alat uji aktivitas antibakteri.** cawan petri steril, kertas caram, lampu spritus, penjepit, korak api, masker, handscoon, koran, karet, oven, tabung reaksi, ose tangkai panjang, rak tabung reaksi, pipet dan dandang besar.

#### 2. Bahan

**2.1 Bahan utama.** Bahan utama yang digunakan adalah serbuk daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar Jawa Tengah.

**2.2 Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan untuk penelitian ini adalah Ciprofloxacin, DMSO 5 %, media agar natrium, larutan spirtus dan etanol 96%.

**2.3 Media.** Media yang digunakan *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Citrat, Salmonella Shigella Agar* (SSA).

### **3. Bakteri di uji**

Bakteri uji yang dipakai dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia dan Parasitologi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi dan identifikasi tanaman**

Determinasi tanaman tahap pertama dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman yaitu menetapkan kebenaran sampel daun, daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap kepustakaan dan dilakukan di Laboratorium Biologi farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### **2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih**

Daun ketapang dan umbi bawang putih yang sudah disortasi basah, dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan dengan di oven pada suhu 50°C selama 2-3 hari yang bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no. 40.

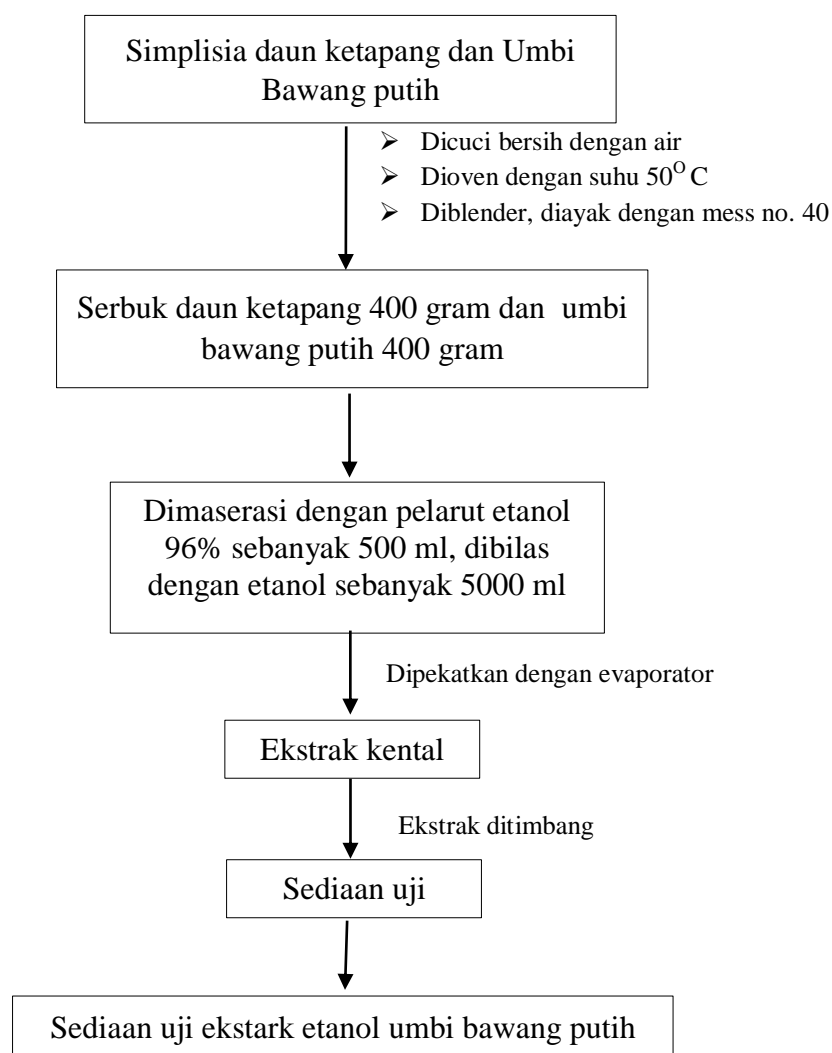
### **3. Pembuatan ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih secara maserasi**

Pembuatan ekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 menggunakan konsentrasi (30%:70%) ; (70%:30%) ; (50%:50%). Serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam botol, dengan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojog berulang-ulang. Maserasi yang didapatkan selama 5 hari diperas dengan kain flanel dan disaring. Residu kemudian ditambahkan etanol 2000 ml dimasukkan ke dalam botol dengan sekali diaduk dan dibiarkan selama 2 hari.



Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986).

Dapat dilihat pada skema gambar 5.



Gambar 1. Skema prosedur ekstrak etanol Daun Ketapang Dan Umbi Bawang Putih

#### 4. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak tercium bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini bertujuan agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri (Kurniawati 2015).

## 5. Pembuatan Kombinasi bahan uji

Kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dengan perbandingan 1:1 menggunakan konsentrasi (30%:70%), (50%:50%), (70%:30%) . Konsentrasi (70%:30%) dibuat dengan menimbang 7 gram ekstrak daun ketapang ditambah aquadest ad 10 ml. Larutan stock ekstrak umbi bawang putih di buat dengan menimbang 3 gram ekstrak bawang putih, di tambah aquadest ad 10 ml, masing- masing larutan stock diambil 2 ml dan di campurkan. Kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih dengan perbandiang (30%:70%) dibuat dengan menimbang 3 gram ekstrak daun ketapang ditambah aquadest ad 10 ml. Larutan stock ekstrak bawang putih di buat dengan menimbang 7 gram ekstrak umbi bawang putih, di tambah aquadest ad 10 ml, masing- masing larutan stock diambil 2 ml dan di campurkan . Kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dengan perbandiang (50%:50%) dibuat dengan menimbang 5 gram ekstrak daun ketapang ditambah aquadest ad 10 ml. Larutan stock ekstrak umbi bawang putih di buat dengan menimbang 5 gram ekstrak umbi bawang putih, di tambah aquadest ad 10 ml, masing- masing larutan stock diambil 2 ml dan di campurkan.

## 6. Sterilisasi alat

Seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dilakukan pencucian hingga bersih dan dilanjutkan pengeringan. Langkah selanjutnya dilakukan pensterilan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, begitu juga media yang digunakan.

## 7. Identifikasi bakteri uji

**7.1. Identifikasi bakteri secara goresan.** Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae*, biakan *Shigella dysenteriae* diinokulasi pada media selektif *Salmonella Shigella Agar (SSA)* dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu kecil, halus, tidak berwarna, konvek, tepi, dan permukaan rata (Jawetz *et al.* 1986).

**7.2. Identifikasi bakteri uji secara biokimia.** Identifikasi berdasarkan uji biokimia dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan *Citrat*.

**7.2.1. Media SIM (Sulfida Indol Motility).** Biakan murni diinokulasi pada permukaan media dengan cara diinokulasi tusukan kemudian diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila media berwarna hitam, uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah dengan reagen Erlich A dan B, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

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

**7.2.3. Media LIA (*Lysine Iron Agar*).** Biakan bakteri diinokulasi tusukan dan goresan kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi berfungsi untuk menguji lisin dan sulfida. Selanjutnya diamati bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan berwarna coklat (ditulis R), berwarna ungu (ditulis K), berwarna kuning (ditulis A), serta terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+).

**7.2.4. Media Citrat.** Biakan bakteri diinokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji positif bila media berwarna biru (Jawetz *et al.* 1986).

**7.2.5. Pewarnaan.** Identifikasi mikroskopis bakteri shigella dysenteriae dilakukan dengan cara pengecetan Gram. Pertama dibuat apusan diatas objek gelas, Selanjutnya ditetesi pewarnaan Gram A yang berisi kristal violet selama 1 menit, lalu dicuci lanjutkan ditetesi dengan pewarnaan Gram B yang berisi larutan lugol selama 1 menit. Setelah itu dicuci kembali dan lanjutkan ditetesi dengan pewarnaan Gram C sebagai peluntur 30 detik lalu dicuci. Terakhir ditetesi dengan pewarnaan Gram D yang berisi safranin selama 1 menit kemudian di cuci dan di keringkan dan dianginkan, setelah kering amati dengan mikroskop.

## 8. Pembuatan suspensi bakteri uji.

Bakteri *Shigella dysenteriae* dalam biakan murni diambil masing-masing satu ose dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi 10 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C sampai kekeruhannya setara dengan Mc Farland 0,5. Hingga kekeruhannya yang setara dengan Mc farland 0,5 =  $1,5 \times 10^8$  cfu/ml pembuatan suspensi bakteri bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah sel bakteri (Bonang dan Koeswandoro,1982).

## 9. Pengujian aktivitas antibakteri daun ketapang dan umbi bawang putih

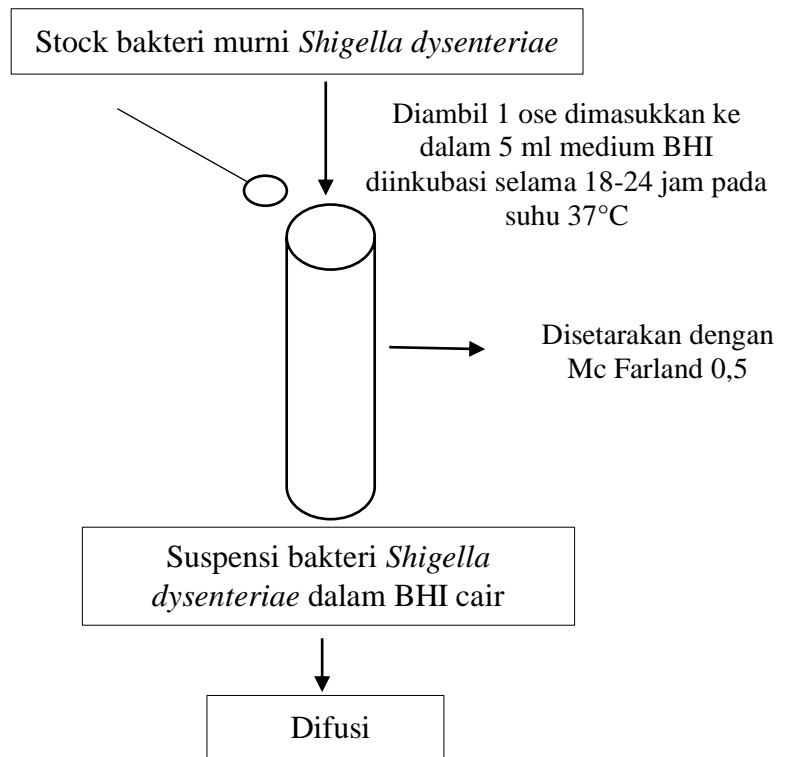
**9.1. Pengujian antibakteri secara difusi.** Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah Secara aseptis. pada cawan petri digores menggunakan kapas lidi steril, suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian di inokulasi kedalam media MHA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*). Kemudian medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Di isi kertas cakram ukuran 6 mm menggunakan pinset, kertas cakram direndam dengan konsentrasi ekstrak tunggal daun ketapang 30%,50%,70% dan konsentrasi tunggal ekstrak umbi bawang putih 30%,50%,70% dan konsentrasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih (30%:70%), (70%:30%), (50%:50%), Kontrol positif adalah ciprofloxacin dan kontrol negatif adalah DMSO 5%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun ketapang dan umbi bawang putih memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae* (Bonang & Koeswardono 1982). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

**9.2. Pengujian antibakteri secara dilusi.** Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode dilusi menggunakan 12 tabung steril. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu kontrol (-); 100%,50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; dan kontrol (+). Media

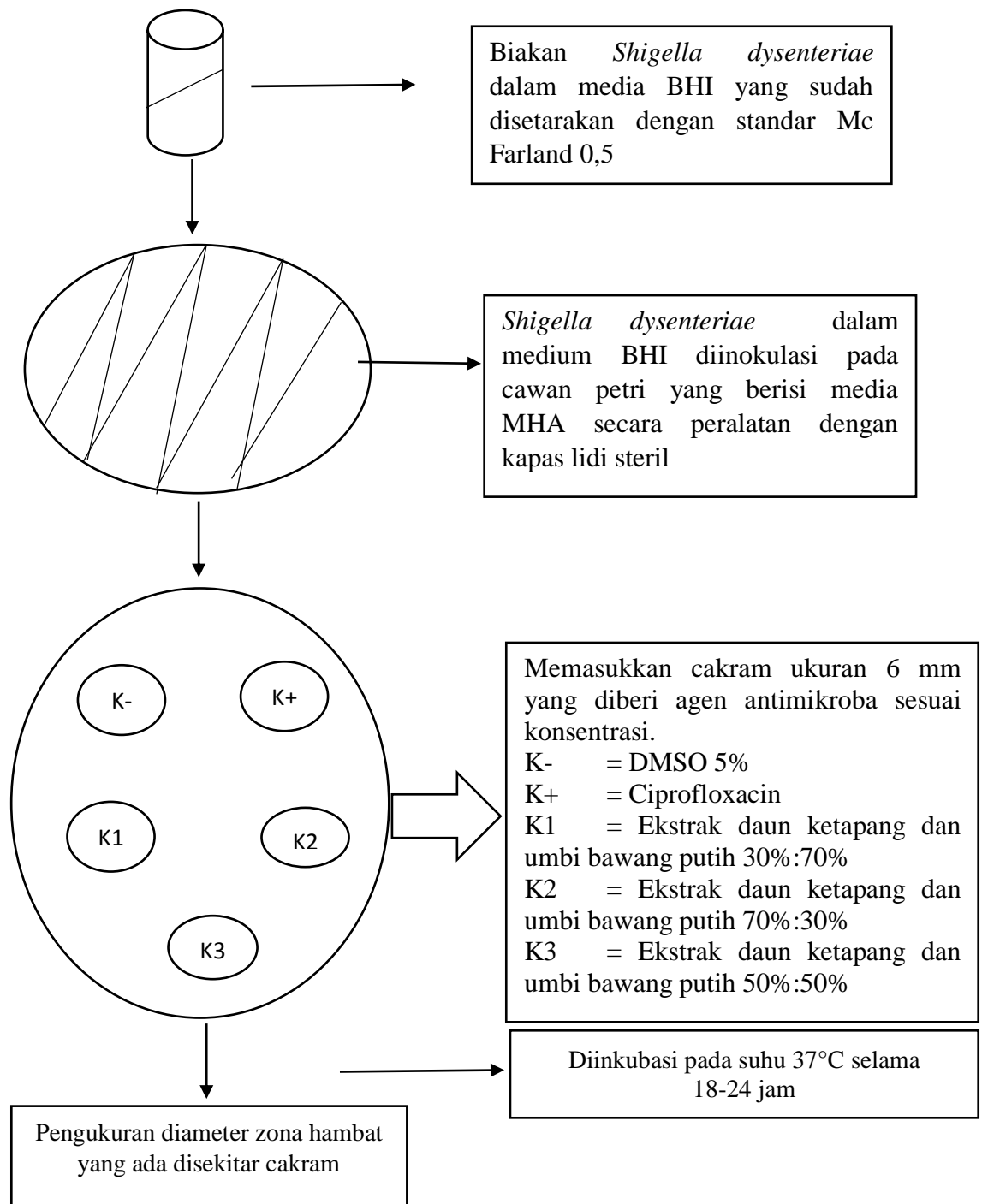
BHI dimasukkan 1 ml pada tiap tabung kecuali tabung 1. Secara aseptis, masukkan 2 ml yang akan diuji pada tabung 1, kemudian pada tabung 2 dan 3 dimasukkan 1 ml, kemudian dari tabung 3 dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tambahkan 1 ml biakan bakteri dari tabung 2 sampai tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media selektif *Salmonella Shigella Agar* (SSA) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

#### **10. Analisis hasil**

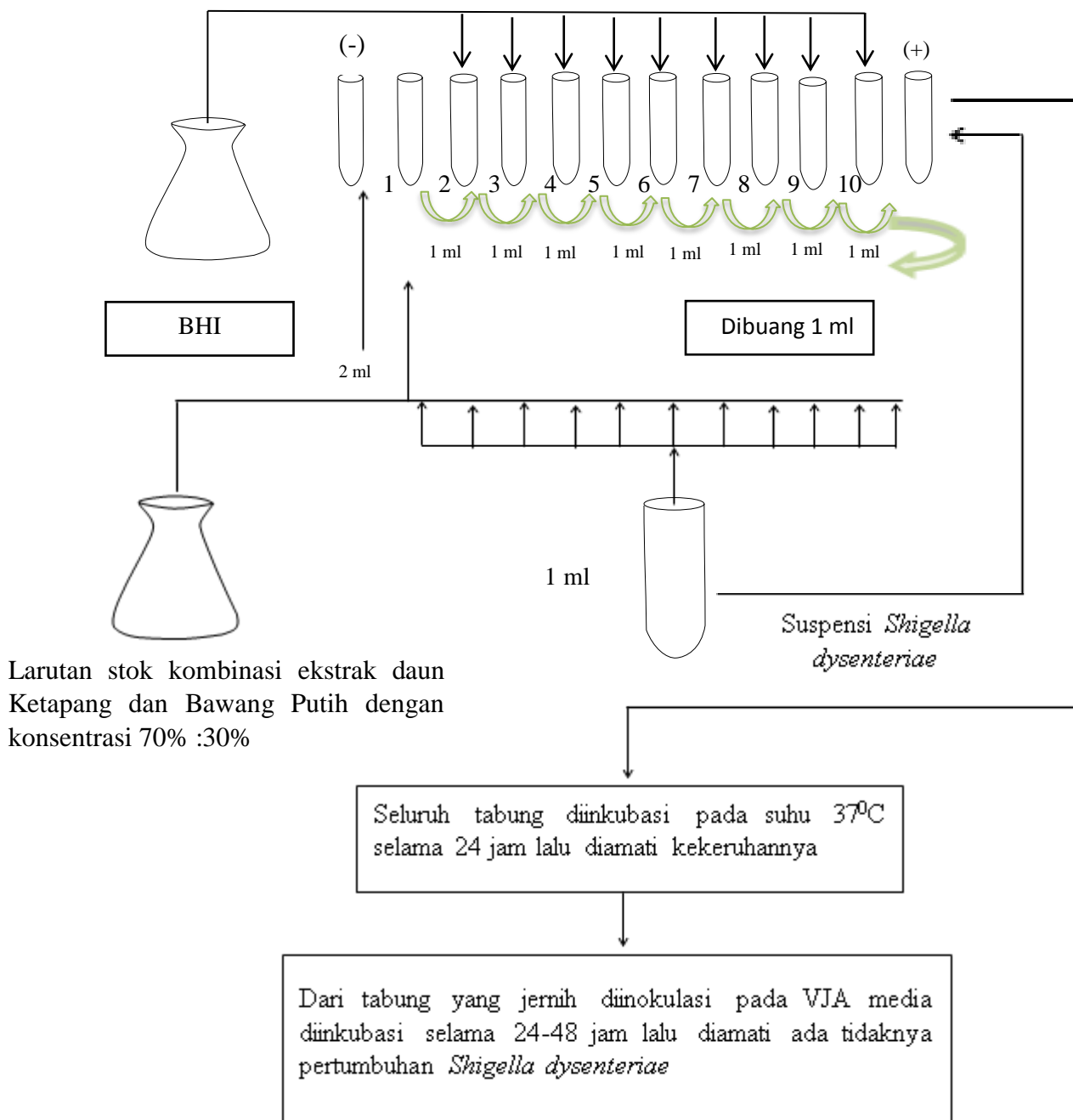
Hasil penelitian dianalisis yang di peroleh berdasarkan pengujian aktivitas pertumbuhan bakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi selanjutnya diuji secara stastik menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan analisis of varian (ANOVA) dua jalan.



**Gambar 2. Skema pembuatan suspensi bakteri**



**Gambar 3.. Skema kerja aktivitas antibakteri dengan metode Difusi**



**Gambar 4. Skema kerja aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Ketapang dan umbi Bawang Putih terhadap *Shigella dysenteriae* dengan metode Dilusi.**



## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

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

**1.1 Determinasi tanaman.** Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman daun ketapang (*Terminalia catappa L*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum L*) terhadap kepustakaan dan dibuktikan di laboratorium biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Hasil determinasi daun ketapang berdasarkan steenis : FLORA : 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. Golongan 333b-334b-335a-336b-345b-346b-348b-349b-355a. Familia 87. Combretaceae 1b- 3b. Terminalia *Terminalia cattapa L*.

Hasil determinasi bawang putih berdasarkan steenis : FLORA : : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b. Golongan 799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807b-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834b-835a-836a-837c-851a-852b-853b-854a-855c-856b-857a-858a-859c-860b-872b-874b-875b-876b-877c-916b-922b-923b-924a. Familia 218. Amaryllidaceae 1a-2b-3a-4a. Allium *Allium sativum L*.

**1.2 Deskripsi tanaman ketapang.** Deskripsi tanaman ketapang sebagai berikut: 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 keatas 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 dibagian atas, hijau hingga hijau tua tetapi berubah menjadi merah sebelum rontok; tangkai daun bulat, gundul, hijau. Bunga : majemuk tipe bulir,

diketiak daun di ujung cabang atau batang, panjang bulir 12-24 cm, bulir dibagian bawah terdapat bunga berkelamin 2 (banci), dibagian atas terdapat bunga jantan; tinggi dasar bunga pada bunga jantan dan bunga banci 4-8 mm, putih; benangsari 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.

**1.3 Deskripsi tanaman bawang putih.** Deskripsi tanaman umbi bawang putih sebagai berikut : pohon 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. Akar : akar serabut, muncul dari bagian bawah cakram, putih kotor atau putih kotor atau putih kekuningan. Batang : batang semu berbentuk bulat dan beralur, berwarna hijau, batang sejati terletak pada pangkal umbi yang berupa cakram pipih. Daun : tunggal, berupa roset akar, bentuk lanset, tepi rata ujung runcing, beralur, panjang 60 cm, lebar 4-12 mm. 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 tangkai kuntum bunga pendek, 0.2-0.6 cm; daun tenda bunga 6, memanjang, unjung 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. Buah : buah kapsul, bulat, hijau. Biji : biji berbentuk segitiga, panjang 3 mm, lebar 2 mm, hitam, mengkerut setelah kering.

Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman ketapang (*Terminalia cattapa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.).

## **2. Hasil Pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun ketapang dan umbi bawang putih**

Daun ketapang dan umbi bawang putih diambil secara acak di daerah Karanganyar Jawa Tengah pada bulan Januari 2018. Daun ketapang dan umbi

bawang putih dikumpulkan, dibersihkan, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 50 °C . Pengeringan daun ketapang dan umbi bawang putih menggunakan oven dengan suhu 50 °C, Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah timbulnya jamur dan mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Hasil presentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun ketapang dan umbi bawang putih**

No	Nama Tanaman	Bobot basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (% b/b)
1.	Daun Ketapang	3000	800	26,67
2.	Umbi Bawang Putih	6000	1200	20

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

Penetapan kadar air daun ketapang menggunakan alat *steeling bidwell*.

Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang menggunakan alat *sterling bidwell***

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%
Rata-rata				6 %

Berdasarkan tabel 2, hasil penetapan kadar air serbuk daun ketapang yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan presentase kadar rata – rata daun ketapang 6%. Kadar air tidak boleh lebih dari 10%, kandungan kadar air yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari serbuk simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Penetapan kadar air umbi bawang putih menggunakan alat *steeling bidwell*. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk umbi bawang putih menggunakan alat *sterling bidwell*.**

Nama tanaman	Replikasi	Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
Umbi bawang putih	1	20	2,0	10%
	2	20	1,8	9 %
	3	20	1,4	7 %
Rata-rata				8,67 %

Berdasarkan tabel 3, hasil penetapan kadar air serbuk umbi bawang putih yang dilakukan 3 kali replikasi, didapatkan presentase kadar rata – rata umbi bawang putih 8,67 %. Kadar air memenuhi syarat dan kadar air serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%, kandungan kadar air yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari serbuk simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. kadar air kurang dari 10% maka sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta 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 tetap ada dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun ketapang dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 4. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun ketapang dan umbi bawang putih**

Keterangan	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak(gram)	Rendemen (% b/b)
Daun ketapang	800	150	18,75
Umbi Bawang putih	1200	109	12,11

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun ketapang dan umbi bawang putih yang diperoleh 18,75% dan 12,11%, artinya untuk mendapatkan ekstrak kental daun ketapang sebanyak 150 gram dibutuhkan serbuk daun ketapang sebanyak 800 gram. Ekstrak kental umbi bawang putih didapatkan sebanyak 109 gram di

butuhkan serbuk umbi bawang putih sebanyak 1200 gram. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 8.

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

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

Nama Ekstrak	hasil	Pustaka
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)

Berdasarkan tabel 5 hasil uji kedua ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) positif bebas dari etanol 96 % yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol bertujuan dilakukan pada ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak tersebut sudah tidak mengandung etanol yang memiliki aktivitas antibakteri dan mencegah kesalahan pengamatan pada tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*, sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

## 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih meliputi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel .**

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
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.	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)
Tanin	Warna hijau kehitaman.	Terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

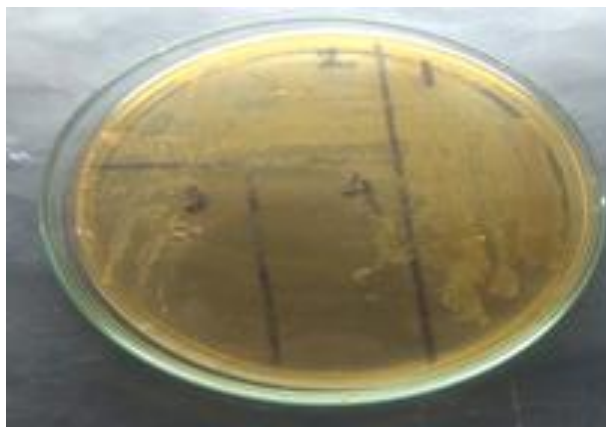
Tujuan penambahan serbuk magnesium dan HCl pada pengujian flavonoid adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilum berwarna merah atau jingga. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas.

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatis dengan gugus hidroksi lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar. Adapun reaksi-reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan serbuk Mg dapat dilihat pada gambar 5

Timbulnya buih pada pengujian saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Reaksi yang terjadi saat uji saponin.

## 7. Hasil identifikasi bakteri uji

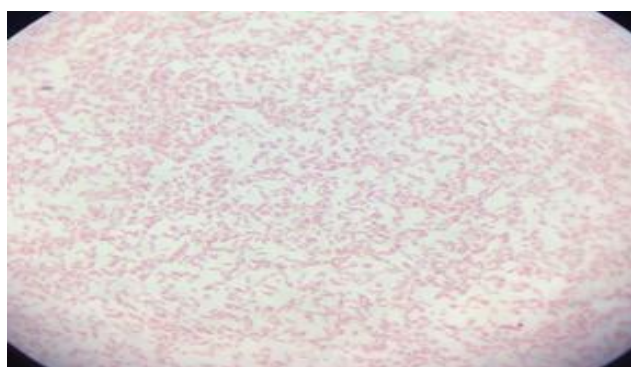
**7.1 Identifikasi bakteri secara goresan.** Identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae*, di inokulasi pada media SSA (*Salmonella Shigella Agar*) dan di inkubasi selama 24 jam suhu 37 °C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu kecil, halus, tidak berwarna, konvek, tepi, dan permukaan rata. Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* secara inokulasi dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 5.** Hasil identifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* dengan digores pada media SSA

**7.2 Hasil pewarnaan bakteri *Shigella dysenteriae*.** Hasil pewarnaan menunjukkan hasil bahwa bakteri yang diuji merupakan bakteri Gram negatif karena bakteri tidak dapat mempertahankan warna dari kristal violet (Gram A) dan menyerap warna dari safanin (Gram D), sehingga bakteri berwarna merah. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan terluar tersusun atas lipopolisakarida dan protein, lapisan tengah yaitu peptidoglikan yang tipis dan lapisan dalam yaitu membran sitoplasma. Lapisan terluar bakteri Gram

negatif mempunyai kandungan lipid yang tinggi dan pada umumnya lipid dapat terlarut dengan alkohol (Gram C). Pada proses perwarnaan Gram, zat warna dari Gram A akan diikat oleh lapisan terluar dari bakteri, saat penambahan alkohol (Gram C) warna yang terikat pada lapisan terluar sel bakteri akan luntur bersama dengan kandungan lipid yang ada pada lapisan terluar sel sehingga mempersar permeabilitas dinding sel. Perwarnaan safanin (Gram D) masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel berwarna merah. Hasil pengamatan menggunakan mikroskop bakteri berbentuk batang ramping dan berwarna merah.



**Gambar 6.** Hasil pewarnaan gram bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan mikroskop bakteri berbentuk batang ramping dan berwarna merah

**7.3 Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia.** hasil identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* secara biokimia dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 7.** Identifikasi uji biokimia *Shigella dysenteriae*

Media	Identifikasi	Hasil	Pustaka (WHO 2003)
KIA	Bakteri ditusukkan dan digores Pada media	K / A S <sup>-</sup>	K / A S <sup>-</sup>
LIA	Bakteri ditususk dan digores Pada Media	K / A S <sup>-</sup>	K / A S <sup>-</sup>
SIM	Bakteri ditusuk pada media	- - -	- - -
Citrat	Bakteri digoreskan pada media	-	-

Keterangan :

SIM = *Sulfida Indol Agar*

KIA = *Kliger Iron Agar*

LIA = *Lysine Iron Agar*

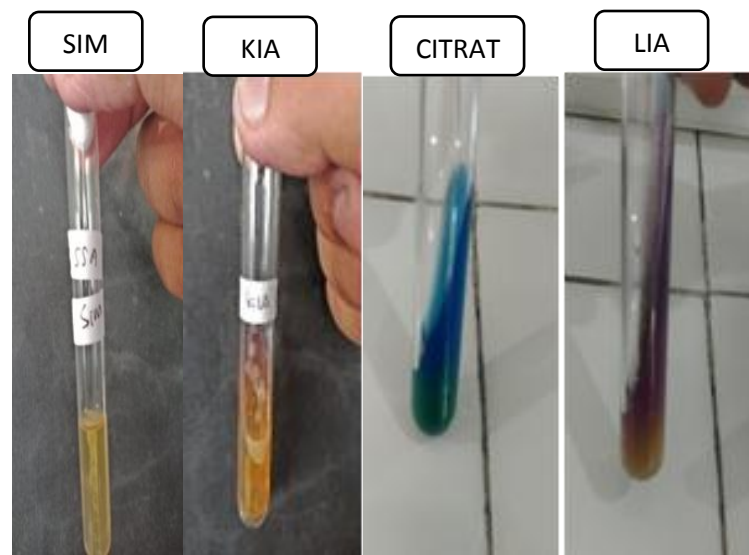
Citrat = *Simmons Citrate Agar (SCA)*

K = merah (pada media KIA)

A = terbentuk warna kuning

K = terbentuk warna ungu (pada media LIA)

S(-) = tidak terbentuk warna hitam



**Gambar 7. Hasil identifikasi bakteri uji *Shigella dysenteriae* dengan uji biokimia**

Identifikasi secara biokimia menggunakan medium KIA, LIA, Citrat dan SIM menunjukkan hasil sesuai dengan pustaka, sehingga dapat diketahui bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *shigella dysenteriae*. Hasil identifikasi secara biokimia pada medium KIA menunjukkan K/A S<sup>-</sup> bagian atas berwarna (K) karena adanya proses dekarboksilasi oksidatif protein di bagian permukaan membentuk amina (NH<sub>3</sub>) yang bersifat alkali dengan adanya phenol red maka terbentuk warna merah. Bagian dasar kuning (A) karena bakteri menghasilkan asam karena dapat menfermentasi glukosa dan tidak menfermentasi laktosa. Sulfida negatif (S<sup>-</sup>) karena tidak adanya warna hitam pada media dikarenakan tidak memproduksi hidrogen sulfida.

Hasil identifikasi secara biokimia pada medium LIA menunjukkan bagian atas berwarna ungu (K) dan bagian dasar berwarna kuning (A) menandakan tidak terjadi proses determinasi dan dekarboksilasi lisin tetapi terjadi proses fermentasi glukosa, sulfida negatif (S<sup>-</sup>) karena tidak adanya warna hitam pada media.

Hasil identifikasi secara biokimia pada medium citrat diperoleh hasil negatif (-) ditunjukkan pada media tetap berwarna hijau, artinya bakteri tidak menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali dan tidak menggunakan citrat sebagai karbon tunggal. *Shigella dysenteriae* menggunakan glukosa sebagai sumber karbon.



Hasil identifikasi secara biokimia pada medium SIM di peroleh hasil (- - -) yaitu sulfida negatif ditandai dengan tidak adanya warna hitam pada media karena bakteri tidak dapat mereduksi sodium thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hidrogen sulfid. Indol negatif karena enzim triptofanase pada bakteri dapat mengubah triptofan menjadi indol, asam piruvat dan  $\text{NH}_3$ . Mortilitas negatif yang berarti tidak ada pergerakan bakteri menyebar ke seluruh media, bakteri hanya tumbuh pada bekas tusukkan, artinya bakteri *Shigella dysenteriae* tidak memiliki alat gerak.

### **8. Hasil identifikasi suspensi bakteri uji.**

Bakteri *Shigella dysenteriae* dalam biakan murni masing-masing diambil 1 ose kemudian dimasukkan kedalam tabung yang telah di isi 10 mL media BHI (*Braind heart infusion*) kemudian di inkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Suspensi yang telah diencerkan di bandingkan dengan larutan standar Mc Farland 0,5 sampai didapat kekeruhan yang sama. Pembuatan suspensi bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah bakteri

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

**9.1 Hasil pengujian antibakteri secara difusi.** Hasil dari ekstrak tunggal dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 30%, 50%, 70%, (30%:70%), (70%:30%), (50%:50%) dengan pembanding kontrol positif adalah ciprofloksasin  $5 \mu\text{g/ml}$  dan kontrol negatif pelarut DMSO 5% untuk mengetahui ekstrak paling aktif dengan melihat luas diameter daya hambat masing-masing ekstrak.

Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi kemudian diukur diameter zona hambat sekitar cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun ketapang dan bawang putih memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae*. Hasil diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 10.

**Tabel 8. Hasil perhitungan diameter hambat pada uji antibakteri ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih tunggal dan kombinasi daun ketapang dan bawang putih terhadap *Shigella dysenteriae* secara difusi**

Ekstrak	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm)
		I	II	III	
Bawang putih	30 %	10	9	12	10,3
Bawang putih	50 %	12	15	13	13,3
Bawang putih	70 %	13	14	16	14,3
Daun ketapang	30 %	18	20	17	18,3
Daun ketapang	50 %	28	26	25	26,3
Daun ketapang	70 %	30	23	29	27,3
Daun ketapang dan umbi bawang putih	30 % : 70%	23	25	24	24
Daun ketapang dan umbi bawang putih	70 % : 30 %	30	29	27	28,6
Daun ketapang dan umbi bawang putih	50 % : 50 %	26	27	25	26
Kontrol	(+)	32	30	34	32
Kontrol	(-)	0	0	0	0

Keterangan:

Kontrol (+) : Ciproflosasin (Antibiotik )

Kontrol (-) : DMSO 5%

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa ekstrak tunggal dan kombinasi memiliki daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae*. Rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak tunggal umbi bawang putih adalah 10,03 mm pada konsentrasi tunggal bawang putih 30% dan 13,3 mm pada konsentrasi tunggal bawang putih 50%, dan 14,3 mm pada konsentrasi tunggal umbi bawang putih 70% sedangkan rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak tunggal daun ketapang adalah 18,3 mm pada konsentrasi tunggal daun ketapang 30% dan 26,3 mm pada konsentrasi tunggal daun ketapang 50% dan 27,3 mm pada konsentrasi tunggal daun ketapang 70%. Rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih adalah 24 mm pada kombinasi konsentrasi daun ketapang dan bawang putih (30%:70%) dan 28,6 mm pada kombinasi konsentrasi daun ketapang dan bawang putih (70%:30%) dan 26 mm pada kombinasi konsentrasi (50%:50%) . Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap *Shigella dysenteriae* secara difusi dapat dilihat pada lampiran 7.

Dari tabel 8 dapat dilihat pada ekstrak tunggal daun ketapang 70% dan kombinasi daun ketapang : umbi bawang putih (70%:30%) memiliki daya hambat lebih efektif terhadap *Shigella dysenteriae* dibandingkan ekstrak tunggal umbi

bawang putih 30%, 50%, 70%, dan ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50% dan 70% kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih (30%:70%), (50%:50%).

## 10. Hasil Analisis Data

Perhitungan statistik yang digunakan adalah anova *one way*, digunakan *one way anova* untuk membandingkan konsentrasi tunggal dan konsentrasi kombinasi.

Perhitungan Kolmogorov-Smirnov diperoleh Signifikansi =  $0,316 > 0,05$  ( $H_0$  diterima), disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan ANOVA *one way*. Hasil tabel anova dalam dasar pengambilan keputusan (nilai probabilitas), dengan probabilitas  $0,000 < 0,05$  terdapat perbedaan yang nyata. Uji *Tukey* dan *Bonferroni*, tanda \* ada di angka *Mean Difference*, maka perbedaan signifikan. Hasil tabel Multiple Comparisons terlihat perbedaan tidak signifikan pada ekstrak konsentrasi tunggal umbi bawang putih 30%, ekstrak tunggal umbi bawang putih 50%, ekstrak tunggal umbi bawang putih 70%, ekstrak tunggal daun ketapang 30%, ekstrak tunggal daun ketapang 50%, ekstrak tunggal daun ketapang 70% dan ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 30%:70%, ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 70%:30%, ekstrak kombinasi 50%:50%. kontrol positif cakram ciprofloxacin dan kontrol negatif DMSO 5%, nampak ada perbedaan signifikan. Ekstrak tunggal umbi bawang putih 30% memiliki daya hambat paling kecil di bandingkan ekstrak tunggal yang lain dan ekstrak kombinasi. Ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 70%:30% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 30%:70% dan 50%:50% serta ekstrak tunggal daun ketapang 30%, 50%, 70% dan ekstrak tunggal umbi bawang putih 30%, 50%, 70%. Ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih terdapat senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri seperti flavonoid, saponin, tanin. Homogeneous Subsets merupakan bagian untuk mencari grup / subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Hasil tabel Homogeneous Subsets pada ekstrak daun ketapang 70% dan kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih

70%:30% tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif tetapi memiliki perbedaan yang signifikan dengan ekstrak konsentrasi tunggal bawang putih 30%,50%,70% dan ekstrak konsentrasi tunggal daun ketapang 30%,50% dan ekstrak konsentrasi kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 30%:70%, daun ketapang dan umbi bawang putih 50%:50%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak konsentrasi tunggal daun ketapang 70% dan ekstrak konsentrasi kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih 70% : 30% memiliki aktivitas antibakteri yang sebanding dengan kontrol positif. Hasil perhitungan data dapat dilihat pada lampiran 18.

**11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.** Hasil kombinasi teraktif daun ketapang dan umbi bawang putih dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Seri konsentrasi yang di buat adalah 100%, 50%,25%,12,5%,6,25%,3,12%,1,56%,0,78%,0,39% dan 0,19% dengan kontrol positif berupa bakteri uji dalam media BHI dan kontrol negatif berupa kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih (70%:30%) hasil gambar uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* itu dapat dilihat pada lampiran . Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu pada menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* tidak bisa dilihat dari kejernihannya karena di tutupi oleh kekeruhan dari bagian kombinasi ekstrak yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih (70%:30%) yang dapat dilihat dari pengujian kombinasi ekstrak daun ketapang dan bawang putih (70%:30%) terhadap bakteri uji pada tabung kemudian di inokulasikan pada *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dengan tidak atau adanya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* pada media SSA.

**Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap *Shigella dysenteriae***

No.	Konsentrasi (% b/v)	Ekstrak daun ketapang : ekstrak umbi bawang putih 70%: 30%		
		I	II	III
1	100	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,12	+	+	+
7	1,56	+	+	+
8	0,78	+	+	+
9	0,39	+	+	+
10	0,19	+	+	+
11	Kontrol (+)	+	+	+
12	Kontrol (-)	-	-	-

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan ekstrak kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih (70%:30%)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri

Tabung no. 2-11 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 9 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dilakukan tiga kali pengulangan dengan konsentrasi ekstrak yang dipakai yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39% dan 0,19%. Konsentrasi Bunuh Minimum kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih (70%:30%) terhadap *Shigella dysenteriae* adalah 25%. Hasil uji dilusi menunjukkan bahwa konsentrasi 25% tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada replikasi 1, 2 dan 3. Pertumbuhan bakteri ditemukan pada konsentrasi 12,5% pada replikasi 1, 2 dan 3 sehingga dapat disimpulkan Konsentrasi Bunuh Minimum Kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih (70%:30%) adalah 25%.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat di simpulkan bahwa :

Pertama, Ekstrak kombinasi dari daun ketapang dan umbi bawang putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*.

Kedua, Ekstrak kombinasi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Shigella dysenteriae* adalah 25%.

Ketiga, perbandingan konsentrasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Shigella dysenteriae* adalah perbandingan (70%:30%).

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut kombinasi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif yang lain selain *Shigella dysenteriae*.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan yang dapat dikonsumsi masyarakat.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* terhadap kombinasi ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.).

## 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.
- Anonim. 2011. Cetrimide Agar. Mumbay: HiMedia Laboratories. <http://himedialabs.com>
- Azijah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae* 2:31-38.
- Bonang G dan Koeswardono.1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Bakht, J., Tayyab, M., Ali, M., Islam, A., Shafi, M., 2011, Effect of different solvent extracted sample of *Allium sativum* (Linn) on bacteria and fungi, *African Journal of Biotechnology*, 10(31): 5910-5915.
- Barnes, J., Anderson, L. A and Philipso, J. D., 2007, *Herbal Medicines*, 3th ed. Pharmaceutical press, London.
- Brooks, F G., Butel, S J., Morse, A S. 2005. *Jawetz, Melnick, dan Adelberg's: Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta; Salemba Medika
- Brooks, G. F., Butel, J. S dan Morse, S. A., 2007, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Ke-23, Terjemahan dari Jawetz, Melnick, Adelbergs medical microbiology 23th oleh Retna Neary, Penerbit Buku kedokteran EGC, Jakarta.
- [Depkes RI]. 2011. Profil Kesehatan Indonesia 2010. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fakultas MIPA, Universitas Mataram. 2012. Sulisitiono DA. *Flavonoid*.
- Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemotherapy*. United State of America: Mc Graw Hill Company.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 9-13.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth, editor. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. hlm 585-587, 605-608
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. penerjemah; K. Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. hlm. 47-51.

- Harti AS. 2015. *Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Hielman J. Evidence. 2014. *Neighbourhood walkability and physical activity in urban areas*
- Jawetz, Ernest, MD. PhD dkk, 1986. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Edisi 16, Jakarta : Buku kedokteran. Hlm 299-301
- Jawetz, E., Melnick, J.L., E.A., 2012, *Medical microbiologi*, 26. Ed. Elferia Nr, penerjemah : Jakarta
- Jawetz Melnick, dan Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 1: 38-46.
- Katzung BG. 2007. *Farmakologi Dasar & Klinis*. Ed ke-10. Jakarta: Salemba Medika. hlm 80-82.
- Kim J.M., Mashall M.R., Cornell J.A., Boston J.F., Wei CI. 1995. *Antibacterial activity of carvacrol, citrat and geraniols against salmonellatyphimurium in culture medium and fish cubes*. Dalam J, Food Sci. 60(6)
- 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
- Kusuma Fauzi dan Kardiman, A. 2004. *meniran penambah daya tahan tubuh alami*. Bogor: Agromedia pustaka.
- Latif A. 2012. *Obat tradisional*. Jakarta :. Buku kedokteran EGC
- Lin, C.C., Hsu J.M., Ujiie, T., 1997, Evaluation of Antioxidant and Hepatoprotective activity of Terminalia catappa, *Amer J Chin Med*, 27 hal 153-63.
- Londhe, V.P., Gavasane A.T., Nipate S.S., Bandawane D.D., Chaudhari P.D., 2011, Role Of garlic (*Allium sativum*) in Various Disease: An Overview, *Journal Of Pharmaceutical Reserch and Opinion*, 1: 4. 129-134.
- Markham, K.R., 1982, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, a.b. Padmawinata, K., Academic Press, Bandung, hal 47-48,



- Mulyani, S. 2010. Komponen dan Anti-Bakteri dari Fraksi Kristal Minyak Zingiber zerumbet. *Majalah Farmasi Indonesia*; Fakultas Farmasi UGM: Yogyakarta. 21(3), 178-184
- O'Hara, M., Keifer, D., Farrel, K. 1998. A Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs. *Fam. Med* Vol (7): 523-536.
- Panjaitan, E.N., Saragih A., dan Purba D. Formulasi Gel dari Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale Var. Rubrum*) 2012. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Panovska, T.K., Kulevanova, S., Stefova., 2005, In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Spesies (Lamiaceae), *Acta Pharm*, 55 hal 207-214,
- Pauly G., 2001. *Cosmetic, Dermatological And Pharmaceutical Use of An Extract Of Terminalia catappa*, United State Patent Application no. 200100022665,
- Parnoto EN, Ma'ruf WF, Pringgenis D. 2012. Kajian aktivitas bioaktif ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jamur *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 1:1-8.
- Pelczar, M.J., E.S. Chan. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Pelezar MJ, dan Chan, ECS. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Volume ke 1,2. Hardiotomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta : Universitas Indonesia Press. Terjemahkan dari : *Elemen of Mikrobiology*
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E., 2001, *Antioxidant Activity*, Medalliaon Laboratories Analitical Progress, vol 10, No.2,
- Priyanto. 2008. Farmakoterapi dan terminologi Medis. Depok : Leksonfi. Hlm. 157.
- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Ramyashree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice. *Journal of Pharmacy Research* 8: 4554-4558.
- Ravikumar S, Syed A, Ramu A, Ferosekhan M. 2011. Antibacterial activity of chosen mangrove plants against bacterial specified pathogens. *World Applied Sciences Journal* 14: 1198- 1202.
- Rao, Sridhar P. N. 2008 *sterilization and disinfection*. Davangere : Departemen of Microbiology.

- Robinson T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Robinson T, 1995. *kandungan organik tumbuhan tingkat tinggi*, diterjemahkan oleh Padwaminta. Bandung: penerbit ITB.
- Scimitz, G., 2008, *Farmakologi dan Toksikologi*, Terjemahan dari Pharmacology and Toxicology diterjemahkan oleh Joseph sigit, Amalia Hanif. EGC, Jakarta.
- Siregar, R.S., 2004, *Atlas Berwarna Saripati Penyakit Kulit Edisi Kedua: Kandidiasis*. EGC. pp.31-35, Jakarta.
- Siswandono. 2008. *Kimia Medisinal*. Edisi ke 2. Surabaya: Airlangga University Press (Hal : 134)
- Suharto MAP, Edy HJ, Dumanauw JM. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak methanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Pharmacon* 1: 89.
- Sujata VB, Bhimsen AN, Meenakshi S. 2005. *Chemistry of Natural Product*. New delhi. Narosa Publisihing House.
- Thomson, L. A. J. & Evans, B. 2006. Terminalia catappa. [terhubung berkala]. (Online). (<http://www.traditionaltree.org>, diakses tanggal 28 maret 2015).
- Trilaksani, W., 2003, *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, Institute Pertanian Bogor, Bogor, hal 1-12,
- Winarto W. 2007. *Tananamn Obat Indonesia Untuk Pengobatan Herbal*. Karyasari Herba Media
- World Health Organization, 2009, *Microbiological Examination of NonSterperile Product : Test For Specified*.

L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N

## Lampiran 1. Hasil determinasi daun 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 : Maryo Jane Sanggel  
NIM : 20144058A  
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 :

Habitus : 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; benangsari 10, dalam 2 lingkaran, masing-masing lingkaran 5, benangsari 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 2. Hasil determinasi umbi 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 : Maryo Jane Sanggel  
NIM : 20144058A  
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, mengerut setelah kering.

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**



**Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.)**

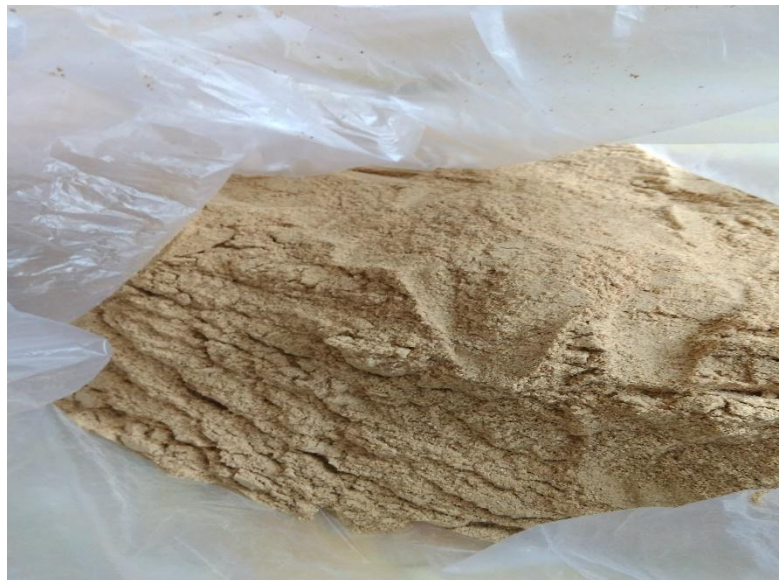


**Umbi Bawang putih (*Allium sativum* L.)**

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



**Serbuk daun ketapang (*Terminalia catappa* L)**



**Serbuk umbi bawang putih (*Allium sativum* L)**

**Lampiran 5. Foto evaporator, vakum, Erlenmeyer dan corong**



**Evaporator**



**vakum, Erlenmeyer dan corong**



**Lampiran 6. Foto alat timbangan, vortex, autoklaf, dan inkas.**



Timbangan



Autoklaf



Inkas



Vortex

**Lampiran 7. Foto *steeling bidwell*, oven, dan Inkubator**



*Sterling bidwell*



*Oven*



*Inkubator*

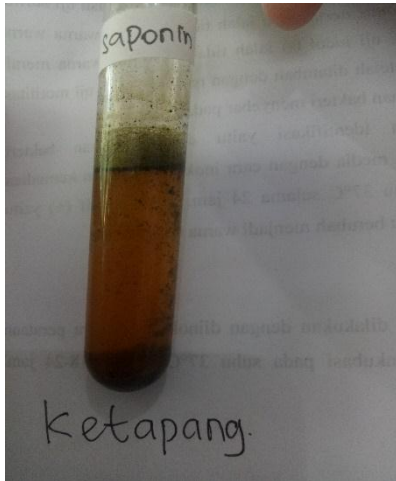
**Lampiran 8. Foto ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih**



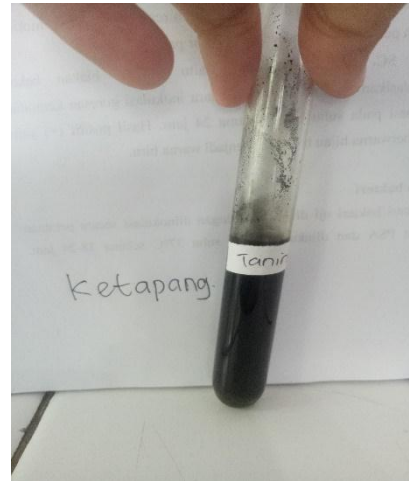
**Ekstrak kental umbi bawang putih**



**Ekstrak kental daun ketapang**

**Lampiran 9. Foto identifikasi senyawa kimia daun ketapang**

Saponin



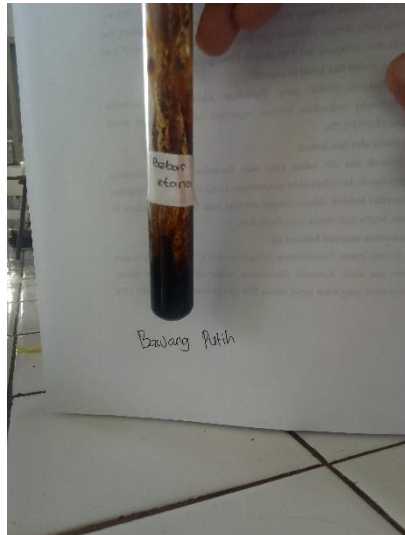
Tanin



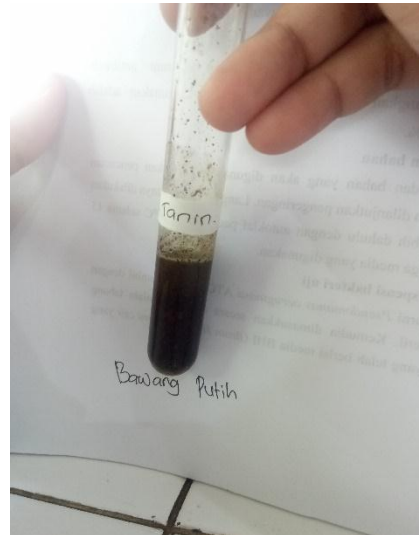
Bebas Etanol



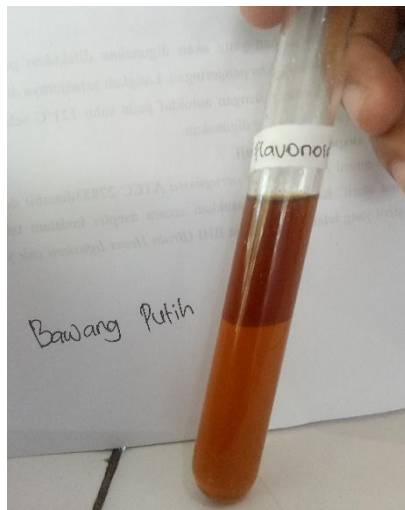
Flavonoid

**Lampiran 10. Foto identifikasi senyawa kimia umbi bawang putih**

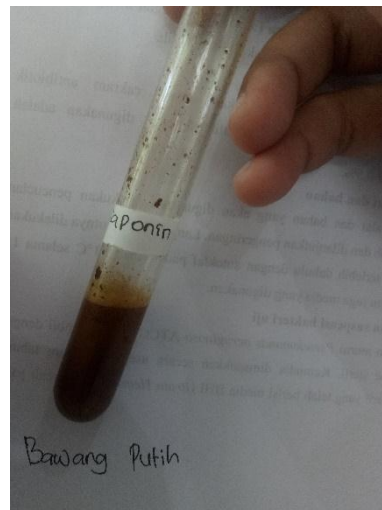
Bebas etanol



Tanin



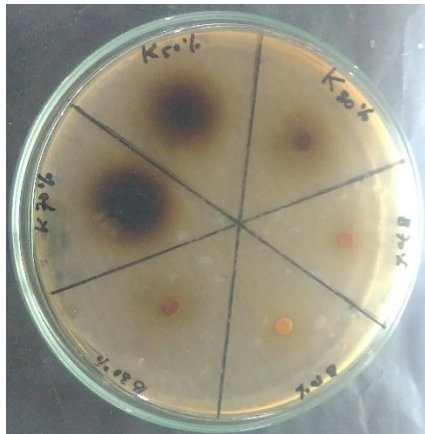
Flavonoid



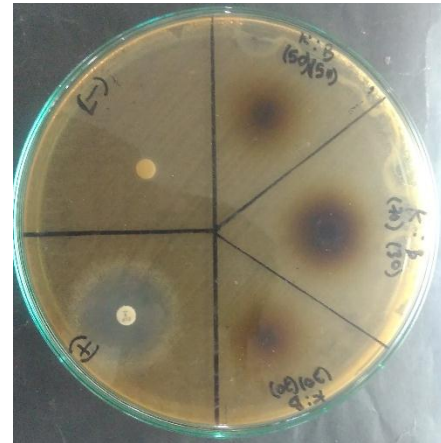
Saponin



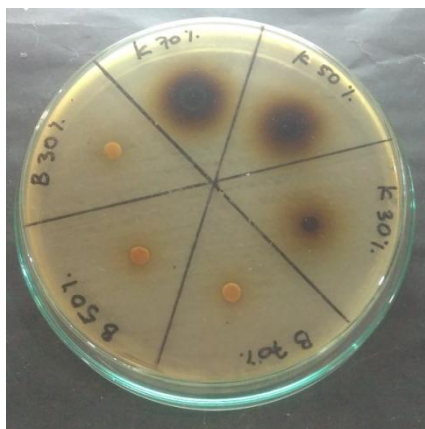
**Lampiran 11. Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara difusi**



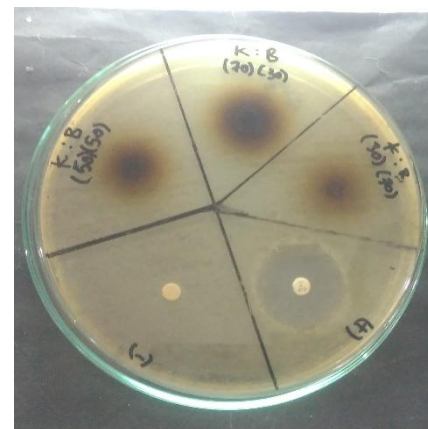
Replikasi 1 Tunggal



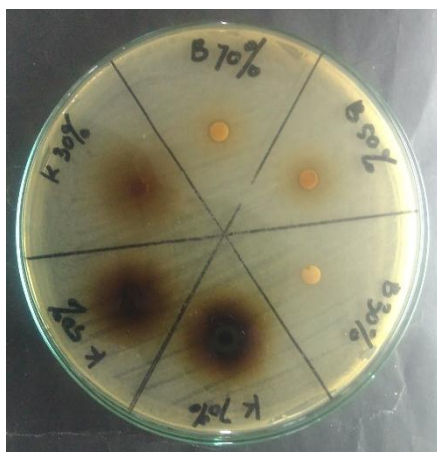
Replikasi 1 kombinasi



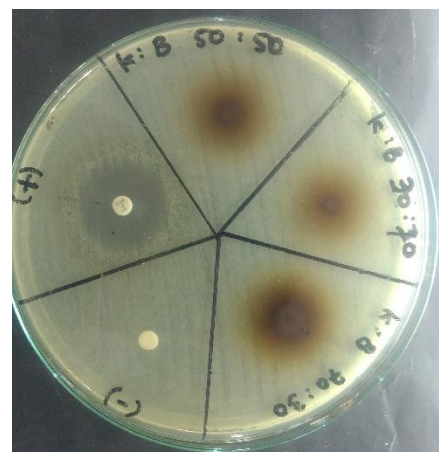
Replikasi 2 Tunggal



Replikasi 2 kombinasi

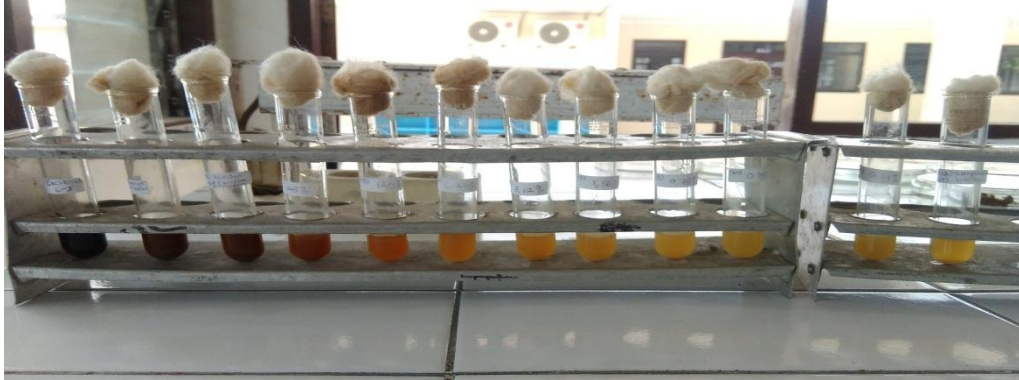


Replikasi 3 Tunggal

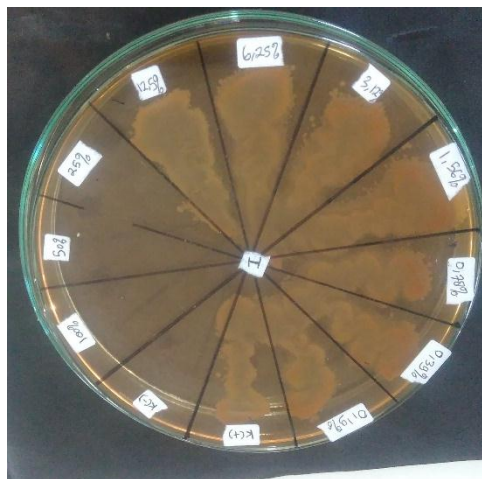


Replikasi 3 Kombinasi

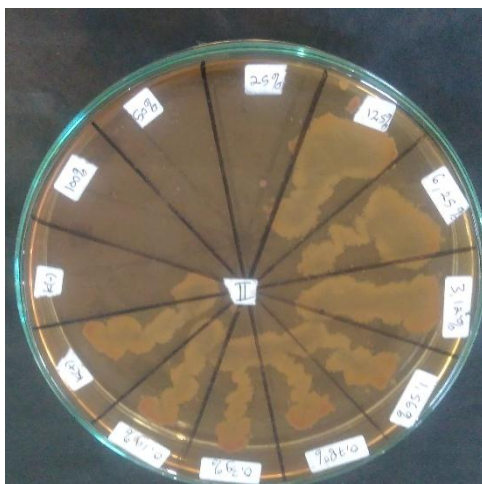
**Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun ketapang dan umbi bawang putih terhadap *Shigella dysenteriae* secara dilusi**



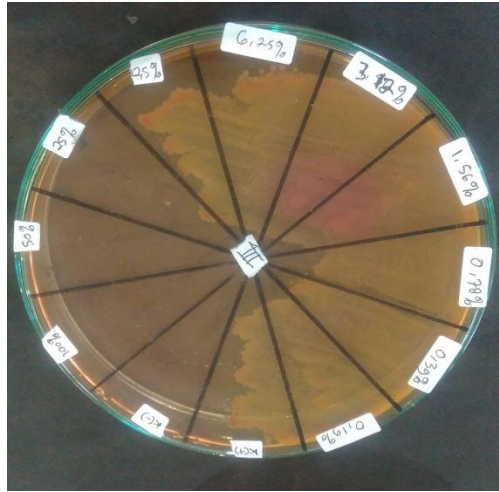
**Pengenceran tabung kombinasi ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae***



**Inokulasi kombinasi ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae* (replikasi 1)**



**Inokulasi kombinasi ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae* (replikasi 2)**



**Inokulasi kombinasi ekstrak terhadap *Shigella dysenteriae* (replikasi 3)**



**Lampiran 13. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah**

No	Nama Tanaman	Bobot basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (% b/b)
1.	Daun Ketapang	3000	800	26,67
2.	Umbi Bawang Putih	6000	1200	20

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah:

$$1. \text{ \% bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

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

Maka persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 26,67 %.

$$2. \text{ \% bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

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

Maka persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 20 %.

**Lampiran 14. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa L*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum L*)**

Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun ketapang (*Terminalia catappa L*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum L*)

Keterangan	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
Daun ketapang	800	150	18,75
Umbi Bawang putih	900	109	12,11

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

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanol Umbi Daun ketapang} &= \frac{150 \text{ g}}{800 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 18,75\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanol Umbi Bawang putih} &= \frac{109 \text{ g}}{900 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 12,11\% \end{aligned}$$

**Lampiran 15. Perhitungan kadar air daun ketapang (*Terminalia catappa L*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum L*)**

No	Nama tanaman	Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	Umbi bawang putih	20	2,0	10%
2		20	1,8	9 %
3		20	1,4	7 %
Rata-rata				<b>8,67 %</b>

No	Nama tanaman	Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	Daun ketapang	20	1,1	5,5%
2		20	1	5 %
3		20	1,5	7,5%
Rata-rata				<b>6 %</b>

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 16. Perhitungan pembuatan konsentrasi ekstrak**

1. Ekstrak daun ketapang 30 % (gr/vol)

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

2. Ekstrak daun ketapang 50% (gr/vol)

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

3. Ekstrak daun ketapang 70% (gr/vol)

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

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

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

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

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

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

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

### Lampiran 17. Formulaasi dan pembuatan media

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

Infus dari otak sapi	200,0 gram
Infus dari hati sapi	250,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Dektrosa	2,0 gram
NaCl	5,0 gram
Dinatrium fosfate	5,0 gram
Aquadestilata ad	100 mL
pH	7,4

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 100 mL dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 2. Formulaasi dan Pembuatan *Salmonella Shigella Agar* (SSA)

Lab Lenco Powder	5,0 gram
Peptone	5,0 gram
Laktose	10,0 gram
Bile salts	8,5 gram
Sodium citrate	10 gram
sodium thiosulphate	8,5 gram
Ferric citrate	1,0 gram
Brilliant Green	0,00033 gram
Neutral red	0,0025 gram
Agar	15,0 gram
pH	7,0
Aquadestilata	1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 1000 mL dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian dituang pada tabung reaksi steril tanpa di autoklaf.

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

Beef, dehydrated infusion from 300,0 gram

Casein hydrolysate 17,5 gram

Starch 1,5 gram

Agar-agar 17,0 gram

Aquadestilata ad 600 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 600 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Pepton from casein 20 gram

Pepton from meat 6 gram

Ammonium Iron (II) citrate 0,2 gram

Sodium thiosulfate 0,2 gram

Agar-agar 0,2 gram

pH 7,3 ± 0,1

Aquadestilata ad 60 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 60 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Meat extract 3,0 gram

Yeast extract 3,0 gram

Peptone from casein 15,0 gram

Peptone from meat 5,0 gram

Lactose 10,0 gram

D(+) glucose 1,0 gram

Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram

Sodium chloride 5,0 gram

Sodium thiosulfate 0,5 gram

Phenol red 0,024 gram

Agar-agar		12,0 gram
pH		7,4 ± 0,1
Aquadestilata	ad	60 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 60 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Peptone from maet		5,0 gram
Yeast extract		3,0 gram
D(+) glucose		1,0 gram
L-lysine monohydrochloride		10,0 gram
Sodium thioslfate		0,04 gram
Ammonium iron (III) citrate		0,5 gram
Bromocresol purple		0,02 gram
Agar-agar		12,5 gram
pH		6,7 ± 0,1
Aquadestilata	ad	60 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 60 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

7. Formulasi dan pembuatan Citrat

Ammonium dihydrogen phosphate		1,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate		1,0 gram
Sodium chloride		5,0 gram
Sodium citrate		2,0 gram
Magnesium sulfat		0,2 gram
Bromothymol blue		0,08 gram
Agar-agar		12,0 gram
pH		6,9 ± 0,1
Aquadestilata	ad	60 mL



Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 60 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

### Lampiran 18. Hasil Uji Statistik

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
konsentrasi	33	6,00	3,211	1	11
diameter	33	20,06	9,490	0	34

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi	diameter
N		33	33
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6,00	20,06
	Std. Deviation	3,211	9,490
Most Extreme Differences	Absolute	,098	,167
	Positive	,098	,087
	Negative	-,098	-,167
Kolmogorov-Smirnov Z		,561	,960
Asymp. Sig. (2-tailed)		,912	,316

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway****Descriptives**

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
bawang putih 30 %	3	10,33	1,528	,882	6,54	14,13	9	12
bawang putih 50 %	3	13,33	1,528	,882	9,54	17,13	12	15
bawang putih 70 %	3	14,33	1,528	,882	10,54	18,13	13	16
daun ketapang 30 %	3	18,33	1,528	,882	14,54	22,13	17	20
daun ketapang 50 %	3	26,33	1,528	,882	22,54	30,13	25	28
daun ketapang 70 %	3	27,33	3,786	2,186	17,93	36,74	23	30
daun ketapang : bawang putih 30%:70%	3	24,00	1,000	,577	21,52	26,48	23	25
daun ketapang : bawang putih 70%:30%	3	28,67	1,528	,882	24,87	32,46	27	30
daun ketapang : bawang putih 50%:50%	3	26,00	1,000	,577	23,52	28,48	25	27
kontrol (+)	3	32,00	2,000	1,155	27,03	36,97	30	34
kontrol (-)	3	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	33	20,06	9,490	1,652	16,70	23,43	0	34

## Multiple Comparisons

Dependent Variable:diameter

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
bawang putih 30 %	bawang putih 50 %	-3,000	1,443	,602	-8,16	2,16
	bawang putih 70 %	-4,000	1,443	,231	-9,16	1,16
	daun ketapang 30 %	-8,000*	1,443	,001	-13,16	-2,84
	daun ketapang 50 %	-16,000*	1,443	,000	-21,16	-10,84
	daun ketapang 70 %	-17,000*	1,443	,000	-22,16	-11,84
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-13,667*	1,443	,000	-18,82	-8,51
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-18,333*	1,443	,000	-23,49	-13,18
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-15,667*	1,443	,000	-20,82	-10,51
	kontrol (+)	-21,667*	1,443	,000	-26,82	-16,51
	kontrol (-)	10,333*	1,443	,000	5,18	15,49
bawang putih 50 %	bawang putih 30 %	3,000	1,443	,602	-2,16	8,16
	bawang putih 70 %	-1,000	1,443	1,000	-6,16	4,16
	daun ketapang 30 %	-5,000	1,443	,063	-10,16	,16
	daun ketapang 50 %	-13,000*	1,443	,000	-18,16	-7,84
	daun ketapang 70 %	-14,000*	1,443	,000	-19,16	-8,84
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-10,667*	1,443	,000	-15,82	-5,51
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-15,333*	1,443	,000	-20,49	-10,18
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-12,667*	1,443	,000	-17,82	-7,51
	kontrol (+)	-18,667*	1,443	,000	-23,82	-13,51
	kontrol (-)	13,333*	1,443	,000	8,18	18,49
bawang putih 70 %	bawang putih 30 %	4,000	1,443	,231	-1,16	9,16
	bawang putih 50 %	1,000	1,443	1,000	-4,16	6,16
	daun ketapang 30 %	-4,000	1,443	,231	-9,16	1,16
	daun ketapang 50 %	-12,000*	1,443	,000	-17,16	-6,84
	daun ketapang 70 %	-13,000*	1,443	,000	-18,16	-7,84
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-9,667*	1,443	,000	-14,82	-4,51
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-14,333*	1,443	,000	-19,49	-9,18
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-11,667*	1,443	,000	-16,82	-6,51
	kontrol (+)	-17,667*	1,443	,000	-22,82	-12,51
	kontrol (-)	14,333*	1,443	,000	9,18	19,49
daun ketapang 30 %	bawang putih 30 %	8,000*	1,443	,001	2,84	13,16
	bawang putih 50 %	5,000	1,443	,063	-,16	10,16
	bawang putih 70 %	4,000	1,443	,231	-1,16	9,16
	daun ketapang 50 %	-8,000*	1,443	,001	-13,16	-2,84
	daun ketapang 70 %	-9,000*	1,443	,000	-14,16	-3,84
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-5,667*	1,443	,023	-10,82	-,51
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-10,333*	1,443	,000	-15,49	-5,18

	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-7,667*	1,443	,001	-12,82	-2,51
	kontrol (+)	-13,667*	1,443	,000	-18,82	-8,51
	kontrol (-)	18,333*	1,443	,000	13,18	23,49
daun ketapang 50 %	bawang putih 30 %	16,000*	1,443	,000	10,84	21,16
	bawang putih 50 %	13,000*	1,443	,000	7,84	18,16
	bawang putih 70 %	12,000*	1,443	,000	6,84	17,16
	daun ketapang 30 %	8,000*	1,443	,001	2,84	13,16
	daun ketapang 70 %	-1,000	1,443	1,000	-6,16	4,16
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	2,333	1,443	,859	-2,82	7,49
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-2,333	1,443	,859	-7,49	2,82
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	,333	1,443	1,000	-4,82	5,49
	kontrol (+)	-5,667*	1,443	,023	-10,82	-,51
	kontrol (-)	26,333*	1,443	,000	21,18	31,49
daun ketapang 70 %	bawang putih 30 %	17,000*	1,443	,000	11,84	22,16
	bawang putih 50 %	14,000*	1,443	,000	8,84	19,16
	bawang putih 70 %	13,000*	1,443	,000	7,84	18,16
	daun ketapang 30 %	9,000*	1,443	,000	3,84	14,16
	daun ketapang 50 %	1,000	1,443	1,000	-4,16	6,16
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	3,333	1,443	,460	-1,82	8,49
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-1,333	1,443	,996	-6,49	3,82
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	1,333	1,443	,996	-3,82	6,49
	kontrol (+)	-4,667	1,443	,100	-9,82	,49
	kontrol (-)	27,333*	1,443	,000	22,18	32,49
daun ketapang : bawang putih 30%:70%	bawang putih 30 %	13,667*	1,443	,000	8,51	18,82
	bawang putih 50 %	10,667*	1,443	,000	5,51	15,82
	bawang putih 70 %	9,667*	1,443	,000	4,51	14,82
	daun ketapang 30 %	5,667*	1,443	,023	,51	10,82
	daun ketapang 50 %	-2,333	1,443	,859	-7,49	2,82
	daun ketapang 70 %	-3,333	1,443	,460	-8,49	1,82
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-4,667	1,443	,100	-9,82	,49
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-2,000	1,443	,939	-7,16	3,16
	kontrol (+)	-8,000*	1,443	,001	-13,16	-2,84
	kontrol (-)	24,000*	1,443	,000	18,84	29,16
daun ketapang : bawang putih 70%:30%	bawang putih 30 %	18,333*	1,443	,000	13,18	23,49
	bawang putih 50 %	15,333*	1,443	,000	10,18	20,49
	bawang putih 70 %	14,333*	1,443	,000	9,18	19,49
	daun ketapang 30 %	10,333*	1,443	,000	5,18	15,49
	daun ketapang 50 %	2,333	1,443	,859	-2,82	7,49
	daun ketapang 70 %	1,333	1,443	,996	-3,82	6,49
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	4,667	1,443	,100	-,49	9,82
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	2,667	1,443	,741	-2,49	7,82
	kontrol (+)	-3,333	1,443	,460	-8,49	1,82

	kontrol (-)	28,667*	1,443	,000	23,51	33,82
daun ketapang : bawang putih 50%:50%	bawang putih 30 %	15,667*	1,443	,000	10,51	20,82
	bawang putih 50 %	12,667*	1,443	,000	7,51	17,82
	bawang putih 70 %	11,667*	1,443	,000	6,51	16,82
	daun ketapang 30 %	7,667*	1,443	,001	2,51	12,82
	daun ketapang 50 %	-,333	1,443	1,000	-5,49	4,82
	daun ketapang 70 %	-1,333	1,443	,996	-6,49	3,82
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	2,000	1,443	,939	-3,16	7,16
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-2,667	1,443	,741	-7,82	2,49
	kontrol (+)	-6,000*	1,443	,014	-11,16	-,84
	kontrol (-)	26,000*	1,443	,000	20,84	31,16
kontrol (+)	bawang putih 30 %	21,667*	1,443	,000	16,51	26,82
	bawang putih 50 %	18,667*	1,443	,000	13,51	23,82
	bawang putih 70 %	17,667*	1,443	,000	12,51	22,82
	daun ketapang 30 %	13,667*	1,443	,000	8,51	18,82
	daun ketapang 50 %	5,667*	1,443	,023	,51	10,82
	daun ketapang 70 %	4,667	1,443	,100	-,49	9,82
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	8,000*	1,443	,001	2,84	13,16
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	3,333	1,443	,460	-1,82	8,49
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	6,000*	1,443	,014	,84	11,16
	kontrol (-)	32,000*	1,443	,000	26,84	37,16
kontrol (-)	bawang putih 30 %	-10,333*	1,443	,000	-15,49	-5,18
	bawang putih 50 %	-13,333*	1,443	,000	-18,49	-8,18
	bawang putih 70 %	-14,333*	1,443	,000	-19,49	-9,18
	daun ketapang 30 %	-18,333*	1,443	,000	-23,49	-13,18
	daun ketapang 50 %	-26,333*	1,443	,000	-31,49	-21,18
	daun ketapang 70 %	-27,333*	1,443	,000	-32,49	-22,18
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-24,000*	1,443	,000	-29,16	-18,84
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-28,667*	1,443	,000	-33,82	-23,51
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-26,000*	1,443	,000	-31,16	-20,84
	kontrol (+)	-32,000*	1,443	,000	-37,16	-26,84
bawang putih 30 %	bawang putih 50 %	-3,000	1,443	1,000	-8,53	2,53
	bawang putih 70 %	-4,000	1,443	,610	-9,53	1,53
	daun ketapang 30 %	-8,000*	1,443	,001	-13,53	-2,47
	daun ketapang 50 %	-16,000*	1,443	,000	-21,53	-10,47
	daun ketapang 70 %	-17,000*	1,443	,000	-22,53	-11,47
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-13,667*	1,443	,000	-19,19	-8,14
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-18,333*	1,443	,000	-23,86	-12,81
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-15,667*	1,443	,000	-21,19	-10,14
	kontrol (+)	-21,667*	1,443	,000	-27,19	-16,14
	kontrol (-)	10,333*	1,443	,000	4,81	15,86
bawang putih 50 %	bawang putih 30 %	3,000	1,443	1,000	-2,53	8,53

	bawang putih 70 %	-1,000	1,443	1,000	-6,53	4,53
	daun ketapang 30 %	-5,000	1,443	,121	-10,53	,53
	daun ketapang 50 %	-13,000*	1,443	,000	-18,53	-7,47
	daun ketapang 70 %	-14,000*	1,443	,000	-19,53	-8,47
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-10,667*	1,443	,000	-16,19	-5,14
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-15,333*	1,443	,000	-20,86	-9,81
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-12,667*	1,443	,000	-18,19	-7,14
	kontrol (+)	-18,667*	1,443	,000	-24,19	-13,14
	kontrol (-)	13,333*	1,443	,000	7,81	18,86
bawang putih 70 %	bawang putih 30 %	4,000	1,443	,610	-1,53	9,53
	bawang putih 50 %	1,000	1,443	1,000	-4,53	6,53
	daun ketapang 30 %	-4,000	1,443	,610	-9,53	1,53
	daun ketapang 50 %	-12,000*	1,443	,000	-17,53	-6,47
	daun ketapang 70 %	-13,000*	1,443	,000	-18,53	-7,47
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-9,667*	1,443	,000	-15,19	-4,14
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-14,333*	1,443	,000	-19,86	-8,81
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-11,667*	1,443	,000	-17,19	-6,14
	kontrol (+)	-17,667*	1,443	,000	-23,19	-12,14
kontrol (-)	14,333*	1,443	,000	8,81	19,86	
daun ketapang 30 %	bawang putih 30 %	8,000*	1,443	,001	2,47	13,53
	bawang putih 50 %	5,000	1,443	,121	-,53	10,53
	bawang putih 70 %	4,000	1,443	,610	-1,53	9,53
	daun ketapang 50 %	-8,000*	1,443	,001	-13,53	-2,47
	daun ketapang 70 %	-9,000*	1,443	,000	-14,53	-3,47
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-5,667*	1,443	,039	-11,19	-,14
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-10,333*	1,443	,000	-15,86	-4,81
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-7,667*	1,443	,001	-13,19	-2,14
	kontrol (+)	-13,667*	1,443	,000	-19,19	-8,14
kontrol (-)	18,333*	1,443	,000	12,81	23,86	
daun ketapang 50 %	bawang putih 30 %	16,000*	1,443	,000	10,47	21,53
	bawang putih 50 %	13,000*	1,443	,000	7,47	18,53
	bawang putih 70 %	12,000*	1,443	,000	6,47	17,53
	daun ketapang 30 %	8,000*	1,443	,001	2,47	13,53
	daun ketapang 70 %	-1,000	1,443	1,000	-6,53	4,53
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	2,333	1,443	1,000	-3,19	7,86
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-2,333	1,443	1,000	-7,86	3,19
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	,333	1,443	1,000	-5,19	5,86
	kontrol (+)	-5,667*	1,443	,039	-11,19	-,14
kontrol (-)	26,333*	1,443	,000	20,81	31,86	
daun ketapang 70 %	bawang putih 30 %	17,000*	1,443	,000	11,47	22,53
	bawang putih 50 %	14,000*	1,443	,000	8,47	19,53

	bawang putih 70 %	13,000*	1,443	,000	7,47	18,53
	daun ketapang 30 %	9,000*	1,443	,000	3,47	14,53
	daun ketapang 50 %	1,000	1,443	1,000	-4,53	6,53
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	3,333	1,443	1,000	-2,19	8,86
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-1,333	1,443	1,000	-6,86	4,19
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	1,333	1,443	1,000	-4,19	6,86
	kontrol (+)	-4,667	1,443	,209	-10,19	,86
	kontrol (-)	27,333*	1,443	,000	21,81	32,86
daun ketapang : bawang putih 30%:70%	bawang putih 30 %	13,667*	1,443	,000	8,14	19,19
	bawang putih 50 %	10,667*	1,443	,000	5,14	16,19
	bawang putih 70 %	9,667*	1,443	,000	4,14	15,19
	daun ketapang 30 %	5,667*	1,443	,039	,14	11,19
	daun ketapang 50 %	-2,333	1,443	1,000	-7,86	3,19
	daun ketapang 70 %	-3,333	1,443	1,000	-8,86	2,19
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-4,667	1,443	,209	-10,19	,86
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-2,000	1,443	1,000	-7,53	3,53
	kontrol (+)	-8,000*	1,443	,001	-13,53	-2,47
kontrol (-)	24,000*	1,443	,000	18,47	29,53	
daun ketapang : bawang putih 70%:30%	bawang putih 30 %	18,333*	1,443	,000	12,81	23,86
	bawang putih 50 %	15,333*	1,443	,000	9,81	20,86
	bawang putih 70 %	14,333*	1,443	,000	8,81	19,86
	daun ketapang 30 %	10,333*	1,443	,000	4,81	15,86
	daun ketapang 50 %	2,333	1,443	1,000	-3,19	7,86
	daun ketapang 70 %	1,333	1,443	1,000	-4,19	6,86
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	4,667	1,443	,209	-,86	10,19
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	2,667	1,443	1,000	-2,86	8,19
	kontrol (+)	-3,333	1,443	1,000	-8,86	2,19
kontrol (-)	28,667*	1,443	,000	23,14	34,19	
daun ketapang : bawang putih 50%:50%	bawang putih 30 %	15,667*	1,443	,000	10,14	21,19
	bawang putih 50 %	12,667*	1,443	,000	7,14	18,19
	bawang putih 70 %	11,667*	1,443	,000	6,14	17,19
	daun ketapang 30 %	7,667*	1,443	,001	2,14	13,19
	daun ketapang 50 %	-,333	1,443	1,000	-5,86	5,19
	daun ketapang 70 %	-1,333	1,443	1,000	-6,86	4,19
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	2,000	1,443	1,000	-3,53	7,53
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-2,667	1,443	1,000	-8,19	2,86
	kontrol (+)	-6,000*	1,443	,022	-11,53	-,47
kontrol (-)	26,000*	1,443	,000	20,47	31,53	
kontrol (+)	bawang putih 30 %	21,667*	1,443	,000	16,14	27,19
	bawang putih 50 %	18,667*	1,443	,000	13,14	24,19
	bawang putih 70 %	17,667*	1,443	,000	12,14	23,19
	daun ketapang 30 %	13,667*	1,443	,000	8,14	19,19
	daun ketapang 50 %	5,667*	1,443	,039	,14	11,19
	daun ketapang 70 %	4,667	1,443	,209	-,86	10,19



	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	8,000*	1,443	,001	2,47	13,53
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	3,333	1,443	1,000	-2,19	8,86
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	6,000*	1,443	,022	,47	11,53
	kontrol (-)	32,000*	1,443	,000	26,47	37,53
kontrol (-)	bawang putih 30 %	-10,333*	1,443	,000	-15,86	-4,81
	bawang putih 50 %	-13,333*	1,443	,000	-18,86	-7,81
	bawang putih 70 %	-14,333*	1,443	,000	-19,86	-8,81
	daun ketapang 30 %	-18,333*	1,443	,000	-23,86	-12,81
	daun ketapang 50 %	-26,333*	1,443	,000	-31,86	-20,81
	daun ketapang 70 %	-27,333*	1,443	,000	-32,86	-21,81
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	-24,000*	1,443	,000	-29,53	-18,47
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	-28,667*	1,443	,000	-34,19	-23,14
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	-26,000*	1,443	,000	-31,53	-20,47
	kontrol (+)	-32,000*	1,443	,000	-37,53	-26,47

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

#### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2813,212	10	281,321	90,132	,000
Within Groups	68,667	22	3,121		
Total	2881,879	32			

#### Homogeneous Subsets

diameter

Konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey	kontrol (-)	3	,00				
HSD <sup>a</sup>	bawang putih 30 %	3		10,33			
	bawang putih 50 %	3		13,33	13,33		
	bawang putih 70 %	3		14,33	14,33		
	daun ketapang 30 %	3			18,33		
	daun ketapang : bawang putih 30%:70%	3				24,00	
	daun ketapang : bawang putih 50%:50%	3				26,00	
	daun ketapang 50 %	3				26,33	
	daun ketapang 70 %	3				27,33	27,33
	daun ketapang : bawang putih 70%:30%	3				28,67	28,67
	kontrol (+)	3					32,00
	Sig.		1,000	,231	,063	,100	,100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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