

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN  
AIR DARI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)  
Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Nanda Novika Rahmadhani  
19133809A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN  
AIR DARI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)  
Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Oleh:**

**Nanda Novika Rahmadhani  
19133809A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh  
Nanda Novika Rahmadhani  
19133809 A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 15 Januari 2018



Dekan,

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing Utama

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.  
Pembimbing Pendamping,

D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.

Penguji :

1. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

1. .....

2. Dr. Jason Merari Peranginangin, MM., M.Si., Apt

2. .....

3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si

3. .....

4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt

4. .....

## HALAMAN PERSEMBAHAN



*Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akhirat, maka wajib baginya memiliki ilmu dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu*

**(HR. Tirmidzi)**

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”*

**(QS. Al-Insyirah 6-8)**

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

- ✓ Allah SWT yang telah memberikan kesehatan, kesempatan dan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ✓ Bapak (H. Rudiono), Mama (Elvy Supiana), Adikku (K.N. Habibi) dan seluruh keluarga yang aku sayangi, terimakasih telah memberikan doa, semangat, dan motivasi untuk masa depan yang lebih baik.
- ✓ Dosen pembimbingku, Ibu Mamik Ponco Rahayu, dan Bapak D. Andang Arif Wibawa, terimakasih telah sabar membimbing dan meluangkan waktu untuk membagi ilmunya.
- ✓ Almamater, Agama, Bangsa, dan Negara.

## PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 15 Januari 2018



Nanda Novika Rahmadhani

## KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Skripsi ini ditulis guna memenuhi persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi di Universitas Setia Budi.

Dalam kesempatan ini pula dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat, penulis mengucapkan terimakasih baik kepada pihak-pihak yang terlibat langsung maupun tidak, khususnya kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah berkenan meluangkan waktu guna memberikan bimbingan, pengarahan serta nasihat dalam menyusun Skripsi ini.
4. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si., selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bantuan berupa bimbingan, serta motivasi, dalam menyelesaikan Skripsi ini.
5. Fransiska Leviana, M.Si., Apt selaku Penguji 1 yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran, masukan dan pengarahan demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini.
6. Dr. Jason Merari Peranginangin, M.M., M.Si., Apt sebagai Penguji 2 yang telah memberikan bimbingan dan nasehat demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini.
7. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si sebagai penguji 3 yang telah memberikan bimbingan dan nasehat demi kesempurnaan penulisan Skripsi ini

8. Seluruh dosen, staf perpustakaan dan staf karyawan laboratorium yang telah meluangkan waktunya untuk mendampingi praktek skripsi ini dengan sabar sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
9. Kepada kedua orang tuaku, adikku, dan semua keluargaku yang selalu memberikan doa, semangat dan kasih sayang.
10. Sahabatku (hani, mita, devi, dika, diana, adhe), teman-temanku (dian, limen, kiki, maul, ima, devi dan semuanya) dan kamu yang selalu memberikan semangat.
11. Teman-teman Teori 2 angkatan 2013 dan FKK 2.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak keterbatasan dan kekurangan yang ada, dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan sumbangan saran dan masukan yang bersifat membangun demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini. Sebagai akhir, penulis mengucapkan permohonan maaf atas segala kekurangan, dan kekhilafan yang ada.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Surakarta, 15 Januari 2018

Nanda Novika Rahmadhani





## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Kegunaan Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Umbi Bawang Dayak ( <i>Eleutherine palmifolia</i> (L) Merr) .....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama daerah .....	5
3. Morfologi tanaman .....	6
4. Kegunaan tanaman .....	6
5. Kandungan kimia .....	6
5.1 Alkaloid .....	6
5.2 Flavonoid .....	7
5.3 Steroid.....	7
5.4 Tanin.....	7
5.5 Polifenol .....	7
B. Simplisia.....	7
1. Pengertian simplisia .....	7

2.	Pengeringan simplisia.....	8
C.	Metode Penyarian .....	8
1.	Ekstraksi .....	8
2.	Maserasi.....	8
3.	Fraksinasi.....	9
4.	Pelarut.....	9
4.1	Etanol.....	9
4.2	<i>n</i> -Heksana .....	9
4.3	Etil asetat .....	10
4.4	Air .....	10
D.	Kromatografi Lapis Tipis .....	10
E.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
1.	Sistematika bakteri .....	11
2.	Morfologi dan identifikasi .....	11
3.	Patogenesis dan patologi .....	11
F.	Antibakteri.....	12
1.	Definisi .....	12
2.	Mekanisme kerja antibakteri.....	12
2.1	Menghambat dinding sel bakteri .....	12
2.2	Menghambat fungsi membran sel bakteri.....	12
2.3	Menghambat sintesis protein sel bakteri.....	13
2.4	Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri .....	13
2.5	Menghambat metabolisme sel bakteri .....	13
G.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	13
1.	Metode difusi .....	14
2.	Metode dilusi .....	14
H.	Media .....	14
1.	Pengertian media .....	14
2.	Klasifikasi media.....	15
2.1	Klasifikasi berdasarkan sumber nutrisinya .....	15
2.2	Klasifikasi berdasarkan bentuk fisik .....	15
2.3	Klasifikasi berdasarkan komposisi kimia .....	15
2.4	Klasifikasi berdasarkan perbedaan pertumbuhan.....	16
2.5	Klasifikasi berdasarkan seleksi .....	16
2.6	Klasifikasi berdasarkan rewel ( <i>fastidious</i> ).....	16
I.	Sterilisasi .....	16
J.	Siprofloksasin .....	16
K.	Landasan Teori .....	17
L.	Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN .....		21
A.	Populasi dan Sampel.....	21
1.	Populasi .....	21
2.	Sampel .....	21
B.	Variabel Penelitian.....	21
1.	Identifikasi variabel utama .....	21

2.	Klasifikasi variabel utama .....	22
3.	Variabel operasional variabel utama .....	22
C.	Bahan dan Alat .....	23
1.	Bahan .....	23
2.	Alat .....	24
D.	Jalannya Penelitian .....	24
1.	Determinasi tanaman .....	24
2.	Pembuatan serbuk umbi bawang dayak .....	24
3.	Penetapan kadar air .....	24
4.	Pembuatan ekstrak etanol .....	25
5.	Pengujian kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak.....	25
5.1	Alkaloid .....	25
5.2	Flavonoid .....	26
5.3	Steroid.....	26
5.4	Tanin.....	26
5.5	Polifenol.....	26
6.	Fraksinasi.....	26
7.	Sterilisasi.....	26
8.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	27
9.	Identifikasi bakteri uji.....	27
9.1	Identifikasi secara goresan.....	27
9.2	Identifikasi mikroskopis secara morfologi. ....	27
9.3	Identifikasi biokimia.....	28
10.	Pengujian aktivitas antibakteri .....	28
11.	Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT .....	29
11.1	Identifikasi flavonoid .....	30
11.2	Identifikasi alkaloid.....	30
11.3	Identifikasi tanin .....	30
11.4	Identifikasi polifenol. ....	30
E.	Analisis Hasil .....	30
F.	Skema Jalannya Penelitian .....	31

#### BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... 36

1.	Hasil determinasi tanaman bawang dayak ( <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.) .....	36
2.	Pembuatan serbuk umbi bawang dayak .....	36
2.1	Pengambilan umbi bawang dayak.....	36
2.2	Pengeringan umbi bawang dayak .....	36
3.	Hasil penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak .....	37
4.	Hasil pembuatan ekstrak umbi bawang dayak.....	38
5.	Uji kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak.....	38
6.	Fraksinasi ekstrak umbi bawang dayak.....	40
6.1	Fraksi <i>n</i> -heksana .....	40
6.2	Fraksi etil asetat .....	41

6.3 Fraksi air .....	41
7. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara goresan.....	42
8. Hasil identifikasi mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara morfologi.....	42
9. Identifikasi biokimia.....	43
9.1 Uji katalase. ....	43
9.2 Uji koagulase. ....	44
10. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	44
11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	45
12. Identifikasi fraksi paling aktif secara KLT .....	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	 51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran .....	51
 DAFTAR PUSTAKA .....	 52
 LAMPIRAN .....	 56

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Umbi bawang dayak ( <i>Eleutherine palmifolia</i> (L) Merr) .....	5
Gambar 2. Ekstraksi dan fraksinasi umbi bawang dayak .....	31
Gambar 3. Skema jalannya penelitian .....	32
Gambar 4. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari umbi bawang dayak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	33
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak umbi bawang dayak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 metode dilusi.....	34
Gambar 6. Skema kerja pembandingan antibiotik siprofloksasin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 metode dilusi. ....	35
Gambar 7. Hasil secara goresan .....	42
Gambar 8. Hasil mikroskopis .....	43
Gambar 9. Hasil uji katalase.....	44
Gambar 10. Hasil uji koagulase.....	44

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah umbi bawang dayak .....	37
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air pengeringan serbuk umbi bawang dayak .....	37
Tabel 3. Rendemen ekstrak umbi bawang dayak .....	38
Tabel 4. Hasil uji kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak .....	39
Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air umbi bawang dayak .....	40
Tabel 6. Rendemen fraksi <i>n</i> -heksana.....	41
Tabel 7. Rendemen fraksi etil asetat.....	41
Tabel 8. Rendemen fraksi air .....	41
Tabel 9. Diameter hambat pada uji antibakteri umbi bawang dayak terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	45
Tabel 10. Hasil pengujian antibakteri fraksi teraktif etil asetat dan pembanding siprofloksasin terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	48
Tabel 11. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman.....	57
Lampiran 2. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah.....	59
Lampiran 3. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak .....	60
Lampiran 4. Perhitungan rendemen umbi bawang dayak secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% .....	61
Lampiran 5. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air umbi bawang dayak.....	62
Lampiran 6. Hasil preparasi sampel.....	64
Lampiran 7. Hasil tes bebas etanol .....	65
Lampiran 8. Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi umbi bawang dayak .....	66
Lampiran 9. Hasil fraksinasi.....	67
Lampiran 10. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	68
Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	69
Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi.....	70
Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air metode difusi .....	72
Lampiran 14. Pembuatan larutan stok fraksi etil asetat metode dilusi .....	73
Lampiran 15. Pembuatan larutan stok pembanding siprofloksasin metode dilusi.....	74
Lampiran 16. Foto hasil identifikasi golongan senyawa fraksi etil asetat dengan Kromatografi Lapis Tipis .....	76
Lampiran 17. Perhitungan Rf .....	78

Lampiran 18. Gambar alat yang digunakan .....	79
Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media .....	81
Lampiran 20. Hasil data difusi secara ANOVA <i>one way</i> .....	82



## INTISARI

**RAHMADHANI, N.N., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) berkhasiat untuk obat jerawat, bisul dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, dan ekstrak etanol umbi bawang dayak sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Umbi bawang dayak diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi diuji antibakteri dengan menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 12,5%; 25%; 50% dan metode dilusi dengan konsentrasi 0,781%; 1,563%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%. Data yang diperoleh dilakukan analisa statistik menggunakan *one way* ANOVA dilanjutkan uji Tukey.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi etil asetat konsentrasi 50% dari ekstrak etanol umbi bawang dayak memiliki aktivitas antibakteri teraktif dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 6,2% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

Kata kunci : umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibakteri, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air

## ABSTRACT

**RAHMADHANI, N.N., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE, AND WATER FRACTION OF BAWANG DAYAK TUBER'S EXTRACT (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) efficacious to, acne medication, ulcers and others. This study aims to determine the activity of the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate, water, and ethanolic extract of bawang dayak's tuber as antifungal against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bawang dayak's tuber was extracted by maceration method used ethanol 96%, then proceed with fractionation used *n*-hexane, ethyl acetat, and water solvents. The extraction and fractionation was tested for antibacterial used diffution method by serial concentrations of 12,5%; 25%; 50% and dilution method with concentration of 0,781%; 1,563%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%. Data were analyzed using *one way* ANOVA and continued Tukey test.

The results showed that the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate, and water from bawang dayak's tuber ethanol extract had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The ethyl acetate fraction concentration of 50% of bawang dayak's tuber ethanol extract had the most active antibacterial activity with Minimum Kill Concentration (KBM) of 6.2% against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

Keywords: bawang dayak's tuber (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial, *n*-hexane fraction, ethyl acetat fraction, water fraction

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Kulit merupakan barrier yang sangat efektif terhadap mikroba karena kulit sering mengalami gesekan dan gosokan walaupun terlihat utuh tetapi sering terjadi retak maupun luka kecil hal tersebut yang menjadi tempat masuknya bakteri yang berkembang dan menimbulkan reaksi jaringan dan cidera sehingga menyebabkan infeksi (Tambayong 2000). Salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia yang dapat menyebabkan sepsis pada luka, bisul atau abses setempat, jerawat, dan lesi-lesi kulit pada bayi dengan derajat keparahan yang beragam, dari infeksi kulit ringan hingga infeksi berat. *Staphylococcus aureus* selain itu mempunyai sifat dapat menghemolisa darah. Infeksi yang ditimbulkan dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe (Jawetz *et al.* 2005).

Pemberian antibiotik merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dapat menimbulkan bakteri yang multiresisten (Wardani 2008). Peranan obat tradisional lebih dapat ditingkatkan dengan upaya pengenalan, penelitian, pengujian, dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan berkhasiat obat dengan disertakan ilmu farmakologi, kimia, biokimia, dan obat. Tanaman obat tradisional harus dilakukan uji klinis dan dibuat ilmiah untuk mengangkat pengobatan tradisional sehingga dapat memberikan sumbangan untuk bangsa dan untuk dunia (Wijayakusuma 2000).

Penggunaan bahan obat dari bahan alam menjadi alternatif pengobatan untuk mengatasi penyakit kulit. Salah satu tumbuhan obat yang telah digunakan secara empiris adalah bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) dikenal juga dengan nama bawang sabrang atau bawang hantu atau bawang tiwai, merupakan tumbuhan khas Kalimantan. Tumbuhan ini secara turun temurun telah dipergunakan oleh masyarakat Dayak sebagai tumbuhan obat yaitu obat berbagai

jenis penyakit seperti kanker payudara, obat penurun darah tinggi (hipertensi), penyakit kencing manis (diabetes mellitus), penurun kolesterol, obat jerawat, dan bisul, kanker usus, mencegah stroke (Galingging 2009).

Tumbuhan ini memiliki banyak khasiat karena memiliki kandungan kimia, umbi bawang dayak ini dilaporkan mengandung senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, kuinon, minyak atsiri, polifenol, steroid, monoterpenoid, dan tanin (Puspawati *et al.* 2013). Umbi bawang dayak mengandung senyawa senyawa *naphthoquinones* dan turunannya seperti *elecanacine*, *eleutherine*, *eletherol*, *eleuthrone*. *Naphthoquinones* dikenal sebagai antimikroba, antifungal, antiviral, dan antiparasitik (Alia 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80% mampu menghambat *Enterococcus faecalis* dengan diameter 14,08 mm, 16,35 mm, 18,26 mm, 19,30 mm, dan 21,28 mm (Sari *et al.* 2017). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang dayak konsentrasi 30 mg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter (14,5±2,6) mm (Padhi & Panda 2015). Penelitian Subramaniam (2012) mengatakan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol umbi bawang dayak yang menggunakan metode difusi untuk bakteri patogen methicillin resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi 50 µl, 75 µl, 100 µl, menghasilkan zona hambat 14 mm, 17 mm, 33 mm.

Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan difraksinasi dengan *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada umbi bawang dayak mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi.

Metode yang digunakan untuk menguji *Staphylococcus aureus* metode difusi untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat sehingga dapat diketahui fraksi teraktif, kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk

menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari fraksi teraktif umbi bawang dayak.

### **B. Perumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, manakah dari fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) yang menunjukkan aktivitas antibakteri teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum dari fraksi yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui dan membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang teraktif diantara fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum dari fraksi yang paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan untuk pemanfaatan umbi bawang dayak sebagai obat antibakteri. Khususnya di bidang obat-obatan tradisional dapat

digunakan sebagai masukan dalam pengembangan obat-obat fitofarmaka. Bagi peneliti diharapkan memberikan bukti ilmiah tentang manfaat fraksi dari ekstrak etanol umbi bawang dayak sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr)

#### 1. Sistematika tanaman

Menurut Depkes (2001), klasifikasi secara lengkap dari tanaman umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Iridaceae
Marga	: Eleutherine
Jenis	: <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.



**Gambar 1.** Umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) ([bawangdayak.org](http://bawangdayak.org))

#### 2. Nama daerah

Nama daerah dari tumbuhan bawang dayak adalah bawang sabrang, bawang hantu (Kalimantan Tengah), bawang kapal (Sumatera), brambang

sabrang, luluwan sapi, teki sabrang, bebawangan beureum, bawang siem (Jawa) (Galingging 2009).

### **3. Morfologi tanaman**

Bawang dayak merupakan terna yang merumpun sangat kuat dengan tinggi 26 hingga 50 cm. Umbi berada di bawah tanah berbentuk bulat telur memanjang dan berwarna merah. Terdiri dari  $\pm 5$  lapisan, dengan panjang  $\pm 5$  cm. Bunga berwarna putih, mekar jam lima sore hari dan jam tujuh menutup kembali. Daun tunggal, letak daun berhadapan, warna daun hijau muda, bentuk daun sangat panjang dan meruncing (*acicular*), tepi daun halus tanpa gerigi (*entire*), pangkal daun berbentuk runcing (*acute*) dan ujung daun meruncing (*acuminate*) permukaan daun atas dan bawah halus (*glabrous*), tulang daun paralel atau sejajar (Krismawati & Sabran 2004; Puspawati *et al.* 2013).

### **4. Kegunaan tanaman**

Umbi bawang dayak dapat digunakan sebagai antimelanogenesis dan sebagai antioksidan (Arung *et al.* 2009), diabetes melitus, hipertensi, menurunkan kolesterol, kanker payudara (Galingging 2009). Penelitian yang dilakukan umbi tanaman ini dapat direkomendasikan sebagai herbal antimikroba kulit (Puspawati *et al.* 2013) dan ekstrak umbi bawang dayak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Padhi & Panda 2015).

### **5. Kandungan kimia**

Tumbuhan ini memiliki banyak khasiat karena memiliki kandungan kimia, umbi bawang dayak ini dilaporkan mengandung senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, kuinon, polifenol, steroid, monoterpenoid, dan tanin (Puspawati *et al.* 2013).

**5.1 Alkaloid.** Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan berinteraksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga mengalami kerusakan, mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Nimah *et al.* 2012).



**5.2 Flavonoid.** Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam dapat larut dalam basa. Flavonoid juga memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Dewanti & Wahyudi 2011). Aktivitas antibakteri flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan dinding sel. Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel bakteri semakin kuat (Junanto *et al.* 2008).

**5.3 Steroid.** Steroid berpotensi sebagai senyawa antibakteri karena merupakan golongan atau turunan dari senyawa terpenoid. Steroid memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel bakteri tersebut rusak (Nimah *et al.* 2012).

**5.4 Tanin.** Tanin merupakan senyawa polar sehingga tanin dapat larut dalam air dan alkohol (Doughari 2012). Terapi di dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambeien. Tanin merupakan senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu berdasarkan tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrofilik terutama asam, tanin terkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis (Ismarani 2012).

**5.5 Polifenol.** Polifenol adalah golongan senyawa yang sifatnya polar, dapat larut dalam gliserol, alkohol, air dan aseton, tetapi tidak larut dalam kloroform, eter dan benzene (Artati & Fadilah 2007). Mekanisme kerja polifenol sebagai antibakteri adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas terhadap sel itu sendiri, akibat terganggunya permeabilitas dari sel, sel tidak dapat melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat (Dewanti & Wahyudi 2011).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa

bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

## **2. Pengeringan simplisia**

Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air sampai bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan simplisia, dilakukan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pengeringan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena lebih mudah dan murah (Gunawan & Mulyani 2004).

## **C. Metode Penyarian**

### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Diketahui senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah diserap oleh pelarut, karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu, dan kulit akar susah diserap oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai halus (Depkes 2000).

### **2. Maserasi**

Maserasi adalah suatu cara penyarian simplisia dengan cara merendam simplisia tersebut dalam pelarut (Syamsuni 2006). Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali

pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Prinsip metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI 2000). Keuntungan metode maserasi adalah prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes 2007).

### **3. Fraksinasi**

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

### **4. Pelarut**

Pemilihan cairan pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

**4.1 Etanol.** Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Hampir semua mengidentifikasi komponen aktif dari tanaman terhadap mikroorganisme yang aromatik atau jenuh. Senyawa organik diperoleh melalui etanol awal atau ekstraksi metanol. Metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol karena sifat metanol lebih sitotoksik, hal ini tidak cocok untuk ekstraksi dalam beberapa jenis penelitian karena mengakibatkan salah hasil (Tiwari *et al.* 2011). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid dan klorofil (Depkes 2005).

**4.2 *n*-Heksana.** Pelarut *n*-heksana merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak

berwarna atau pucat, transparan, bersifat mudah terbakar, dan bau khas, tidak dapat larut dalam air, hanya dapat larut dalam alkohol benzene, kloroform, eter. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al.* 2011).

**4.3 Etil asetat.** Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah. Etil asetat dapat larut dalam 15 bagian air, dan dapat tercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Etil asetat ialah pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah yang tertutup rapat serta terhindar dari panas. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakinin, dan xantin (Harbone 2006).

**4.4 Air.** Air adalah pelarut universal, digunakan untuk ekstrak tanaman dengan produk aktivitas antimikroba. Ekstrak tumbuh-tumbuhan organik dari pelarut telah memberikan aktivitas antimikroba yang lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat aktif ikut tersari sehingga zat yang diperlukan mengganggu proses penyarian (Tiwari *et al.* 2011). Air dapat melarutkan garam, alkaloid, tanin, gula, pati, enzim, zat warna dan asam organik (Depkes 2005).

#### **D. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode pemisahan dan alat uji senyawa kimia secara kualitatif dan kuantitatif. Senyawa yang diuji dapat berupa senyawa tunggal maupun campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi, dari hewan percobaan, maupun dari tanaman dan mikroorganisme. Kromatografi lapis tipis merupakan metode yang mudah penggunaannya, murah, dan selektif, walaupun sekarang telah dikembangkan (Sumarno 2000).

Beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak harus mempunyai kemurnian tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Kedua, daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga  $R_f$  terletak antara 0,2 - 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan. Ketiga, untuk

pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai Rf. Penambahan pelarut yang bersifat polar seperti dietil eter kedalam pelarut non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga Rf secara signifikan. Keempat, solut-solut ionik dan solut – solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dalam metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solut-solut yang bersifat basa dan asam (Sastrohamidjojo 2001).

### **E. *Staphylococcus aureus***

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

Menurut Salle (1961), sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Divisio : Schizomycota  
 Class : Schizomycetes  
 Ordo : Eubacteriales  
 Famili : Micrococcaceae  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Species : *Staphylococcus aureus*

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

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, yang memiliki bentuk bulat, berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$  yang tersusun secara tidak teratur seperti buah anggur (Jawetz *et al.* 2010). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas. Bakteri ini akan mati pada suhu 60°C setelah 60 menit. Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak mampu membentuk spora, tidak bergerak, fakultatif aerob dan sangat tahan pengeringan (Entjang 2003).

#### **3. Patogenesis dan patologi**

Bakteri *Staphylococcus aureus* masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat, atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen

mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernaahan yang bersifat menahun dan timbul radang (Suryono 2007). Infeksi akan lebih berat jika menyerang anak-anak, usia lanjut, dan orang yang daya tahan tubuhnya menurun seperti pada penderita diabetes dan luka bakar (Entjang 2003).

## F. Antibakteri

### 1. Definisi

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri pada umumnya, khususnya yang bersifat patogen pada manusia. Antibakteri berdasarkan toksisitas selektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan membunuh (bakterisid) (Radji 2010).

### 2. Mekanisme kerja antibakteri

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

**2.1 Menghambat dinding sel bakteri**, dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau merusaknya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (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 terjadilah kematian bakteri. Antibiotik polimiksin bekerja dengan merusak membran sel yang berisi fosfatidiletanolamina, yang merupakan komponen utama penyusun membran sel

bakteri. Asam nalidiksik bekerja mengganggu fungsi biosintesis dari membran sitoplasma. Daptomisin bekerja sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan dengan membran sel dan menyebabkan depolarisasi sehingga menurunkan kemampuan 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 adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan menghambat sintesis protein sel bakteri adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, glisilisiklin, 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. Rifampin bekerja dengan membentuk ikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Jawetz *et al.* 2010).

**2.5 Menghambat metabolisme sel bakteri.** Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikutsetakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan kematian bakteri (Ganiswarna 2005).

## **G. Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz *et al.* 2010).

## **1. Metode difusi**

Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram (*disk*) yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang 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 ditentukan aktivitas antibakterinya berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami biakan bakteri uji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri. Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotika pada cakram atau silinder, sensitivitas organisme terhadap antibiotika, dan interaksi antibiotika dengan media. Metode cakram atau silinder difusi dapat mewakili prosedur sederhana untuk menyelidiki zat dalam menentukan apakah mereka signifikan dan mempunyai aktivitas antibiotika yang berguna (Harmita & Radji 2005).

## **2. Metode dilusi**

Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antimikroba dicampurkan dalam pembenihan mikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau padat, kemudian diinkubasi untuk mencari konsentrasi hambat dan konsentrasi bunuh minimum (Jawetz *et al.* 2008). Keuntungan metode dilusi yaitu memungkinkan adanya suatu hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat yang diperlukan untuk menghambat dan membunuh bakteri yang diperiksa. Kekurangannya adalah dapat mempersulit pengamatan, membutuhkan alat yang banyak, dan tidak praktis (Jawetz *et al.* 2010).

## **H. Media**

### **1. Pengertian media**

Media adalah suatu bahan yang berisi sumber nutrisi penting untuk menumbuhkan 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 tembaga, media tidak memberikan sumber udara, seperti oksigen dan karbon dioksida, tetapi biasanya sudah tersedia di dalam wadah untuk kultur (Sutarma 2000; Leboffe & Pierce 2011).

## **2. Klasifikasi media**

Ditinjau dari sudut keperluan atau kegunaan dan sifat-sifatnya, media digolongkan menjadi 6 klasifikasi berdasarkan sumber nutrisinya, bentuk fisik, komposisi kimia, perbedaan pertumbuhan bakterinya, dapat menyeleksi atau menghambat bakteri yang tak diinginkan serta dapat tidaknya menumbuhkan bakteri yang rewel (Sutarma 2000).

**2.1 Klasifikasi berdasarkan sumber nutrisinya.** Media dibagi menjadi dua yaitu alamiah dan buatan. Media dengan sumber nutrisi alamiah contohnya susu, telur, dan kentang. Media dengan sumber nutrisi buatan contohnya *nutrien agar*, *tryptic soy agar*, *heart infusion agar* (Sutarma 2000).

**2.2 Klasifikasi berdasarkan bentuk fisik.** Media dibagi menjadi tiga yaitu cair, setengah padat (*semi solid*), dan padat. Media cair sering digunakan untuk membuat kultur baru contohnya *nutrien broth* dan *triptosa broth*. Media setengah padat yaitu media yang mengandung agar 0,3 - 0,4 % sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, dan tidak begitu cair contohnya *amies transport medium*, dan *stuart transport medium*. Medium setengah padat dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami pencampuran sempurna jika tergoyang. Media padat digunakan untuk mengisolasi biakan murni contohnya *nutrient agar* dan *triptosa agar* (Sutarma 2000; Leboffe & Pierce 2011).

**2.3 Klasifikasi berdasarkan komposisi kimia.** Media dibagi menjadi dua yaitu kelompok dan sintetik. Media kompleks contohnya *muller hinton agar* dan *nutrien agar*. Media sintetik contohnya *dorset henley* (Sutarma 2000).

**2.4 Klasifikasi berdasarkan perbedaan pertumbuhan.** Media yang memiliki sifat dapat membedakan (*diferensial*) bakteri yang dibiakkan media tersebut, contohnya *eosin methilen blue agar* dan *mac conkey agar* (Sutarma 2000).

**2.5 Klasifikasi berdasarkan seleksi.** Media memiliki sifat dapat memilih atau selektif bakteri yang ditumbuhkan sehingga hanya bakteri tertentu saja yang bisa tumbuh di media tersebut, contohnya *briliant green agar*, *salmonella shigella agar*, *bismuth sulsulfite agar* (Sutarma 2000).

**2.6 Klasifikasi berdasarkan rewel (fastidious).** Sifat media yang digunakan adalah diperkaya. Media diperkaya adalah media yang ditambahkan penyubur ke dalamnya, penyubur yang biasa dipakai antara lain: darah domba atau sapi, serum ayam atau sapi dan suplemen tertentu. Contoh media diperkaya adalah blood agar dan serum agar (Sutarma 2000).

## I. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang dipergunakan 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). Cara sterilisasi yang umum digunakan antara lain sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan, penggunaan sinar X, dan penggunaan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter (Suriawiria 2005).

## J. Siprofloksasin

Sebagian besar galur *Staphylococcus* sudah resisten terhadap berbagai antibiotik, seperti penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin, sehingga perlu diberikan antibiotik berspektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksisilin, dan tetrasiklin (Jawetz *et al.* 2005).

Siprofloksasin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan asam nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas

antibakteri yang lebih besar dan spektrum yang lebih luas dibanding asam tersebut. Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa DNA bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *P. Mirabillis*, *Klebsiella sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif tertentu, seperti *Stapylococcus sp*, dan *streptococcus sp*. (Siswandono & Soekardjo 2008).

### **K. Landasan Teori**

Penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat adalah infeksi kulit yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* (Oktalia 2009). *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia yang dapat menyebabkan sepsis pada luka, bisul atau abses setempat, dan jerawat (Jawetz *et al.* 2005). Pengobatan dengan antibiotik dapat memusnahkan bakteri penyebab infeksi, tetapi dapat menimbulkan permasalahan yaitu timbulnya bakteri yang resisten sehingga mendorong peneliti untuk mencari obat baru yang lebih efektif untuk penyakit infeksi (Saepudin *et al.* 2007).

Tanaman adalah sumber yang paling penting untuk pengembangan obat baru karena pengakuan yang berkembang bahwa produk alami tidak beracun, memiliki efek samping yang lebih sedikit dan tersedia dengan harga terjangkau (Dahanukar *et al.* 2000). Salah satunya umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dapat digunakan untuk mengobati, obat jerawat dan bisul (Galingging 2009).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80% mampu menghambat *Enterococcus faecalis* dengan diameter 14,08 mm, 16,35 mm, 18,26 mm, 19,30 mm, dan 21,28 mm (Sari *et al.* 2017). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang dayak konsentrasi 30 mg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri

*Staphylococcus aureus* dengan diameter ( $14,5 \pm 2,6$ ) mm (Padhi & Panda 2015). Penelitian Subramaniam (2012) mengatakan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol umbi bawang dayak yang menggunakan metode difusi untuk bakteri patogen methicillin resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi 50  $\mu$ l, 75  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, menghasilkan zona hambat 14 mm, 17 mm, 33mm. Kandungan kimia umbi bawang dayak adalah alkaloid, polifenol, flavonoid, tanin, steroid dan minyak atsiri (Puspawati *et al.* 2013).

Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel antibakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian (Alamsyah *et al.* 2014). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan membentuk kompleks dengan dinding sel (Junanto *et al.* 2008). Steroid memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel bakteri tersebut rusak (Nimah *et al.* 2012). Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Ajizah 2004). Polifenol dapat mengkerutkan dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas sel sehingga pertumbuhannya terhambat (Dewanti & Wahyudi 2011).

Umbi bawang dayak secara empiris digunakan sebagai obat jerawat, bisul, dan memiliki aktivitas antibakteri, namun belum ada bukti bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air ekstrak umbi bawang dayak dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus*.

Metode maserasi menggunakan cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana dan mudah didapat karena hanya merendam simplisia saja, namun kelemahannya pengerjaan lama dan penyarian kurang sempurna (Anief 2003). Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama yang lain, merupakan suatu pemisahan berdasarkan kepolaran dalam suatu tanaman. Pemisahan jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda-beda

polaritasnya. (Harbone 2006). Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi dalam penelitian ini adalah, *n*-heksana, etil asetat, dan air. *n*-heksana merupakan pelarut non polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Tiwari *et al.* 2011). Etil asetat merupakan pelarut yang digunakan pelarut yang semi polar, mudah menguap dan terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Senyawa yang mudah larut dalam pelarut ini adalah alkaloid, flavonoid, senyawa-senyawa fenol-fenol, asam fenolat (Harbone 2006). Air dapat melarutkan garam, alkaloid, tanin, gula, pati, enzim, zat warna dan asam organik (Depkes 2005).

Penelitian ini menggunakan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, yang memiliki bentuk bulat, berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$  yang tersusun secara tidak teratur seperti buah anggur (Jawetz *et al.* 2010). Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak mampu membentuk spora, tidak bergerak, fakultatif aerob dan sangat tahan pengeringan (Entjang 2003).

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui diameter daerah hambatan jernih yang mengelilingi cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa sehingga dapat diketahui fraksi teraktif, kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk menentukan konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum.

## L. Hipotesis

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) yang memiliki aktivitas antibakteri paling teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, ada konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum tertentu dari fraksi yang paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) yang didapat dari Kecamatan Kumai, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) yang diambil dari Kecamatan Kumai, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah. Bawang dayak yang diambil adalah umbinya dalam kondisi daun berwarna kekuningan dan pada musim kemarau.

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

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

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol umbi bawang dayak.

Variabel utama kedua adalah fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak.

Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi.

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

Variabel utama kelima adalah uji aktivitas antibakteri dari fraksi teraktif dengan metode dilusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Variabel utama keenam adalah senyawa yang terdapat pada fraksi teraktif sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## 2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) yang diperoleh dari ekstraksi dengan cara maserasi dengan etanol, fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air dengan berbagai konsentrasi, dan uji aktivitas antibakteri.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas yaitu kondisi pengamatan secara mikrobiologis, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril, media yang digunakan dalam penelitian dan metode penelitian, tempat tumbuh tanaman dan waktu panen.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung adalah aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi yang ditunjukkan sebagai KHM dan KBM.

## 3. Variabel operasional variabel utama

Pertama, umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) yang di ambil dari Kecamatan Kumai, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah, umbi bawang dayak yang telah berumur 3-4 bulan pasca tanam, dalam kondisi daun kekuningan dan pada musim kemarau.

Kedua, serbuk umbi bawang dayak adalah serbuk yang diperoleh dengan cara dipisahkan antara batang dan akarnya, dicuci bersih, ditiriskan hingga kadar airnya sedikit berkurang, dan dikeringkan dengan cara di oven pada suhu 50<sup>0</sup>C dengan parameter kandungan air kurang dari 10%, kemudian di grinding dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) adalah hasil ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Keempat, fraksi *n*-heksana umbi bawang dayak adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol umbi bawang dayak menggunakan pelarut *n*-heksana.



Kelima, fraksi etil asetat umbi bawang dayak adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air umbi bawang dayak adalah residu hasil proses fraksinasi ekstrak etil asetat.

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

Kedelapan, metode difusi adalah dengan menggunakan cakram disk yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanol, kontrol (+) (siprofloksasin) dan kontrol (-) (DMSO 5%).

Kesembilan, diameter hambat adalah daerah dimana bakteri terhambat karena pertumbuhannya akibat adanya antibakteri.

Kesembilan uji aktivitas antibakteri adalah uji yang ditentukan dengan metode dilusi. Metode dilusi yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yang menurun secara bertahap. Konsentrasi satu seri pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%, kontrol positif (+) (suspensi bakteri) dan kontrol negatif (fraksi teraktif). Kontrol positif adalah yang menunjukkan keberadaan bakteri dan kontrol negatif adalah yang menunjukkan ketidakberadaan bakteri.

Kesepuluh, KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan melihat bakteri pada medium pada goresan cawan petri.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

Bahan sampel dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Bakteri Heart Infusion* (BHI) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA). Obat perbandingan yang digunakan adalah antibiotik siprofloksasin.

Bahan lain yang digunakan adalah DMSO 5%, *n*-heksana, etil asetat, etanol 96%, kalium tellurite, air suling steril, asetat anhidrat, HCl, asam sulfat pekat, kloroform, reagen Mayer, reagen Dragendorf, FeCl<sub>3</sub>, metanol, benzen, uap amoniak, minyak imersi, lempeng KLT dengan fase diam Silika Gel GF254, Gram A, Gram B, Gram C, Gram D.

## **2. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling (grinder), timbangan analitik, oven, ayakan nomor 40, botol coklat, inkas, ose platina, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, *rotary evaporator*, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume (1 ml dan 0,5 ml), mikropipet, siring, beaker glass, pinset, inkubator, kain flanel, kertas koran, corong kaca, autoklaf, corong pisah, kertas saring, water bath, blank disk mm (Oxoid), lampu spritus, alat *Sterling bidwell*, kapas lidi steril, kaki tiga, kaca objek, vial, dan mikroskop.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian adalah melakukan determinasi tanaman umbi bawang dayak untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret.

### **2. Pembuatan serbuk umbi bawang dayak**

Umbi bawang dayak dipisahkan antara batang dan akarnya. Kemudian bagian umbi yang telah dipisahkan dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan dari pengotoran. Selanjutnya, umbi bawang dayak yang telah dicuci ditiriskan hingga kadar airnya sedikit berkurang, kemudian dirajang. Umbi bawang dayak dikeringkan dengan cara di oven pada suhu 50<sup>0</sup>C, kemudian umbi bawang dayak yang sudah kering dihaluskan dengan mesin grinding sampai halus dan diayak dengan ayakan nomor 40.

### **3. Penetapan kadar air**

Penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak dilakukan menggunakan alat *Sterling bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk umbi

bawang dayak 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylene sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *sterling bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan *sterling bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Depkes 2008).

#### **4. Pembuatan ekstrak etanol**

Serbuk umbi bawang dayak sebanyak 900 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi, dengan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 6750 ml. Campuran didiamkan selama 5 hari sambil sesekali digojog. Hasil rendaman disaring, kemudian ampas dibilas dengan pelarut sebanyak 2250 ml, kemudian dipekatkan dengan evaporator sampai didapat ekstrak kental. Hasil rendemen yang diperoleh ditimbang dan dicatat (Depkes 1986).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Purwani 2013).

#### **5. Pengujian kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak**

Preparasi pembuatan larutan sampel dengan cara sampel dan akuadestilata dicampurkan kemudian dipanaskan, hasil larutan dapat diujikan. Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam umbi bawang dayak. Identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan polifenol dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

**5.1 Alkaloid.** Masing-masing sampel uji ditambahkan dengan sedikit larutan HCl 2N, kemudian dilanjutkan dengan 2 sampai 4 tetes Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 2005).

**5.2 Flavonoid.** Masing-masing sampel uji dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes asam klorida pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan Flavonoid positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada larutan sampel (Harbone 2006).

**5.3 Steroid.** Masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 5 ml eter kemudian diuapkan di dalam cawan penguap. Residu yang didapat ditambahkan dengan 2 tetes asam asetat anhidrat, kemudian 1 tetes asam sulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna merah hijau, hijau biru atau violet biru (Farnsworth 1996).

**5.4 Tanin.** Masing-masing sampel uji ditambahkan pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Robinson 1995).

**5.5 Polifenol.** Masing-masing sampel uji dilarutkan dalam 10 ml air panas dididihkan selama 5 menit, 1ml filtrat ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Reaksi positif jika terbentuk warna hijau violet, hijau merah, ungu, biru tua, biru kehitaman, hitam kehijauan (Farnsworth 1996).

## **6. Fraksinasi**

Ekstrak kental umbi bawang dayak difraksinasi menggunakan pelarut air, etil asetat, dan *n*-heksana. Sebanyak 10 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarut air 75 ml, kemudian dimasukkan kedalam corong pisah, ditambahkan *n*-heksana 75 ml dan diekstraksi cair-cair sebanyak 3 kali, fase *n*-heksana terletak di atas dan fase air terletak di bawah. Fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. Hasil yang didapat adalah hasil fraksi etil asetat yang terletak di atas dan fraksi air dibagian bawah kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sedangkan fraksi air dipekatkan dalam *waterbath*.

## **7. Sterilisasi**

Semua alat yang akan digunakan untuk pengujian terlebih dahulu disterilisasi menggunakan cara yang sesuai. Alat gelas disterilisasi dengan cara pemanasan kering menggunakan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam. Media

disterilisasi dengan cara diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan kawat ose disterilisasi dengan cara dipijar pada lampu spiritus. Inkas disterilkan dengan menggunakan uap formalin (Forbes *et al.* 2007).

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

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan sebanyak 1 dari biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml *Brain Heart Infusion* (BHI), yang kekeruhannya disamakan dengan kekeruhan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

## **9. Identifikasi bakteri uji**

**9.1 Identifikasi secara goresan.** Suspensi bakteri diinokulasi pada medium *Vogel Johnson Agar* yang telah ditetesi kalium telurit sebanyak 3 tetes dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi telurit disekitar koloni berwarna hitam (Jawetz *et al.* 2007).

**9.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi.** Pewarnaan gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol : aseton = 1:1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara dibuat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir, kemudian ditetesi Gram B, didiamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian preparat dikeringkan. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif

apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

**9.3 Identifikasi biokimia.** Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan penambahan 2 tetes hydrogen peroksida 3%. Penambahan  $H_2O_2$  akan terurai menjadi  $H_2$  dan  $O_2$  hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara di sekitar koloni, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$ . Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007).

## 10. Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) kemudian dilanjutkan dengan menggunakan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Metode difusi dengan menyelupkan lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan metode perataan dan medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi terdifusi ke dalam media. Media tersebut diletakkan cakram disk. Kontrol positif yang digunakan pada media yaitu Siprofloksasin dan kontrol negatifnya DMSO 5%. Cakram disk yang lain diisi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air pada masing-masing konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^\circ C$ , dan diamati hasilnya. Pengukuran zona hambat yang ada disekitar cakram dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia umbi bawang dayak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pengujian dengan tiga kali replikasi.

Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dilakukan dengan cara deretan tabung yang terdiri dari 9 tabung dengan konsentrasi yaitu konsentrasi satu seri pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,2%; 3,1%; 1,5%; 0,7%; kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-). Larutan stock dibuat dengan konsentrasi 50%. Lakukan pengujian secara aseptik, masukkan masing-masing 0,5 ml media BHI dan fraksi teraktif pada konsentrasi 25%; 12,5%; 6,2%; 3,1%; 1,5%; 0,7% kedalam tabung reaksi, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat secara aseptik. Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, dan 0,7% sebanyak 0,5 ml. Pada konsentrasi 50% hanya berisi fraksi teraktif umbi bawang dayak dan suspensi bakteri uji masing-masing sebanyak 0,5 ml. kontrol (+) berisi suspensi bakteri 1 ml, kontrol (-) berisi fraksi etil asetat 1 ml. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan cara melihat konsentrasi terendah fraksi teraktif pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media VJA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mengamati ada atau tidaknya koloni warna hitam dan disekitar koloni berwarna kuning pada permukaan media.

### **11. Identifikasi kandungan kimia fraksi teraktif secara KLT**

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada fraksi teraktif. Fraksi yang paling aktif diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi yang dinyatakan paling aktif ditotolkan menggunakan pipa kapiler di atas lempeng kromatografi. Kromatografi Lapis Tipis (KLT), setelah totolan kering, lempeng KLT dimasukkan dalam chamber yang sudah jenuh oleh fase gerak yang sesuai. Pengembangan yang sudah dilakukan dilanjutkan dengan pengeringan lempeng kromatografi lapis tipis, kemudian dilakukan deteksi di bawah sinar UV 254 dan 366 nm serta diberikan pereaksi semprot yang sesuai. Bercak yang dideteksi ditentukan harga Rf dan penampakan warnanya.

**11.1 Identifikasi flavonoid.** Senyawa flavonoid diidentifikasi menggunakan KLT dengan fase gerak yang digunakan metanol : kloroform (1 : 1) dengan penampak noda uap amoniak. Bila dengan UV 254 nm menimbulkan peredaman, UV 366 nm berfluoresensi biru, kuning, ungu gelap, dan berwarna kuning setelah diuapi amonia yang cepat dan pereaksi yang digunakan sitroborat (Harborne 2006).

**11.2 Identifikasi alkaloid.** Senyawa alkaloid diidentifikasi menggunakan KLT yaitu fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak etil asetat : metanol : air (90:9:1) disemprot dengan pereaksi dragendrof. . Senyawa alkaloid akan terlihat bercak jingga sampai merah tua setelah disemprot dengan pereaksi Dragendrof. Penampakan noda terlihat peredaman pada UV 254 nm, sebagian alkaloid berfluoresensi biru atau kuning. (Harborne 2006).

**11.3 Identifikasi tanin.** Senyawa tanin diidentifikasi menggunakan KLT, fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya yang digunakan adalah *n*-heksana : etil asetat (3:7). Senyawa tanin dideteksi di bawah sinar UV<sub>254</sub> berwarna hijau gelap dan UV<sub>366</sub> biru hitam dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1% berwarna hitam (Depkes 1979).

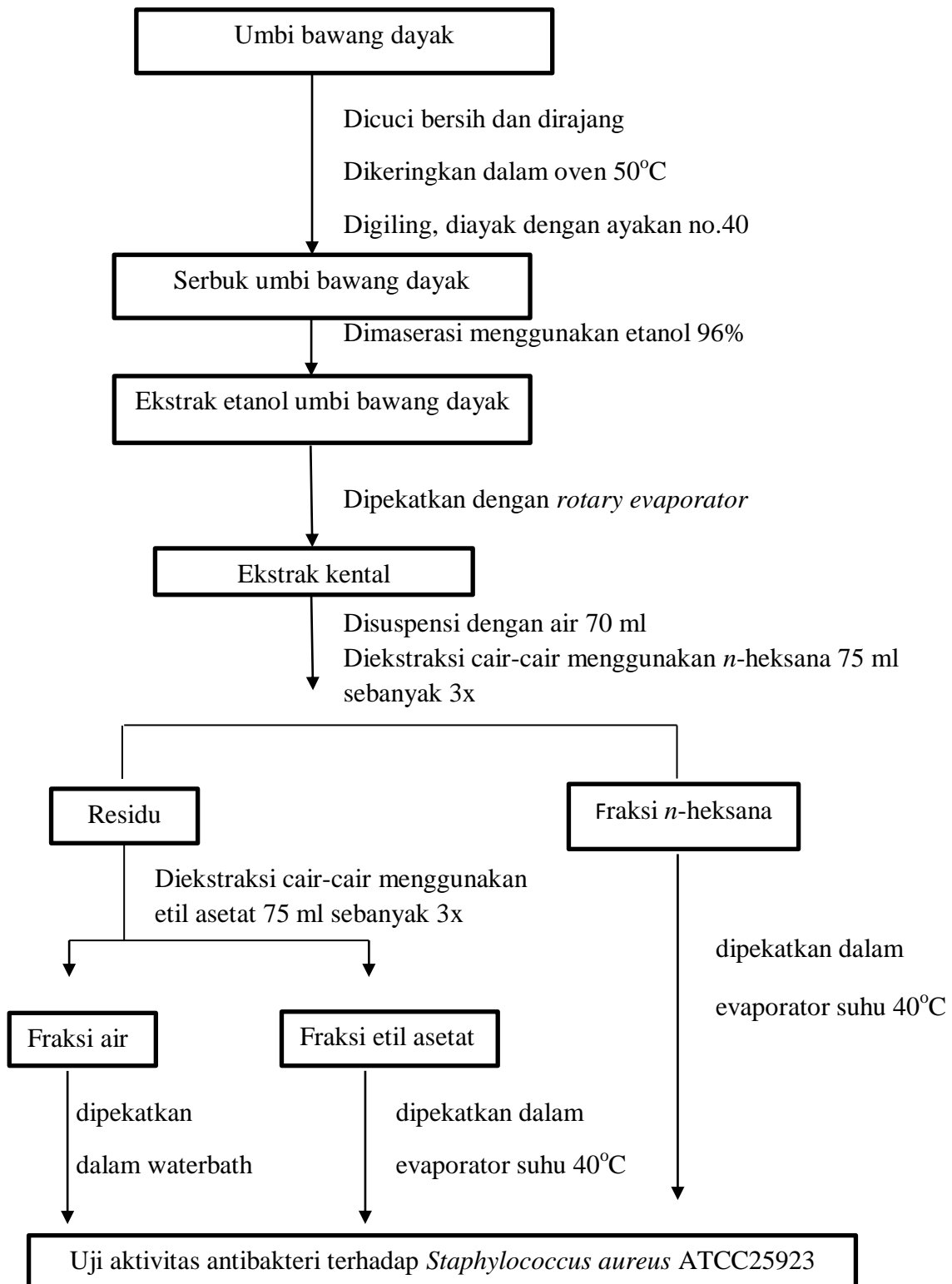
**11.4 Identifikasi polifenol.** Fase gerak yang digunakan etil asetat : metanol (1:1). Pereaksi penampak yang digunakan FeCl<sub>3</sub>. Pereaksi ini akan membuat polifenol membentuk warna biru kehitaman. Pada UV<sub>366</sub> berwarna biru dan pada UV<sub>254</sub> berwarna biru hijau gelap (Harbone 2006).

## E. Analisis Hasil

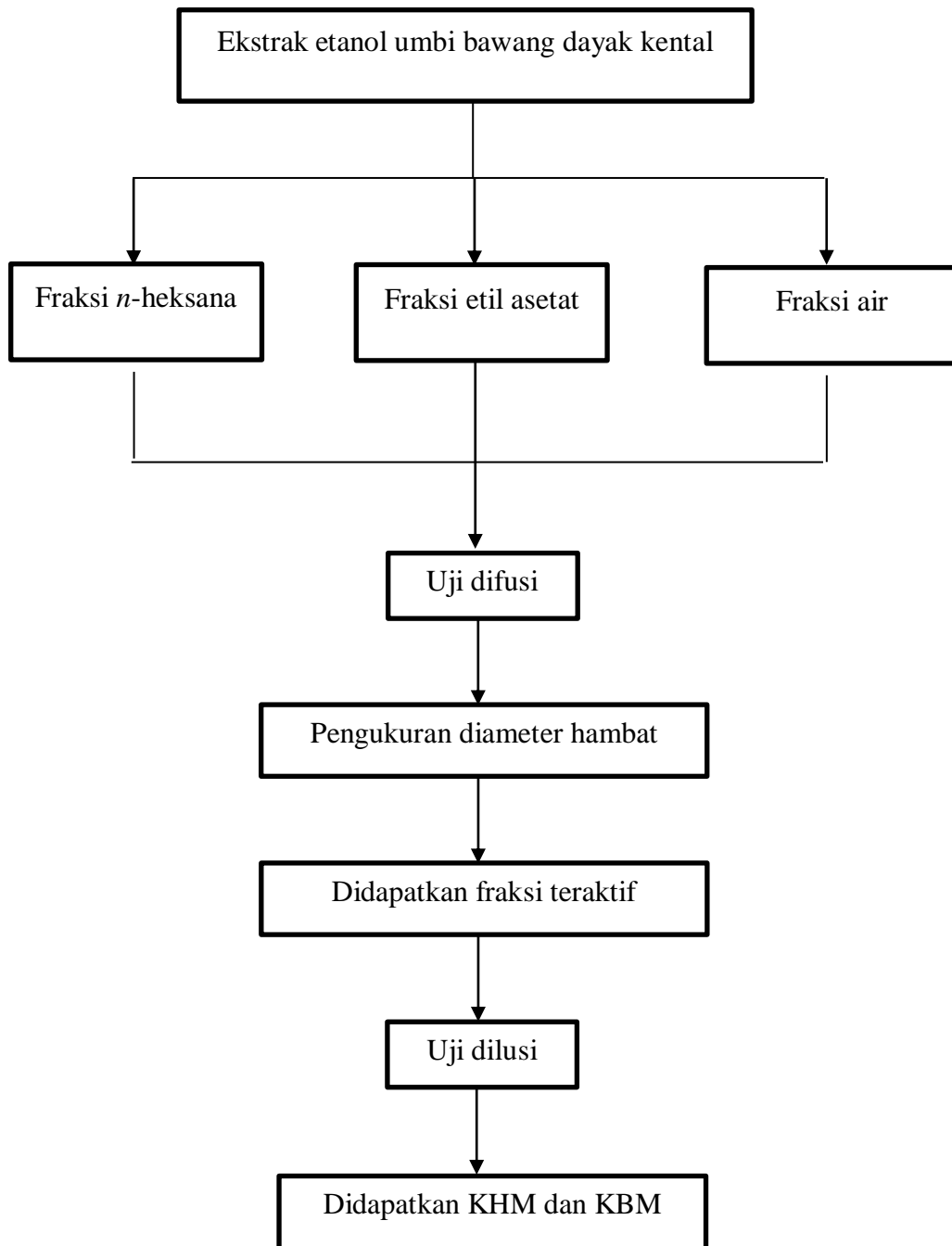
Hasil penelitian dianalisis berdasarkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di tabung reaksi dan di media selektif. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan berdasarkan pengamatan dimana konsentrasi terkecil bahan uji pada tabung dengan hasil biakan yang mulai jernih. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan berdasarkan pengamatan dimana konsentrasi terkecil bahan uji biakan padat menunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni. Analisis untuk menentukan fraksi yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode ANOVA oneway dilanjutkan uji tukey.



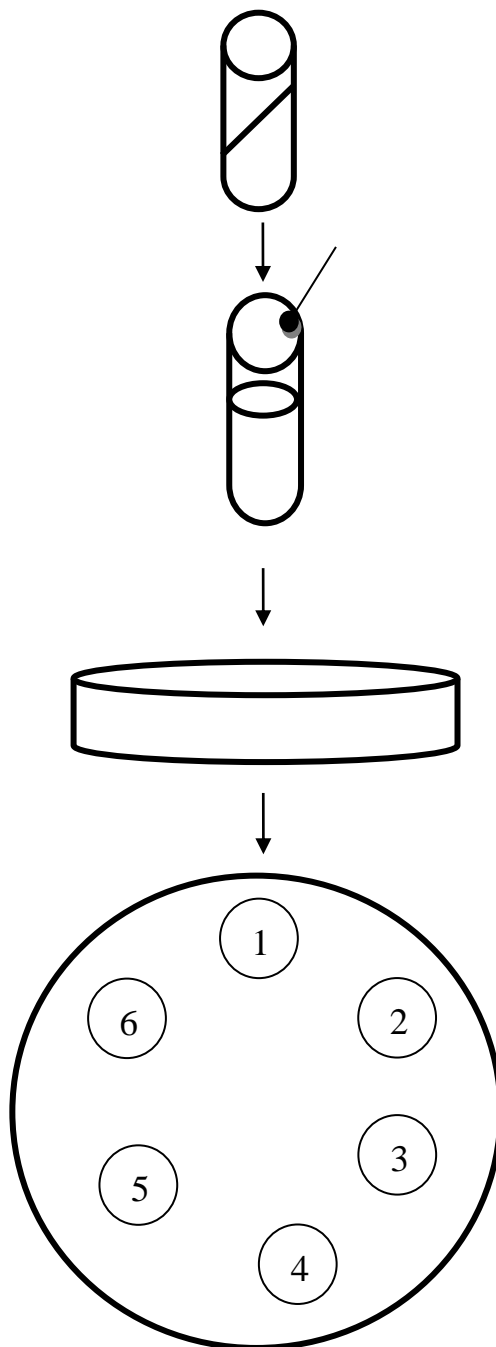
## F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 2. Ekstraksi dan fraksinasi umbi bawang dayak



Gambar 3. Skema jalannya penelitian



Biakan murni bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Biakan bakteri diambil 1 ose dan dimasukkan dalam medium BHI, dihomogenkan, diinkubasi 37°C selama 24 jam dan kekeruhannya disetarakan dengan Mc Farland 0,5

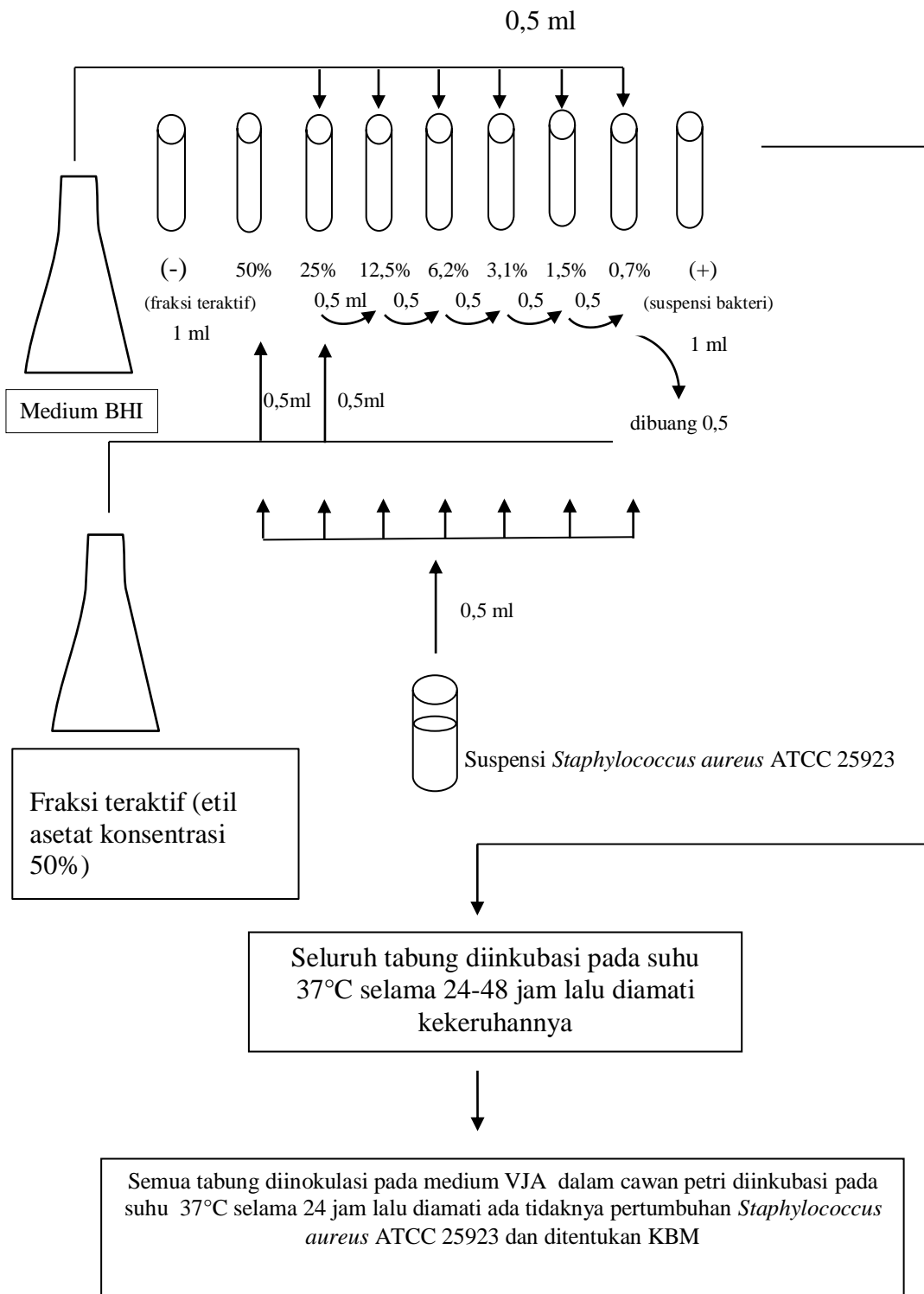
Suspensi bakteri diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media MHA secara perataan dengan kapas lidi steril.

Letakkan kertas cakram larutan uji ke media  
Keterangan :

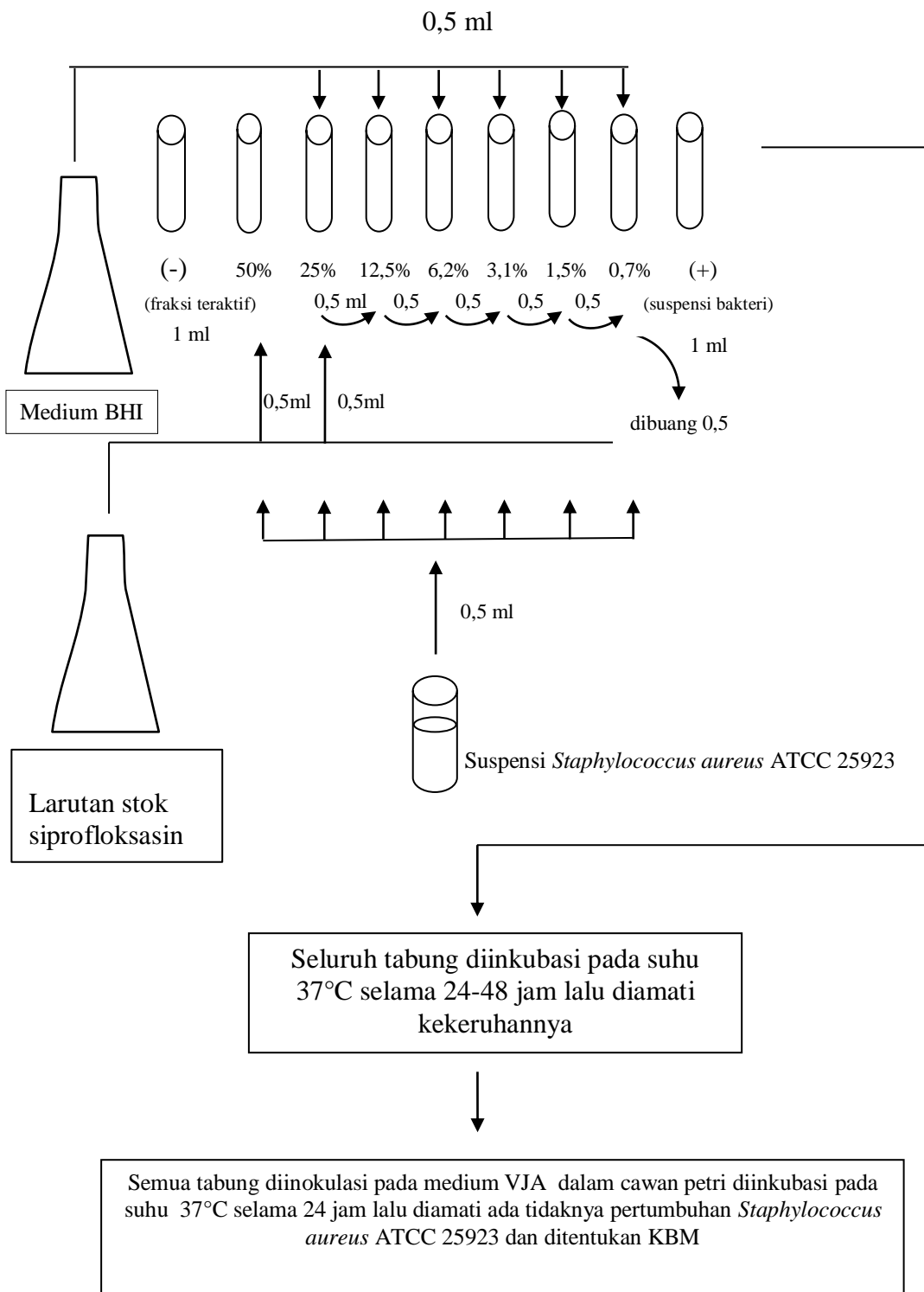
1. Kontrol positif (Siprofloksasin 5 µg)
2. Kontrol negatif (DMSO 5%)
3. Fraksi *n*-heksana (50%; 25%; 12,5%)
4. Fraksi etil asetat (50%; 25%; 12,5%)
5. Fraksi air (50%; 25%; 12,5%)
6. Ekstrak etanol (50%; 25%; 12,5%)

Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

**Gambar 4.** Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi



**Gambar 5.** Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari ekstrak umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 metode dilusi.



**Gambar 6.** Skema kerja perbandingan antibiotik siprofloksasin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 metode dilusi.

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil determinasi tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)

Determinasi tanaman pada tanaman ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang terdapat pada yang akan di teliti dengan kunci determinasi, mengetahui tanaman yang diambil, menghindari tercampurnya bahan tanaman lain serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan atau pengambilan bahan. Determinasi tanaman bawang dayak dilakukan di unit Laboratorium Program Studi Biologi, Universitas Sebelas Maret. Hasil determinasi tumbuhan bawang dayak 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-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422c-424b-425b \_\_\_\_ **219. Iridaceae** 1a-2a-3a-4a-5a. \_\_\_\_\_ **9. *Eleutherine***  
1 \_\_\_\_\_ ***Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.**

Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

### 2. Pembuatan serbuk umbi bawang dayak

**2.1 Pengambilan umbi bawang dayak.** Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bawang dayak yang diambil secara acak dari umbi bawang dayak dalam kondisi daun kekuningan dan pada musim kemarau yang di peroleh pada bulan Januari 2017 di daerah Kumai, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah.

**2.2 Pengeringan umbi bawang dayak.** Umbi bawang dayak yang diambil dipisahkan dari batang dan akarnya, kemudian dilakukan pembersihan untuk menghilangkan kotoran pada umbi. Selanjutnya dilakukan perajangan dan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$  selama 5 hari.

Pengeringan dapat memberikan beberapa keuntungan antara lain, untuk mencegah pertumbuhan jamur, mengurangi kadar air, dan memperpanjang masa simpan.

Umbi bawang dayak yang sudah kering kemudian dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan menggunakan pengayak nomor 40 hingga didapat serbuk umbi bawang dayak. pembuatan serbuk ini bertujuan untuk memperkecil ukuran bahan, sehingga pengestrasian dapat berlangsung efektif karena dapat memperluas permukaan kontak dengan pelarut.

**Tabel 1. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah umbi bawang dayak**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%) b/b
8500	2200	25,88

Berdasarkan tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa rendemen rata-rata hasil pengeringan umbi bawang dayak dilakukan sebanyak 8500 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering 2200 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 25,88% b/b. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada Lampiran 2.

### 3. Hasil penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak

Penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Prinsip kerja *Sterling Bidwell* adalah dilakukan pemanasan dengan api langsung, kemudian ditunggu sampai air tidak menetes. Volume air dibaca pada skala yang ada, dan kemudian dihitung dengan rumus untuk menetapkan kadar air. Perhitungan kadar air dilakukan 3 kali agar diperoleh hasil yang valid. Hasil penetapan kadar air umbi bawang dayak dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar air pengeringan serbuk umbi bawang dayak**

No	Penimbangan (g)	Volume air (ml)	Kadar air (% v/b)
1	20	1,7	8,5
2	20	1,6	8,0
3	20	1,6	8,0
Rata-rata			8,16

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar air dalam serbuk umbi bawang dayak yang diperoleh adalah 8,16%. Kadar air serbuk umbi

bawang dayak memenuhi persyaratan kadar air simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes 2008). Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak dapat dilihat pada lampiran 3.

#### 4. Hasil pembuatan ekstrak umbi bawang dayak

Proses ekstraksi umbi bawang dayak menggunakan metode maserasi karena mudah dalam pengerjaannya, alat yang digunakan sederhana, dan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Cairan penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, flavonoid, steroid, dan klorofil (Depkes 2000). Serbuk dari umbi bawang dayak yang dibutuhkan untuk pembuatan ekstrak sebanyak 900 gram. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup menggunakan wadah gelap agar terhindar dari sinar matahari langsung.

**Tabel 3. Rendemen ekstrak umbi bawang dayak**

Serbuk umbi bawang dayak (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%) b/v
900	213,8	23,8%

Hasil maserasi umbi bawang dayak 900 gram didapatkan ekstrak kental 213,8 g dan rendemen sebesar 23,8% b/v. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 4.

Ekstrak dari umbi bawang dayak dilakukan uji tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Tes uji bebas etanol dilakukan bertujuan untuk mengetahui bahwa ekstrak yang sudah diperoleh benar-benar terbebas dari etanol, sehingga saat digunakan sebagai uji antibakteri yang memiliki efektivitas adalah ekstrak etanol umbi bawang dayak dan dapat dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Hasil uji tes bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas. Gambar tes bebas etanol dapat dilihat di lampiran 7.

#### 5. Uji kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak

Uji kandungan senyawa kimia merupakan pengujian pendahuluan untuk mengetahui kebenaran kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam, serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak. Pengujian ini dilakukan menggunakan pereaksi



warna dengan tabung reaksi, kemudian diamati perubahan yang terjadi dengan memberikan tanda yang khas untuk hasil positifnya. Hasil pengujian kandungan kimia dapat dilihat pada Tabel 4 dan lampiran 8.

**Tabel 4. Hasil uji kandungan kimia serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak**

Kandungan kimia	Hasil		Pustaka	Interpretasi data	
	Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	Terdapat endapan coklat	Terdapat endapan coklat	Terbentuk endapan coklat sampai hitam (Depkes 2005)	(+)	(+)
Flavonoid	Terdapat warna jingga	Terdapat warna hitam kemerahan	Terbentuk warna kuning atau jingga atau hitam kemerahan (Harbone 2006)	(+)	(+)
Steroid	Terdapat warna hitam	Terdapat warna hitam	Terbentuknya warna merah hijau, hijau biru (Farnsworth 1996)	(-)	(-)
Tanin	Terdapat warna hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	Terbentuknya warna hijau kehitaman (Robinson 1995)	(+)	(+)
Polifenol	Terdapat warna hitam kehijauan	Terdapat warna hitam kehijauan	Terbentuknya warna biru kehitaman, hijau merah, hitam kehijauan (Farnsworth 1996)	(+)	(+)

Uji kandungan kimia terhadap serbuk dan ekstrak umbi bawang dayak berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa hasilnya positif untuk alkaloid, flavonoid, tanin, dan polifenol, hal ini menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak mengandung senyawa tersebut. Hasil uji kandungan kimia fraksi umbi bawang dayak mengandung senyawa yang lebih sedikit daripada serbuk dan ekstrak, karena fraksinasi memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada uji kandungan kimia fraksi *n*-heksana umbi bawang dayak mengandung senyawa kimia alkaloid. Fraksi etil asetat mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, dan polifenol, sedangkan fraksi air mengandung senyawa kimia alkaloid, tanin dan polifenol. Hasil pengujian kandungan kimia fraksi dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 8.

**Tabel 5. Hasil kandungan kimia fraksi n-heksana, etil asetat, dan air umbi bawang dayak**

Kandungan kimia	Hasil			Pustaka	Interpretasi data		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air		<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Alkaloid	Terdapat endapan coklat	Terdapat endapan coklat	Terdapat endapan coklat	Terbentuk endapan coklat sampai hitam (Depkes 2005)	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	Terdapat warna kuning	Terdapat warna jingga	Tidak Terdapat warna jingga	Terbentuk warna jingga atau hitam kemerahan (Harbone 2006)	(-)	(+)	(+)
Steroid	Terdapat warna kuning	Terdapat warna jingga	Terdapat warna hitam	Terbentuknya warna merah hijau, hijau biru (Farnsworth 1996)	(-)	(-)	(-)
Tanin	Terdapat warna kuning	Terdapat warna hijau kehitaman	Terdapat warna hijau kehitaman	Terbentuknya warna hijau kehitaman (Robinson 1995)	(-)	(+)	(+)
Polifenol	Terdapat warna kuning	Terdapat warna hitam kehijauan	Terdapat warna hitam kehijauan	Terbentuknya warna biru kehitaman, hijau merah, hitam kehijauan (Farnsworth 1996)	(-)	(+)	(+)

**Keterangan:** (+) : ada senyawa  
 (-) : tidak ada senyawa

## 6. Fraksinasi ekstrak umbi bawang dayak

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu golongan utama, pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya (Harbone 2006).

Ekstrak etanol umbi bawang dayak yang di peroleh dari metode maserasi dilakukan fraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut yaitu pelarut non polar (*n*-heksana), pelarut semi polar (etil asetat), dan pelarut polar (air).

**6.1 Fraksi *n*-heksana.** Hasil ekstrak etanol umbi bawang dayak difraksinasi dengan pelarut non polar (*n*-heksana) menggunakan corong pisah, fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan pelarut *n*-heksana masing-masing

75ml, kemudian hasil fraksi *n*-heksana yang diperoleh diupakan. Residu yang diperoleh dilakukan ekstraksi lanjutan menggunakan pelarut etil asetat. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksana dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Rendemen fraksi *n*-heksana**

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen % (b/b)
10	1,05	10,50
10	1,06	10,60
10	1,04	10,40
Rata-rata		10,50

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana umbi bawang dayak didapat rendemen rata-rata sebesar 10,50%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana umbi bawang dayak dapat dilihat pada lampiran 5.

**6.2 Fraksi etil asetat.** Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana umbi bawang dayak dilakukan fraksinasi 3 kali menggunakan pelarut etil asetat masing-masing sebanyak 75ml, kemudian hasil fraksi etil asetat yang diperoleh diupakan. Residu yang didapatkan dipekatkan menggunakan evaporator. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Rendemen fraksi etil asetat**

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen % (b/b)
10	2,10	21,00
10	2,08	20,80
10	2,06	20,60
Rata-rata		20,80

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan rendemen fraksi etil asetat umbi bawang dayak didapat rendemen rata-rata sebesar 20,80%. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat umbi bawang dayak dapat dilihat pada lampiran 5.

**6.3 Fraksi air.** Residu yang didapat dari fraksi etil asetat umbi bawang dayak dilakukan pemekatan menggunakan evaporator. Rendemen hasil fraksi air dapat dilihat pada tabel 8.

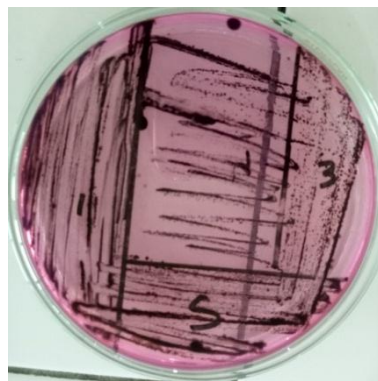
**Tabel 8. Rendemen fraksi air**

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen % (b/b)
10	6,26	62,60
10	6,22	62,20
10	6,20	62,00
Rata-rata		62,27

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan rendemen fraksi air umbi bawang dayak didapat rendemen rata-rata sebesar 62,27%. Hasil perhitungan rendemen fraksi air umbi bawang dayak dapat dilihat pada lampiran 5.

#### **7. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara goresan**

Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinokulasikan pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) dalam cawan petri yang berisi 3 tetes kalium telurit 1% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Hasil goresan yang positif ditunjukkan adanya koloni yang berwarna hitam dan medium sekitar koloni berwarna kuning. Koloni yang berwarna hitam akibat dari kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mereduksi kalium telurit sedangkan warna disekitar koloni berwarna kuning akibat dari kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam memfermentasikan manitol menjadi asam (Jawtez *et al.* 2008). Hasil positif identifikasi bakteri secara makroskopis dapat dilihat pada gambar 7.

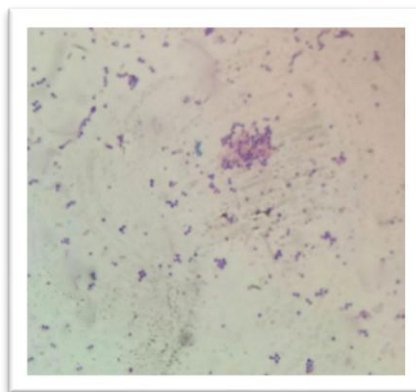


**Gambar 7. Hasil secara goresan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media VJA.**

#### **8. Hasil identifikasi mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi**

Hasil pewarnaan Gram dinyatakan positif apabila terdapat koloni berwarna ungu, berbentuk bulat, dan bergerombol. Tujuan pengecatan gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Gram positif mengandung protein dan Gram negatif mengandung lemak

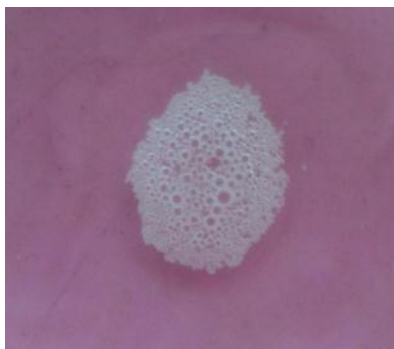
dalam prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri Gram positif akan meninggalkan warna ungu kemudian diberi larutan iodin sehingga akan terbentuk suatu kompleks antara kristal violet dan iodin. Pemberian alkohol (etanol) pada perwarnaan Gram menyebabkan terekstraksi lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel Gram negatif. Pewarnaan safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel berwarna merah pada bakteri Gram negatif, sedangkan pada bakteri Gram positif dinding selnya terhidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan Chan 1986). Berdasarkan pewarnaan gram yang dilakukan menunjukkan hasil positif yang dibuktikan dengan tampaknya koloni berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur.



Gambar 8. Hasil pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*.

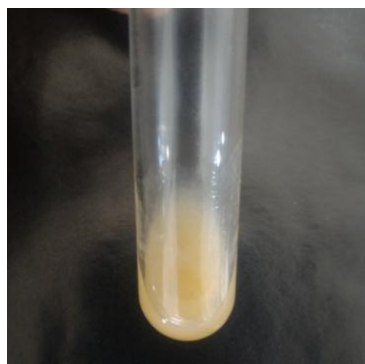
## 9. Identifikasi biokimia

**9.1 Uji katalase.** Uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* setelah ditambah 2 tetes hydrogen peroksida 3% akan terbentuk gelembung udara di sekitar koloni. Hal ini merupakan uji positif karena penambahan  $H_2O_2$  akan terurai menjadi  $H_2$  dan  $O_2$  terlihat pembentukan gelembung udara disekitar koloni, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2008). Uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil positif pada gambar 9.



**Gambar 9.** Hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus*.

**9.2 Uji koagulase.** Uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 2-4 jam. Berdasarkan hasil uji koagulase yang dilakukan diperoleh hasil positif yaitu akan terjadi penggumpalan plasma serta dapat dilihat secara kasat mata dengan adanya plak pada dinding tabung (Warsa 1993). Hasil identifikasi bakteri dengan uji koagulase dapat dilihat pada gambar 10.



**Gambar 10.** Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **10. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Standar Mc Farland merupakan suatu standar yang diperoleh dengan cara menyetarakan konsentrasi antara mikroba dengan menggunakan larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Sutton 2011). Gambar hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

## 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Fraksi yang didapatkan dari ekstrak umbi bawang dayak yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian ini dilakukan menggunakan sediaan dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan pembanding kontrol positif siprofloksasin, kontrol negatif DMSO 5%.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan metode difusi dalam waktu 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Adanya daerah jernih di sekitar disk cakram yang tidak ditumbuhi bakteri menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil diameter hambat pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Diameter hambat pada uji antibakteri umbi bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi.**

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			Raat-rata ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	15,33	15,00	15,33	15,22 ± 0,15
	25%	14,67	14,33	14,67	14,56 ± 0,16
	12,5%	13,67	13,33	13,67	13,56 ± 0,16
Fraksi <i>n</i> -heksana	50%	13,00	12,67	13,00	12,89 ± 0,15
	25%	11,67	11,33	11,67	11,57 ± 0,16
	12,5%	10,00	9,67	10,00	9,89 ± 0,15
Fraksi Etil asetat	50%	25,67	25,00	25,33	25,33 ± 0,27
	25%	24,33	23,67	24,00	24,00 ± 0,26
	12,5%	22,67	22,00	22,33	22,33 ± 0,27
Fraksi Air	50%	16,67	15,67	16,00	16,11 ± 0,41
	25%	14,67	14,33	14,67	14,56 ± 0,16
	12,5%	13,67	12,67	13,00	13,11 ± 0,41
Siprofloxacine	5µg	31,33	31,00	31,33	31,22 ± 0,15
DMSO	5%	0	0	0	0 ± 0,00

Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fraksi yang memiliki daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat dengan hasil rata-rata diameter daya

hambat fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% berturut-turut sebesar 25,33 mm, 24,00 mm, dan 22,33 mm, sedangkan siprofloksasin sebagai kontrol positif memiliki rata-rata sebesar 31,22 mm dan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 5% tidak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri dari umbi bawang dayak dengan metode difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 11.

Perhitungan statistik yang digunakan yaitu one way ANOVA untuk membandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, air dari umbi bawang dayak pada setiap konsentrasi. Perhitungan *Kolmogrov-Smirnov test* dengan konsentrasi 50% diperoleh signifikansi  $0,206 > 0,05$  ( $H_0$  diterima), konsentrasi 25% diperoleh signifikansi  $0,075 > 0,05$  ( $H_0$  diterima), dan konsentrasi 12,5% diperoleh signifikansi  $0,312 > 0,05$  ( $H_0$  diterima), disimpulkan data terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan ANOVA *one way*. Pada uji Tukey menunjukkan perbedaan yang signifikan. *Homogeneous Subsets* pada konsentrasi 50% subset 1 sampai 4 diketahui terdapat perbedaan yang signifikan, sedangkan pada konsentrasi 25% dan konsentrasi 12,5% pada subset 2 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas antibakteri. Hasil tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 20.

Tabel 10. Perbedaan diameter hambat fraksi etil asetat.

Kelompok perlakuan	Rata-rata diameter hambat $\pm$ SD
Fraksi etil asetat 12,5%	22,33 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>
Fraksi etil asetat 25%	24,00 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>
Fraksi etil asetat 50%	25,33 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>

Keterangan:

- a : berbeda bermakna antar konsentrasi pada uji Tukey
- b : tidak berbeda bermakna antar konsentrasi pada uji Tukey

Berdasarkan uji statistik fraksi etil asetat terdapat perbedaan yang bermakna antara konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%. Fraksi etil asetat konsentrasi 50% merupakan fraksi yang teraktif dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan air, kemungkinan disebabkan pada fraksi etil asetat mampu menarik



senyawa semi polar seperti alkaloid dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri lebih potensial dibandingkan dengan senyawa lain yang terkandung pada fraksi *n*-heksana maupun fraksi air. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan sel antibakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian (Alamsyah *et al.* 2014). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan membentuk kompleks dengan dinding sel (Junanto *et al.* 2008). Senyawa lain yang terdapat pada fraksi etil asetat yaitu tanin dan polifenol. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Ajizah 2004). Mekanisme polifenol dapat mengkerutkan dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas sel sehingga pertumbuhannya terhambat (Dewanti & Wahyudi 2011).

Pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fraksi teraktif etil asetat dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, 0,7% serta kontrol (+), dan kontrol (-). Kontrol positif menggunakan suspensi bakteri dan kontrol negatif menggunakan fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hasil KHM fraksi teraktif umbi bawang dayak tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dilihat dari pengujian fraksi teraktif terhadap uji pada tabung yang kemudian diinokulasikan pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA dalam cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan dengan konsentrasi minimum yang tidak ditumbuhi koloni berwarna hitam pada media VJA, hasil KBM diperoleh pada konsentrasi 6,2% yang merupakan konsentrasi terendah dari fraksi etil asetat yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

Antibiotik siprofloksasin sebagai pembanding yang dapat membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dengan konsentrasi bunuh minimum 0,31% yang sebanding dengan daya bunuh minimum fraksi etil asetat pada konsentrasi bunuh minimum 6,2%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kontrol positif siprofloksasin secara dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 11. Hasil pengujian antibakteri fraksi teraktif etil asetat dan pembanding siprofloksasin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Inokulasi VJA								
No	Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat			Konsentrasi (%)	Siprofloksasin		
		Replikasi				Replikasi		
		1	2	3		1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
2	50 %	-	-	-	2,5 %	-	-	-
3	25 %	-	-	-	1,25 %	-	-	-
4	12,5 %	-	-	-	0,62 %	-	-	-
5	6,2 %	-	-	-	0,31 %	-	-	-
6	3,1 %	+	+	+	0,15 %	+	+	+
7	1,5 %	+	+	+	0,07 %	+	+	+
8	0,7 %	+	+	+	0,03 %	+	+	+
9	Kontrol (+)	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

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

## 12. Identifikasi fraksi paling aktif secara KLT

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada tabel 12.

**Tabel 12. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Pengujian	Rf	Hasil			Ket
		UV 254 nm	UV 366 nm	Sinar tampak	
Flavonoid	0,93	Berwarna gelap	Kuning kehijauan	Sitroborat : Kekuningan	(+)
Alkaloid	0,76	Peredaman	Kehijauan	Dragendrof : Kekuningan	(+)
Tanin	0,65	Hitam	Hitam	FeCl <sub>3</sub> : Hitam	(+)
Polifenol	0,62	Biru	Violet	FeCl <sub>3</sub> : Hitam	(+)

Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid dan standar baku quercetin sebagai baku pembanding dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak metanol : kloroform dengan pereaksi semprot sitroborat. Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm berwarna gelap, UV 366 berflouresensi kuning kehijauan dan sinar tampak bercak berwarna kecoklatan. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa flavonoid sebesar 0,93 dan nilai Rf standar baku senyawa quercetin sebesar 0,95, disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 16 dan lampiran 17.

Hasil Identifikasi golongan senyawa alkaloid dan standar baku efedrin sebagai baku pembanding dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : air dengan pereaksi semprot dragendrof. Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm menimbulkan peredaman, UV 366 berflouresensi kehijauan dan sinar tampak setelah di semprotkan dragendrof berwarna kuning . Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa alkaloid sebesar 0,76 dan nilai Rf standar baku senyawa efedrin sebesar 0,1. Nilai Rf antara sampel fraksi etil asetat senyawa alkaloid dan Rf standar baku pembanding menunjukkan nilai yang jauh berbeda. Pembanding efedrin yang digunakan dalam analisis belum tentu senyawa spesifik dari umbi bawang dayak, efedrin digunakan untuk menunjukkan bahwa kandungan alkaloid dari umbi bawang dayak tidak jauh dari jenis alkaloid. Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 16 dan lampiran 17.

Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dan standar baku asam galat sebagai baku pembanding dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (3:7) dengan pereaksi semprot FeCl<sub>3</sub>. Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm hijau gelap, UV 366 berflouresensi biru kehitaman dan sinar tampak dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> berwarna hitam. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa tanin sebesar 0,65 dan nilai Rf standar baku senyawa asam galat sebesar 0,59, disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa tanin. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 16 dan lampiran 17.

Hasil identifikasi golongan senyawa polifenol dan standar baku asam galat sebagai baku pembanding dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak asam formiat : metanol (1:1) dengan pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$ . Hasil identifikasi dengan menggunakan UV 254 nm menimbulkan peredaman, UV 366 berflouresensi biru kehitaman dan sinar tampak berwarna hitam. Nilai Rf sampel fraksi etil asetat senyawa polifenol sebesar 0,62 dan nilai Rf standar baku senyawa asam galat sebesar 0,60 disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa polifenol. Hasil identifikasi golongan senyawa polifenol dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 16 dan lampiran 17.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50% dari ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) memiliki aktivitas antibakteri teraktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) yaitu 6,2% terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) terhadap bakteri lain.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas umbi bawang dayak dengan menggunakan pelarut dan metode penyarian yang lain untuk mengetahui metode yang lebih efektif.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pembanding antibiotik yang sesuai dengan mekanisme senyawa-senyawa yang terkandung di dalam umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.).

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium Guajava L.* *Bioscientiae* 1: 31-8.
- Aksara R, Musa WJA, Alia L. 2013. Identifikasi senyawa alkaloid dari ekstrak methanol kulit batang mangga (*Mangifera indica L.*). *J Entropi* 8:1:516.
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Saragassum cinereum* (J.G. Agardh) dari pulau Panjang Jepara terhadap bakteri *Escherchia coli* dan *Staphylococcus epidemidis*. *Journal Of Marine Research* 3:69-78.
- Alia MN. 2011. Kapasitas antioksidan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dalam bentuk segar, simplisia dan keripik, pada pelarut nonpolar, semipolar dan polar [skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Anief. 2003. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Arifin H, Anggraini N, Handayani D, dan Rasyid R. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia Cumini Merr.* *J Sains Tek. Farmasi* 11(2). hlm 9.
- Artati EK, Fadilah. 2007. Pengaruh kecepatan putar pengadukan dan suhu operasi pada ekstraksi tanin dari jambu mete dengan pelarut aseton. *Ekuilibrium* 6(1):33-38.
- Arung ET, Kusuma IW, Christy EO, Shimizu K, dan Kondo R. 2009. Evaluation of medicinal plants from Central Kalimantan for antimelanogenesis. *J Nat Med* 63(4):473-80.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Ed Ke-1. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia.
- Dewanti S, Wahyudi TM. 2011. Antibacterial activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherchia coli* in-vitro. *J Med Planta Unair* 1(4):78-81.
- Doughari JH. 2012. Phytochemicals: extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. *Phytochemicals-A Global Persprective of Their Role in Nutrition and Health*. hlm 6-8.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: PT Citra Aditya Bakti.
- Farnsworth NR. 1996. Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3). hlm 7.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Balley & Scott's Diagnostic Microbiology*. Ed ke-12. USA: Mosby Elsevier.
- Galingging RY. 2009. *Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) sebagai tanaman obat multifungsi*. Pontianak : BPTP Kalimantan Tengah.
- Ganiswarna. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-4. Jakarta: Gaya Baru.
- Goodman A, Gilman H. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi kesepuluh. Volume 1. Jakarta: EGC.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntunan dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi III. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harmita, Radji M. 2005. *Analisis Hayati*. Ed ke-2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Ismarani. 2012. Potensi senyawa tanin dalam menunjang produksi ramah lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3:46.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 24. Bonang G, penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Bonang G, penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Hartanto H, Rachman C, Dimanti A, Diani A, penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ratna NE, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Junanto T, Sutarno, Supriyadi. 2008. Aktifitas antimikroba ekstrak angkana (*Pterocarpus indicus*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Bioteknologi* 5(2):63-69.
- Krismawati A, Sabran E. 2004. Pengelolaan sumber daya genetik tanaman obat spesifik kalimantan tengah. *Buletin Plasma Nutfah*.
- Leboffe MJ, Pierce BE. 2011. *A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory* David E, penerjemah; Ed ke-4. USA: Morton Publishing Company.
- Nimah S, Farid W, Trianto A. 2012. Uji bioaktivitas teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Jurusan Perikanan*.
- Oktalia. 2009. *Kapita Selekta Dispensing I*. Yogyakarta: Univesitas Gadjah Mada Press.
- Padhi L, dan Panda SK. 2015. Antibacterial activity of *Eleutherine bulbosa* against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Acute Medicine* 5 53-61.
- Pelczar Jr, M.J Chan E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1,2. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Pengov A, Ceru S. 2012. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairy sei.* 86:3157-3163.
- Purwani D. 2013. Uji aktivitas antibakteri etanolik daun sendok terhadap *Staphylococcus aureus*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Puspadewi R, Adirestuti P, dan Menawati R. 2013. Khasiat umbi bawang dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr.) sebagai herbal antimikroba kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 1(1), 31-37.



- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Saepudin, Sulistiawan RY, dan Hanifah S. 2007. Perbandingan penggunaan antibiotika pada pengobatan pasien infeksi saluran kemih yang menjalani rawat inap di salah satu RSUD di Yogyakarta tahun 2004 dan 2006. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Salle AJ. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriology*. Ed ke-5. New York: Mc Grow Hill Company Inc.
- Sastrohamidjojo H. 2001. *Dasar-Dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Siswandono dan Soekardjo B. 2004. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Erlangga.
- Subramaniam K, Suriyamoorthy S, Wahab F, Sharon FB, Rex GR. 2012. Antagonistic activity of *eleutherine palmifolia* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* S491-S493.
- Sumarno. 2000. *Kromatografi Teori Dasar*. Yogyakarta: Kimia Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Suriawira U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Suryono B. 2007. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Jakarta: Papas Sinar Sinati
- Sutarma. 2000, Kultur media bakteri. *Temu Teknis Fungsional non Peneliti* 52-57.
- Sutton S, 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.
- Syamsuni H. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Tambayong J. 2000. *Mikrobiologi Untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Phytochemical screening and extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1):98-106.
- Werckenthin C, Cardoso M, Loismartel J, Schawarz S. 2009. Antimicrobial resistance in *staphylococci* from animals with particular reference to

bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *S. hylcusand* canine *S. intermedius*. *Journal Vet Res.* 32:341:362.

Warsa UC. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara.

Wijayakusuma. 2000. *Tumbuhan obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: kelompok penerbit Gema Insani.

L

A

M

P

I

R

A

Z

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan 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 : 86/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Nanda Novika Rahmadhani  
NIM : 19133809A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.  
Familia : Iridaceae

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-27a-28b-29b-30b-31b-403b-  
404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419c-420b-421b-422c-424b-425b \_\_\_\_\_ 219. Iridaceae  
1a-2a-3b-4a-5a \_\_\_\_\_ 9.Eleutherine  
1 \_\_\_\_\_ *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.3-0.6 m. Akar : serabut, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Umbi : berada di dalam tanah, bulat atau bulat memanjang, panjang 2.5-5 cm, merah hingga merah tua, permukaan gundul dan licin, tidak berbau. Batang : 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. Daun : tunggal, letak berseling, berjumlah 3-4 helai dari tiap umbi, bentuk lanset memanjang, panjang 25-60 cm, lebar 1-2.5 cm, pangkal runcing, tepi daun rata, ujung meruncing, permukaan gundul, tulang daun sejajar, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga : majemuk dengan 4-10 kuntum bunga, muncul di ketiak daun, masing-masing bunga didukung oleh 2 seludang bunga; seludang bunga hijau, panjang 12-16 mm; bunga bersimetri banyak (aktinomorfik), bertangkai pendek, berwarna putih, bagian-bagian bunga terdiri atas 3 bagian; daun kelopak bunga tidak bisa dibedakan dengan daun mahkota bunga (daun tenda bunga), daun tenda bunga 6 dalam 2 lingkaran, bulat telur terbalik, panjang 15 mm, berlepasan, lingkaran bagian dalam lebih kecil daripada bagian luar; benang sari 3, berlepasan, panjang 8-10 mm, kuning hingga oranye; kepala putik 3, kecil, putih, berseling dengan daun tenda bunga paling luar; tangkai putik seperti benang, kuning; bakal buah ellips, panjang 2 mm. Buah : kapsul, bentuk bulat, panjang 6 mm. Biji : ellips hingga bersegi, coklat gelap, diameter 2 mm.

Surakarta, 18 April 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
MIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Servaningsih M Si

**Lampiran 2. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%) b/b
8500	2200	25,88

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

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{2200}{8500} \times 100\% \\ &= 25,88\%\end{aligned}$$

**Lampiran 3. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk umbi bawang dayak**

No	Penimbangan (g)	Volume air (ml)	Kadar air (% v/b)
1	20	1,7	8,5
2	20	1,6	8,0
3	20	1,6	8,0
Rata-rata			8,16

$$\text{Penetapan kadar air} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot awal (g)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air I} &= \frac{1,7}{20} \times 100\% \\ &= 8,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air II} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8,0\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air III} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8,0\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata prosentase kadar air} = \frac{8,5\%+8,0\%+8,0\%}{3} = 8,16\%$$

**Lampiran 4. Perhitungan rendemen umbi bawang dayak secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%**

Serbuk umbi bawang dayak (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%) b/v
900	213,8	23,8%

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

$$\% \text{ Rendeman ekstrak} = \frac{213,8}{900} \times 100\% = 23,8\%$$

**Lampiran 5. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air umbi bawang dayak**

Nama pelarut	Replikasi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen % (b/b)
<i>n</i> -heksana	1	10	1,05	10,50
	2	10	1,06	10,60
	3	10	1,04	10,40
Etil asetat	1		2,10	20,60
	2		2,08	20,80
	3		2,06	20,60
Air	1		6,26	62,60
	2		6,22	62,20
	3		6,20	62,00

- Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol bawang dayak

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

$$\text{Rendemen (\%)} 1 = \frac{1,05}{10} \times 100\% = 10,50 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 2 = \frac{1,06}{10} \times 100\% = 10,60 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 3 = \frac{1,04}{10} \times 100\% = 10,40 \%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{10,50+10,60+10,40}{3} = 10,50\%$$

- Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol bawang dayak

$$\text{Rendemen (\%)} 1 = \frac{2,10}{10} \times 100\% = 21,00 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 2 = \frac{2,08}{10} \times 100\% = 20,80 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 3 = \frac{2,06}{10} \times 100\% = 20,60 \%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{21,00+20,80+20,60}{3} = 20,80\%$$



- Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak etanol bawang dayak

$$\text{Rendemen (\%)} 1 = \frac{6,26}{10} \times 100\% = 62,60 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 2 = \frac{6,22}{10} \times 100\% = 62,20 \%$$

$$\text{Rendemen (\%)} 3 = \frac{6,20}{10} \times 100\% = 62,00 \%$$

$$\text{Rata-rata rendemen (\%)} = \frac{62,60+62,20+62,00}{3} = 62,27\%$$

**Lampiran 6. Hasil preparasi sampel**

Gambar umbi bawang dayak

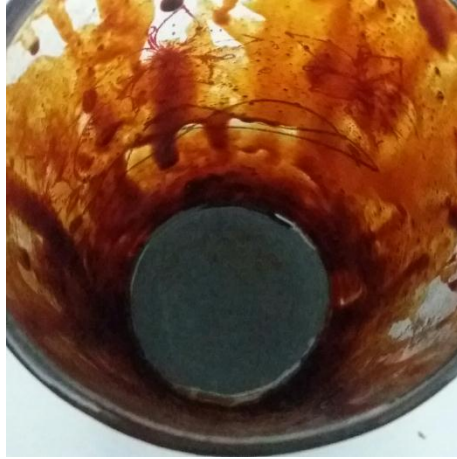


Simplisia umbi bawang dayak



Gambar serbuk umbi bawang dayak

### Lampiran 7. Hasil tes bebas etanol






















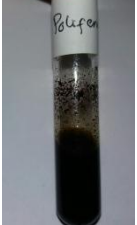





Gambar ekstrak etanol



Gambar tes bebas etanol

**Lampiran 8. Hasil Identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk, ekstrak dan fraksi umbi bawang dayak**

Senyawa	Serbuk	Ekstrak	Fraksi		
			<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Flavonoid					
Alkaloid					
Steroid					
Tanin					
Polifenol					

### Lampiran 9. Hasil fraksinasi



Fraksi *n*-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air

**Lampiran 10. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



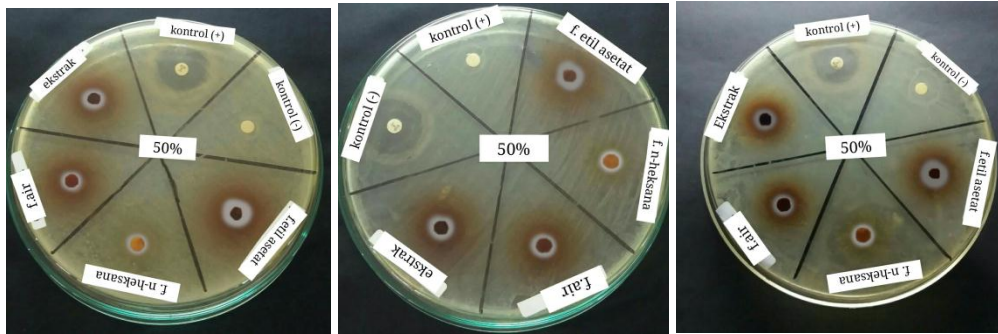
Standar Mc Farlan 0,5

Suspensi

*Staphylococcus aureus*

**Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi**

➤ **Konsentrasi 50%**

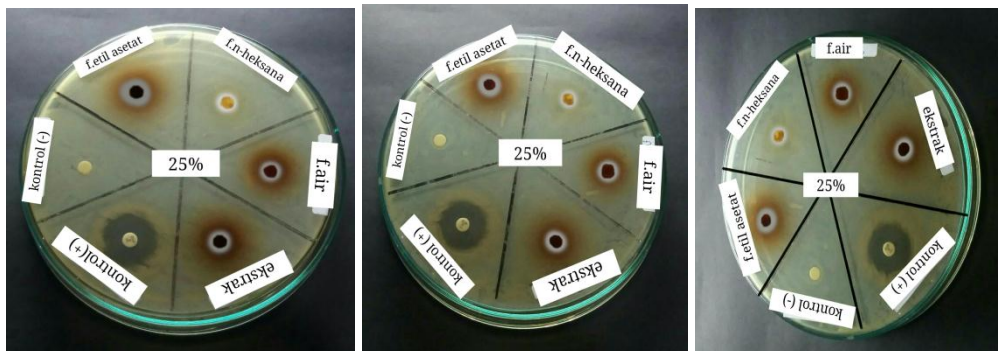


Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

➤ **Konsentrasi 25%**

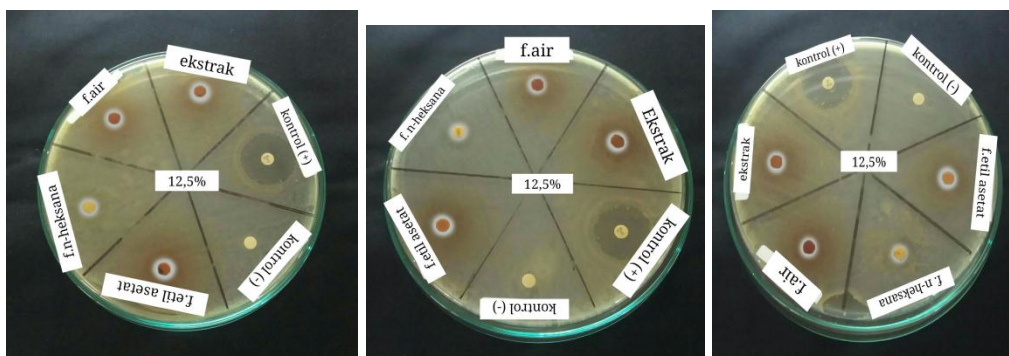


Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

➤ **Konsentrasi 12,5%**



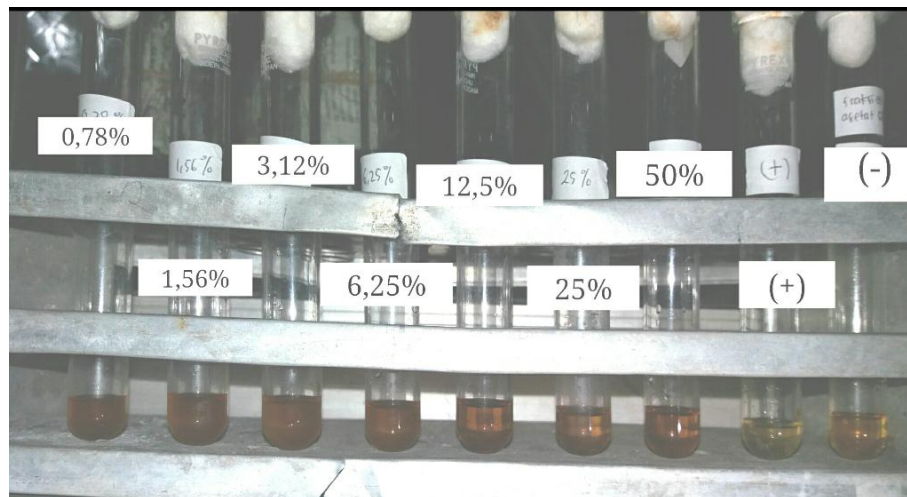
Replikasi 1

Replikasi 2

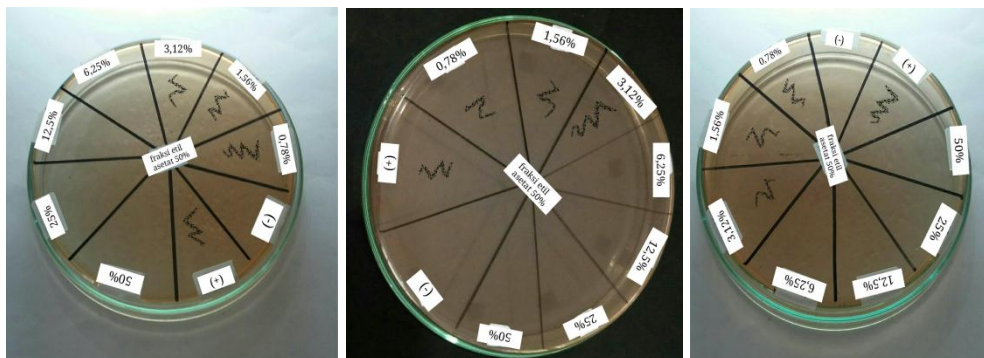
Replikasi 3

**Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi**

**Uji dilusi fraksi etil asetat umbi bawang dayak**



**Hasil inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fraksi etil asetat umbi bawang dayak**



Media VJA

Media VJA

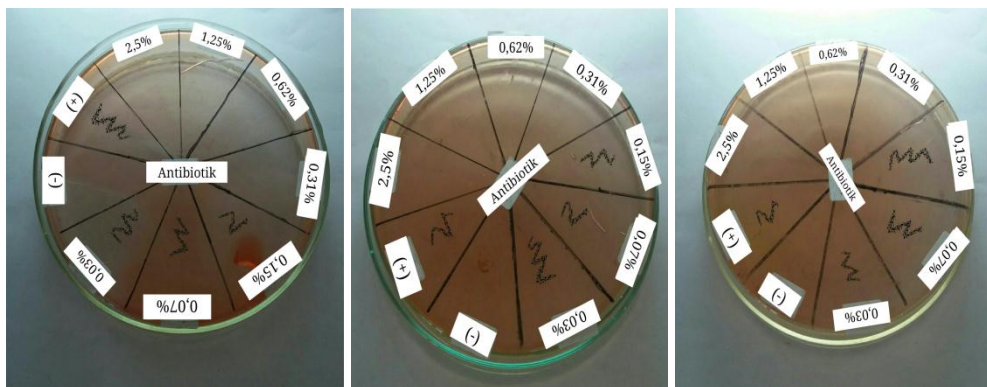
Media VJA



### Uji dilusi pembeding siprofloksasin



### Hasil inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pembeding siprofloksasin



Media VJA

Media VJA

Media VJA

**Lampiran 13. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air metode difusi**

1. Konsentrasi 50% = 50% b/v

$$= 50 \text{ gram}/100\text{ml}$$

$$= 2 \text{ gram}/4\text{ml}$$

Menimbang 2 gram ekstrak atau fraksi, kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% sampai 4 ml

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 4\text{ml} \cdot 25\%$$

$$V_1 = \frac{4\text{ml} \cdot 25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

Dipipet 2 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 5% sampai 4 ml.

3. Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 4\text{ml} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{4\text{ml} \cdot 12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

Dipipet 2 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah DMSO 5% sampai 4 ml.

#### Lampiran 14. Pembuatan larutan stok fraksi etil asetat metode dilusi

Larutan stok 50% =% b/v = 50 gram/100mL

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/mL

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 50\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 12,5\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 12,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 6,25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 12,5\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 6,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 3,125\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 6,25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 3,125\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,56\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 3,125\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 1,56\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,78\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 1,56\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,78\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,39\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,78\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,39\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) : 1 mL fraksi etil asetat umbi bawang dayak

Kontrol positif (+) : 1 mL suspensi bakteri

### Lampiran 15. Pembuatan larutan stok pembanding siprofloksasin metode dilusi

Perhitungan :

$$\text{Tablet yang diperlukan} = \frac{a}{b} \times c$$

a = berat siprofloksasin yang diperlukan

b = siprofloksasin tiap tablet

c = berat rata-rata siprofloksasin

$$\frac{500 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 686,3 \text{ mg} = 686,3 \text{ mg}$$

$$2,5\% = 2,5 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$= 2500 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 500 \text{ mg}/20 \text{ ml}$$

Pembuatan siprofloksasin 2,5% = satu tablet siprofloksasin digerus halus

kemudian dilarutkan dengan aquadest steril 20 ml.

Konsentrasi 2,5%

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 2,5\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 1,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,62\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 1,25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,62\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,31\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,62\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,31\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,15\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,31\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,15\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,07\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,16\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,07\% \end{aligned}$$

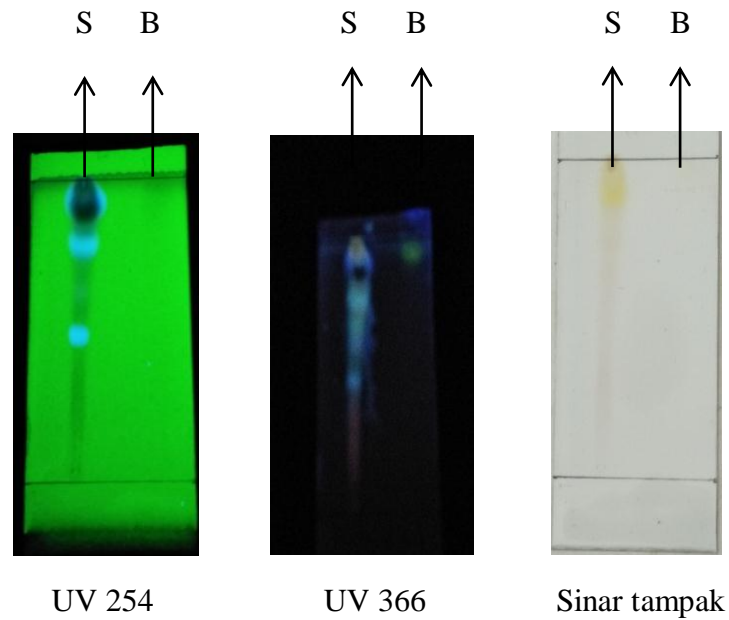
$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,03\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,08\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,03\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) : 1 mL antibiotik siprofloksasin

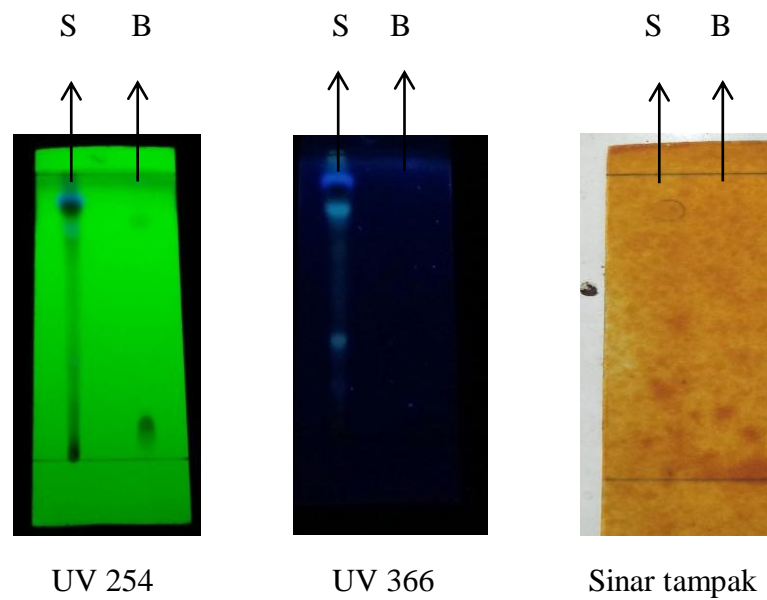
Kontrol positif (+) : 1 mL suspensi bakteri

**Lampiran 16. Foto hasil identifikasi golongan senyawa fraksi etil asetat dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Hasil identifikasi flavonoid



Hasil identifikasi alkaloid

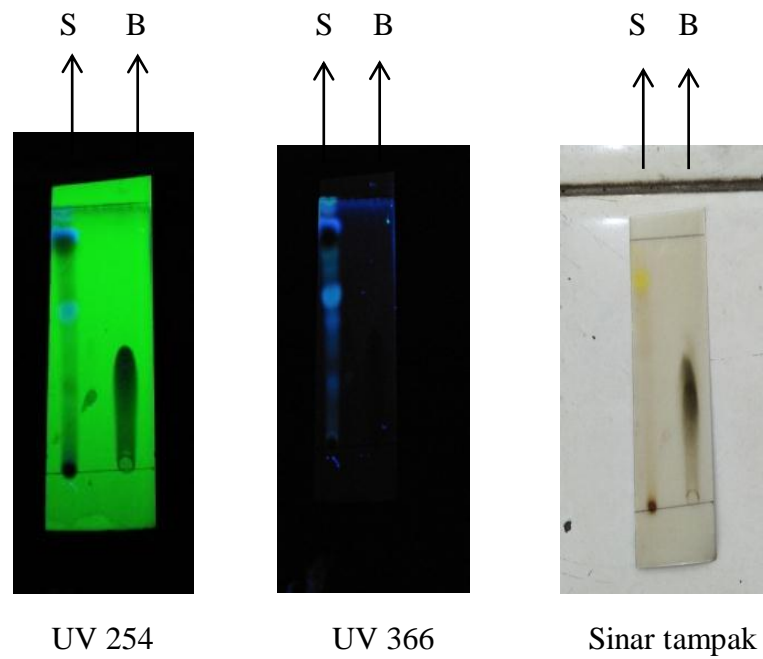


Keterangan :

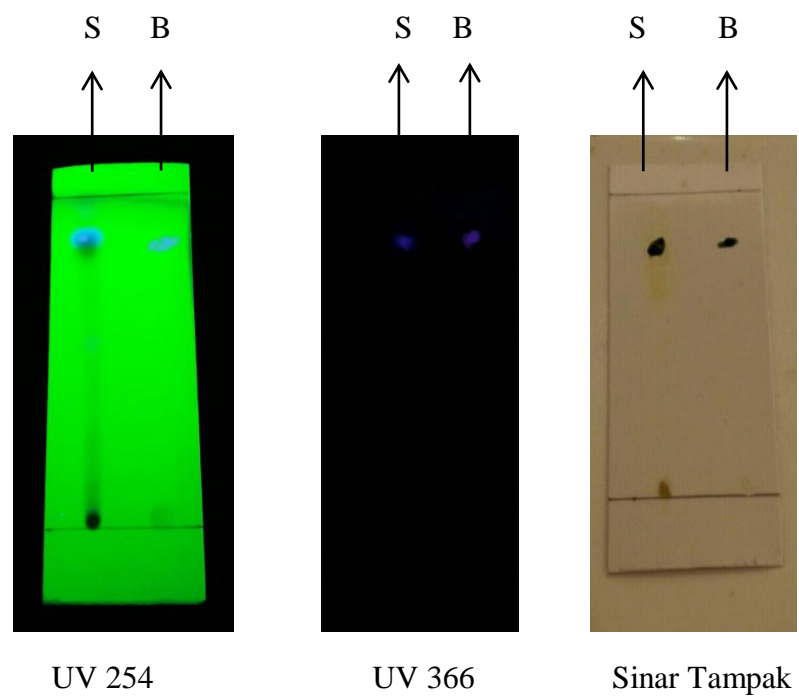
S: Sampel

B: Baku

## Hasil identifikasi tanin



## Hasil identifikasi polifenol



Keterangan :

S: Sampel

B: Baku

**Lampiran 17. Perhitungan Rf**

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

## 1. Flavonoid

$$Rf \text{ sampel} = \frac{4,5}{5,0} = 0,93$$

$$Rf \text{ standar baku} = \frac{4,6}{5,0} = 0,95$$

## 2. Alkaloid

$$Rf \text{ sampel} = \frac{3,8}{5,0} = 0,76$$

$$Rf \text{ standar baku} = \frac{0,5}{5,0} = 0,10$$

## 3. Tanin

$$Rf \text{ sampel} = \frac{3,2}{4,9} = 0,65$$

$$Rf \text{ baku standar} = \frac{2,9}{4,9} = 0,59$$

## 4. Polifenol

$$Rf \text{ sampel} = \frac{3,1}{5,0} = 0,62$$

$$Rf \text{ baku standar} = \frac{3,0}{5,0} = 0,60$$



**Lampiran 18. Gambar alat yang digunakan**

Botol Maserasi



Timbangan Analitik



Oven



Waterbath



Evaporator

*Sterling bidwell*



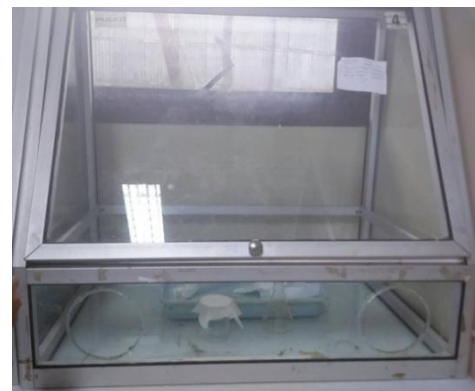
Inkubator



Autoclav



Autovotex



Inkas



Chamber

### Lampiran 19. Formulasi dan pembuatan media

#### 1. Formulasi dan pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrated infusion.....	300 gram
Casein hydrolysate .....	17,5 gram
Starch.....	1,5 gram
Agar.....	17 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan masukkan ke dalam plat.

#### 2. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

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

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. VJA steril dituangkan dalam cawan petri yang sudah diberi kalium tellurite.

#### 3. Formulasi dan pembuatan Brain Heart Infusion (BHI)

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

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung.

## Lampiran 20. Hasil data difusi secara ANOVA *one way*

### ➤ Konsentrasi 50%

#### Uji *Kolmogorov Smirnov*

**Tujuan :** mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter hambat
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	17.3892
	Std. Deviation	4.95383
Most Extreme Differences	Absolute	.308
	Positive	.308
	Negative	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		1.066
Asymp. Sig. (2-tailed)		.206

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan :** sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

#### Uji *Levene*

**Tujuan :** untuk mengetahui homogenitas data

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0.05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

#### Test of Homogeneity of Variances

diameter hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.374	3	8	.319

**Kesimpulan :** sig > 0,05 ( $H_0$  diterima) maka data persen diameter hambat homogen

### Uji One Way ANOVA

**Tujuan :** untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

**Hasil :**

#### ANOVA

diameter hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	269.056	3	89.685	807.128	.000
Within Groups	.889	8	.111		
Total	269.945	11			

**Kesimpulan :** sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat antar kelompok perlakuan.

### Uji Post Hoc (HSD)

**Tujuan :** untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambat yang bermakna

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

**Hasil :**

#### Multiple Comparisons

diameter hambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	fraksi n-heksana 50%	2.33000	.27217	.000	1.4584	3.2016
	fraksi etil asetat 50%	-10.11333	.27217	.000	-10.9849	-9.2417
	fraksi air 50%	-.89333	.27217	.045	-1.7649	-.0217
fraksi n-heksana 50%	ekstrak 50%	-2.33000	.27217	.000	-3.2016	-1.4584
	fraksi etil asetat 50%	-12.44333	.27217	.000	-13.3149	-11.5717
	fraksi air 50%	-3.22333	.27217	.000	-4.0949	-2.3517
fraksi etil asetat 50%	ekstrak 50%	10.11333	.27217	.000	9.2417	10.9849
	fraksi n-heksana 50%	12.44333	.27217	.000	11.5717	13.3149
	fraksi air 50%	9.22000	.27217	.000	8.3484	10.0916
fraksi air 50%	ekstrak 50%	.89333	.27217	.045	.0217	1.7649
	fraksi n-heksana 50%	3.22333	.27217	.000	2.3517	4.0949
	fraksi etil asetat 50%	-9.22000	.27217	.000	-10.0916	-8.3484

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

## Homogeneous Subsets

diameter hambat

Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
fraksi n-heksana 50%	3	12.8900			
ekstrak 50%	3		15.2200		
fraksi air 50%	3			16.1133	
fraksi etil asetat 50%	3				25.3333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

**Kesimpulan :** Subset 1 sampai 4 konsentrasi 50% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui terdapat perbedaan yang signifikan.

### ➤ Konsentrasi 25%

#### Uji Kolmogorov Smirnov

**Tujuan :** mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

**Hasil :**

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter hambat
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	16.1675
	Std. Deviation	4.89751
Most Extreme Differences	Absolute	.370
	Positive	.370
	Negative	-.187
Kolmogorov-Smirnov Z		1.282
Asymp. Sig. (2-tailed)		.075

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan :** sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

### Uji Levene

**Tujuan :** untuk mengetahui homogenitas data

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

**Hasil :**

#### Test of Homogeneity of Variances

diameter hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.290	3	8	.832

**Kesimpulan :** sig > 0,05 (H0 diterima) maka data persen diameter hambatan homogen

### Uji One Way ANOVA

**Tujuan :** untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambatan dari setiap kelompok perlakuan

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 Ho ditolak

Sig. > 0,05 Ho diterima

**Hasil :**

#### ANOVA

diameter hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	263.392	3	87.797	1564.319	.000
Within Groups	.449	8	.056		
Total	263.841	11			

**Kesimpulan :** sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambatan antar kelompok perlakuan.

### Uji Post Hoc (HSD)

**Tujuan :** untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambatan yang bermakna

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

**Hasil :****Multiple Comparisons**

diameter hambatan  
Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 25%	fraksi n-heksana 25%	3.00000	.19343	.000	2.3806	3.6194
	fraks etil asetat 25%	-9.44333	.19343	.000	-10.0628	-8.8239
	fraksi air 25%	.00000	.19343	1.000	-.6194	.6194
fraksi n-heksana 25%	ekstrak 25%	-3.00000*	.19343	.000	-3.6194	-2.3806
	fraks etil asetat 25%	-12.44333*	.19343	.000	-13.0628	-11.8239
	fraksi air 25%	-3.00000*	.19343	.000	-3.6194	-2.3806
fraks etil asetat 25%	ekstrak 25%	9.44333*	.19343	.000	8.8239	10.0628
	fraksi n-heksana 25%	12.44333*	.19343	.000	11.8239	13.0628
	fraksi air 25%	9.44333*	.19343	.000	8.8239	10.0628
fraksi air 25%	ekstrak 25%	.00000	.19343	1.000	-.6194	.6194
	fraksi n-heksana 25%	3.00000*	.19343	.000	2.3806	3.6194
	fraks etil asetat 25%	-9.44333*	.19343	.000	-10.0628	-8.8239

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

**Homogeneous Subsets**

diameter hambatan

Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
fraksi n-heksana 25%	3	11.5567		
ekstrak 25%	3		14.5567	
fraksi air 25%	3		14.5567	
fraks etil asetat 25%	3			24.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

**Kesimpulan :** Subset 1 sampai 3 konsentrasi 25% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui pada subset 2 tidak mempunyai perbedaan yang signifikan.



➤ **Konsentrasi 12,5%**

**Uji Kolmogorov Smirnov**

**Tujuan :** mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

		diameter hambat
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	14.7233
	Std. Deviation	4.82957
Most Extreme Differences	Absolute	.336
	Positive	.336
	Negative	-.184
Kolmogorov-Smirnov Z		1.165
Asymp. Sig. (2-tailed)		.132

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan :** sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

**Uji Levene**

**Tujuan :** untuk mengetahui homogenitas data

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

diameter hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.344	3	8	.327

**Kesimpulan :** sig > 0,05 ( $H_0$  diterima) maka data persen diameter hambat homogen

**Uji One Way ANOVA**

**Tujuan :** untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0,05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

**ANOVA**

diameter hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	255.679	3	85.226	763.165	.000
Within Groups	.893	8	.112		
Total	256.573	11			

**Kesimpulan :** sig < 0,05 (H0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambatan antar kelompok perlakuan.

**Uji Post Hoc (HSD)**

**Tujuan :** untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambatan yang bermakna

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. > 0.05 Ho diterima

**Hasil :**

**Multiple Comparisons**

diameter hambatan

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 12,5%	fraksi n-heksana 12,5%	3.66667	.27286	.000	2.7929	4.5404
	fraksi etil asetat 12,5%	-8.77667	.27286	.000	-9.6504	-7.9029
	fraksi air 12,5%	.44333	.27286	.418	-.4304	1.3171
fraksi n-heksana 12,5%	ekstrak 12,5%	-3.66667	.27286	.000	-4.5404	-2.7929
	fraksi etil asetat 12,5%	-12.44333	.27286	.000	-13.3171	-11.5696
	fraksi air 12,5%	-3.22333	.27286	.000	-4.0971	-2.3496
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak 12,5%	8.77667	.27286	.000	7.9029	9.6504
	fraksi n-heksana 12,5%	12.44333	.27286	.000	11.5696	13.3171
	fraksi air 12,5%	9.22000	.27286	.000	8.3462	10.0938
fraksi air 12,5%	ekstrak 12,5%	-.44333	.27286	.418	-1.3171	.4304
	fraksi n-heksana 12,5%	3.22333	.27286	.000	2.3496	4.0971
	fraksi etil asetat 12,5%	-9.22000	.27286	.000	-10.0938	-8.3462

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

## Homogeneous Subsets

### diameter hambat

Tukey HSD<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
fraksi n-heksana 12,5%	3	9.8900		
fraksi air 12,5%	3		13.1133	
ekstrak 12,5%	3		13.5567	
fraksi etil asetat 12,5%	3			22.3333
Sig.		1.000	.418	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

**Kesimpulan :** Subset 1 sampai 3 konsentrasi 12,5% dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat diketahui pada subset 2 tidak mempunyai perbedaan yang signifikan.

### Uji Kolmogorov Smirnov

**Tujuan :** mengetahui kenormalan data sebagai syarat uji ANOVA

**Kriteria uji :**

Sig. < 0,05 berarti  $H_0$  ditolak

Sig. > 0.05  $H_0$  diterima

**Hasil :**

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter hambat
N		42
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	16.0243
	Std. Deviation	7.48397
Most Extreme Differences	Absolute	.192
	Positive	.192
	Negative	-.126
Kolmogorov-Smirnov Z		1.243
Asymp. Sig. (2-tailed)		.091

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Kesimpulan :** sig > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal

**Uji Levene****Tujuan** : untuk mengetahui homogenitas data**Kriteria uji** :

Sig. &lt; 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. &gt; 0.05 Ho diterima

**Hasil** :**Test of Homogeneity of Variances**

diameter hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.535	13	28	.166

**Kesimpulan** : sig > 0,05 (Ho diterima) maka data persen diameter hambatan homogen**Uji One Way ANOVA****Tujuan** : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambatan dari setiap kelompok perlakuan**Kriteria uji** :

Sig. &lt; 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. &gt; 0.05 Ho diterima

**Hasil** :**ANOVA**

diameter hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2294.100	13	176.469	2144.654	.000
Within Groups	2.304	28	.082		
Total	2296.404	41			

**Kesimpulan** : sig < 0,05 (Ho ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambatan antar kelompok perlakuan.**Uji Post Hoc (HSD)****Tujuan** : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambatan yang bermakna**Kriteria uji** :

Sig. &lt; 0,05 berarti Ho ditolak

Sig. &gt; 0.05 Ho diterima

Hasil :

## Multiple Comparisons

diameter hambatan  
Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 50%	ekstrak 25%	.66333	.23421	.265	-.1940	1.5206
	ekstrak 12,5%	1.66333	.23421	.000	.8060	2.5206
	fraksi n-heksana 50%	2.33000	.23421	.000	1.4727	3.1873
	fraksi n-heksana 25%	3.66333	.23421	.000	2.8060	4.5206
	fraksi n-heksana 12,5%	5.33000	.23421	.000	4.4727	6.1873
	fraksi etil asetat 50%	-10.11333	.23421	.000	-10.9706	-9.2560
	fraksi etil asetat 25%	-8.78000	.23421	.000	-9.6373	-7.9227
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.11333	.23421	.000	-7.9706	-6.2560
	fraksi air 50%	-.89333	.23421	.035	-1.7506	-.0360
	fraksi air 25%	.66333	.23421	.265	-.1940	1.5206
	fraksi air 12,5%	2.10667	.23421	.000	1.2494	2.9640
	Siprofloksacin	-16.00000	.23421	.000	-16.8573	-15.1427
	DMSO 5%	15.22000	.23421	.000	14.3627	16.0773
	ekstrak 25%	ekstrak 50%	-.66333	.23421	.265	-1.5206
ekstrak 12,5%		1.00000	.23421	.012	.1427	1.8573
fraksi n-heksana 50%		1.66667	.23421	.000	.8094	2.5240
fraksi n-heksana 25%		3.00000	.23421	.000	2.1427	3.8573
fraksi n-heksana 12,5%		4.66667	.23421	.000	3.8094	5.5240
fraksi etil asetat 50%		-10.77667	.23421	.000	-11.6340	-9.9194
fraksi etil asetat 25%		-9.44333	.23421	.000	-10.3006	-8.5860
fraksi etil asetat 12,5%		-7.77667	.23421	.000	-8.6340	-6.9194
fraksi air 50%		-1.55667	.23421	.000	-2.4140	-.6994
fraksi air 25%		.00000	.23421	1.000	-.8573	.8573
fraksi air 12,5%		1.44333	.23421	.000	.5860	2.3006
Siprofloksacin		-16.66333	.23421	.000	-17.5206	-15.8060
DMSO 5%	14.55667	.23421	.000	13.6994	15.4140	
ekstrak 12,5%	ekstrak 50%	-1.66333	.23421	.000	-2.5206	-.8060
	ekstrak 25%	-1.00000	.23421	.012	-1.8573	-.1427
	fraksi n-heksana 50%	.66667	.23421	.258	-.1906	1.5240
	fraksi n-heksana 25%	2.00000	.23421	.000	1.1427	2.8573
	fraksi n-heksana 12,5%	3.66667	.23421	.000	2.8094	4.5240
	fraksi etil asetat 50%	-11.77667	.23421	.000	-12.6340	-10.9194
	fraksi etil asetat 25%	-10.44333	.23421	.000	-11.3006	-9.5860
	fraksi etil asetat 12,5%	-8.77667	.23421	.000	-9.6340	-7.9194
	fraksi air 50%	-2.55667	.23421	.000	-3.4140	-1.6994
	fraksi air 25%	-1.00000	.23421	.012	-1.8573	-.1427
	fraksi air 12,5%	.44333	.23421	.814	-.4140	1.3006

	Siprofloxacin	-17.66333	.23421	.000	-18.5206	-16.8060	
	DMSO 5%	13.55667	.23421	.000	12.6994	14.4140	
fraksi n-heksana 50%	ekstrak 50%	-2.33000	.23421	.000	-3.1873	-1.4727	
	ekstrak 25%	-1.66667	.23421	.000	-2.5240	-.8094	
	ekstrak 12,5%	-.66667	.23421	.258	-1.5240	.1906	
	fraksi n-heksana 25%	1.33333	.23421	.000	.4760	2.1906	
	fraksi n-heksana 12,5%	3.00000	.23421	.000	2.1427	3.8573	
	fraksi etil asetat 50%	-12.44333	.23421	.000	-13.3006	-11.5860	
	fraksi etil asetat 25%	-11.11000	.23421	.000	-11.9673	-10.2527	
	fraksi etil asetat 12,5%	-9.44333	.23421	.000	-10.3006	-8.5860	
	fraksi air 50%	-3.22333	.23421	.000	-4.0806	-2.3660	
	fraksi air 25%	-1.66667	.23421	.000	-2.5240	-.8094	
	fraksi air 12,5%	-.22333	.23421	.999	-1.0806	.6340	
		Siprofloxacin	-18.33000	.23421	.000	-19.1873	-17.4727
		DMSO 5%	12.89000	.23421	.000	12.0327	13.7473
	fraksi n-heksana 25%	ekstrak 50%	-3.66333	.23421	.000	-4.5206	-2.8060
ekstrak 25%		-3.00000	.23421	.000	-3.8573	-2.1427	
ekstrak 12,5%		-2.00000	.23421	.000	-2.8573	-1.1427	
fraksi n-heksana 50%		-1.33333	.23421	.000	-2.1906	-.4760	
fraksi n-heksana 12,5%		1.66667	.23421	.000	.8094	2.5240	
fraksi etil asetat 50%		-13.77667	.23421	.000	-14.6340	-12.9194	
fraksi etil asetat 25%		-12.44333	.23421	.000	-13.3006	-11.5860	
fraksi etil asetat 12,5%		-10.77667	.23421	.000	-11.6340	-9.9194	
fraksi air 50%		-4.55667	.23421	.000	-5.4140	-3.6994	
fraksi air 25%		-3.00000	.23421	.000	-3.8573	-2.1427	
fraksi air 12,5%		-1.55667	.23421	.000	-2.4140	-.6994	
		Siprofloxacin	-19.66333	.23421	.000	-20.5206	-18.8060
	DMSO 5%	11.55667	.23421	.000	10.6994	12.4140	
fraksi n-heksana 12,5%	ekstrak 50%	-5.33000	.23421	.000	-6.1873	-4.4727	
	ekstrak 25%	-4.66667	.23421	.000	-5.5240	-3.8094	
	ekstrak 12,5%	-3.66667	.23421	.000	-4.5240	-2.8094	
	fraksi n-heksana 50%	-3.00000	.23421	.000	-3.8573	-2.1427	
	fraksi n-heksana 25%	-1.66667	.23421	.000	-2.5240	-.8094	
	fraksi etil asetat 50%	-15.44333	.23421	.000	-16.3006	-14.5860	
	fraksi etil asetat 25%	-14.11000	.23421	.000	-14.9673	-13.2527	
	fraksi etil asetat 12,5%	-12.44333	.23421	.000	-13.3006	-11.5860	
	fraksi air 50%	-6.22333	.23421	.000	-7.0806	-5.3660	
	fraksi air 25%	-4.66667	.23421	.000	-5.5240	-3.8094	
	fraksi air 12,5%	-3.22333	.23421	.000	-4.0806	-2.3660	
		Siprofloxacin	-21.33000	.23421	.000	-22.1873	-20.4727
		DMSO 5%	9.89000	.23421	.000	9.0327	10.7473
fraksi etil asetat 50%	ekstrak 50%	10.11333	.23421	.000	9.2560	10.9706	
	ekstrak 25%	10.77667	.23421	.000	9.9194	11.6340	
	ekstrak 12,5%	11.77667	.23421	.000	10.9194	12.6340	

	fraksi n-heksana 50%	12.44333	.23421	.000	11.5860	13.3006
	fraksi n-heksana 25%	13.77667	.23421	.000	12.9194	14.6340
	fraksi n-heksana 12,5%	15.44333	.23421	.000	14.5860	16.3006
	fraksi etil asetat 25%	1.33333	.23421	.000	.4760	2.1906
	fraksi etil asetat 12,5%	3.00000	.23421	.000	2.1427	3.8573
	fraksi air 50%	9.22000	.23421	.000	8.3627	10.0773
	fraksi air 25%	10.77667	.23421	.000	9.9194	11.6340
	fraksi air 12,5%	12.22000	.23421	.000	11.3627	13.0773
	Siprofloxacina	-5.88667	.23421	.000	-6.7440	-5.0294
	DMSO 5%	25.33333	.23421	.000	24.4760	26.1906
fraksi etil asetat 25%	ekstrak 50%	8.78000	.23421	.000	7.9227	9.6373
	ekstrak 25%	9.44333	.23421	.000	8.5860	10.3006
	ekstrak 12,5%	10.44333	.23421	.000	9.5860	11.3006
	fraksi n-heksana 50%	11.11000	.23421	.000	10.2527	11.9673
	fraksi n-heksana 25%	12.44333	.23421	.000	11.5860	13.3006
	fraksi n-heksana 12,5%	14.11000	.23421	.000	13.2527	14.9673
	fraksi etil asetat 50%	-1.33333	.23421	.000	-2.1906	-.4760
	fraksi etil asetat 12,5%	1.66667	.23421	.000	.8094	2.5240
	fraksi air 50%	7.88667	.23421	.000	7.0294	8.7440
	fraksi air 25%	9.44333	.23421	.000	8.5860	10.3006
	fraksi air 12,5%	10.88667	.23421	.000	10.0294	11.7440
		Siprofloxacina	-7.22000	.23421	.000	-8.0773
	DMSO 5%	24.00000	.23421	.000	23.1427	24.8573
fraksi etil asetat 12,5%	ekstrak 50%	7.11333	.23421	.000	6.2560	7.9706
	ekstrak 25%	7.77667	.23421	.000	6.9194	8.6340
	ekstrak 12,5%	8.77667	.23421	.000	7.9194	9.6340
	fraksi n-heksana 50%	9.44333	.23421	.000	8.5860	10.3006
	fraksi n-heksana 25%	10.77667	.23421	.000	9.9194	11.6340
	fraksi n-heksana 12,5%	12.44333	.23421	.000	11.5860	13.3006
	fraksi etil asetat 50%	-3.00000	.23421	.000	-3.8573	-2.1427
	fraksi etil asetat 25%	-1.66667	.23421	.000	-2.5240	-.8094
	fraksi air 50%	6.22000	.23421	.000	5.3627	7.0773
	fraksi air 25%	7.77667	.23421	.000	6.9194	8.6340
	fraksi air 12,5%	9.22000	.23421	.000	8.3627	10.0773
		Siprofloxacina	-8.88667	.23421	.000	-9.7440
	DMSO 5%	22.33333	.23421	.000	21.4760	23.1906
fraksi air 50%	ekstrak 50%	.89333	.23421	.035	.0360	1.7506
	ekstrak 25%	1.55667	.23421	.000	.6994	2.4140
	ekstrak 12,5%	2.55667	.23421	.000	1.6994	3.4140
	fraksi n-heksana 50%	3.22333	.23421	.000	2.3660	4.0806
	fraksi n-heksana 25%	4.55667	.23421	.000	3.6994	5.4140
	fraksi n-heksana 12,5%	6.22333	.23421	.000	5.3660	7.0806
	fraksi etil asetat 50%	-9.22000	.23421	.000	-10.0773	-8.3627
	fraksi etil asetat 25%	-7.88667	.23421	.000	-8.7440	-7.0294

	fraksi etil asetat 12,5%	-6.22000	.23421	.000	-7.0773	-5.3627
	fraksi air 25%	1.55667	.23421	.000	.6994	2.4140
	fraksi air 12,5%	3.00000	.23421	.000	2.1427	3.8573
	Siprofloxacina	-15.10667	.23421	.000	-15.9640	-14.2494
	DMSO 5%	16.11333	.23421	.000	15.2560	16.9706
fraksi air 25%	ekstrak 50%	-.66333	.23421	.265	-1.5206	.1940
	ekstrak 25%	.00000	.23421	1.000	-.8573	.8573
	ekstrak 12,5%	1.00000	.23421	.012	.1427	1.8573
	fraksi n-heksana 50%	1.66667	.23421	.000	.8094	2.5240
	fraksi n-heksana 25%	3.00000	.23421	.000	2.1427	3.8573
	fraksi n-heksana 12,5%	4.66667	.23421	.000	3.8094	5.5240
	fraksi etil asetat 50%	-10.77667	.23421	.000	-11.6340	-9.9194
	fraksi etil asetat 25%	-9.44333	.23421	.000	-10.3006	-8.5860
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.77667	.23421	.000	-8.6340	-6.9194
	fraksi air 50%	-1.55667	.23421	.000	-2.4140	-.6994
	fraksi air 12,5%	1.44333	.23421	.000	.5860	2.3006
	Siprofloxacina	-16.66333	.23421	.000	-17.5206	-15.8060
	DMSO 5%	14.55667	.23421	.000	13.6994	15.4140
fraksi air 12,5%	ekstrak 50%	-2.10667	.23421	.000	-2.9640	-1.2494
	ekstrak 25%	-1.44333	.23421	.000	-2.3006	-.5860
	ekstrak 12,5%	-.44333	.23421	.814	-1.3006	.4140
	fraksi n-heksana 50%	.22333	.23421	.999	-.6340	1.0806
	fraksi n-heksana 25%	1.55667	.23421	.000	.6994	2.4140
	fraksi n-heksana 12,5%	3.22333	.23421	.000	2.3660	4.0806
	fraksi etil asetat 50%	-12.22000	.23421	.000	-13.0773	-11.3627
	fraksi etil asetat 25%	-10.88667	.23421	.000	-11.7440	-10.0294
	fraksi etil asetat 12,5%	-9.22000	.23421	.000	-10.0773	-8.3627
	fraksi air 50%	-3.00000	.23421	.000	-3.8573	-2.1427
	fraksi air 25%	-1.44333	.23421	.000	-2.3006	-.5860
	Siprofloxacina	-18.10667	.23421	.000	-18.9640	-17.2494
	DMSO 5%	13.11333	.23421	.000	12.2560	13.9706
siprofloxacina	ekstrak 50%	16.00000	.23421	.000	15.1427	16.8573
	ekstrak 25%	16.66333	.23421	.000	15.8060	17.5206
	ekstrak 12,5%	17.66333	.23421	.000	16.8060	18.5206
	fraksi n-heksana 50%	18.33000	.23421	.000	17.4727	19.1873
	fraksi n-heksana 25%	19.66333	.23421	.000	18.8060	20.5206
	fraksi n-heksana 12,5%	21.33000	.23421	.000	20.4727	22.1873
	fraksi etil asetat 50%	5.88667	.23421	.000	5.0294	6.7440
	fraksi etil asetat 25%	7.22000	.23421	.000	6.3627	8.0773
	fraksi etil asetat 12,5%	8.88667	.23421	.000	8.0294	9.7440
	fraksi air 50%	15.10667	.23421	.000	14.2494	15.9640
	fraksi air 25%	16.66333	.23421	.000	15.8060	17.5206
	fraksi air 12,5%	18.10667	.23421	.000	17.2494	18.9640
	DMSO 5%	31.22000	.23421	.000	30.3627	32.0773



DMSO 5%	ekstrak 50%	-15.22000 <sup>*</sup>	.23421	.000	-16.0773	-14.3627
	ekstrak 25%	-14.55667 <sup>*</sup>	.23421	.000	-15.4140	-13.6994
	ekstrak 12,5%	-13.55667 <sup>*</sup>	.23421	.000	-14.4140	-12.6994
	fraksi n-heksana 50%	-12.89000 <sup>*</sup>	.23421	.000	-13.7473	-12.0327
	fraksi n-heksana 25%	-11.55667 <sup>*</sup>	.23421	.000	-12.4140	-10.6994
	fraksi n-heksana 12,5%	-9.89000 <sup>*</sup>	.23421	.000	-10.7473	-9.0327
	fraksi etil asetat 50%	-25.33333 <sup>*</sup>	.23421	.000	-26.1906	-24.4760
	fraksi etil asetat 25%	-24.00000 <sup>*</sup>	.23421	.000	-24.8573	-23.1427
	fraksi etil asetat 12,5%	-22.33333 <sup>*</sup>	.23421	.000	-23.1906	-21.4760
	fraksi air 50%	-16.11333 <sup>*</sup>	.23421	.000	-16.9706	-15.2560
	fraksi air 25%	-14.55667 <sup>*</sup>	.23421	.000	-15.4140	-13.6994
	fraksi air 12,5%	-13.11333 <sup>*</sup>	.23421	.000	-13.9706	-12.2560
	Siprofloxacina	-31.22000 <sup>*</sup>	.23421	.000	-32.0773	-30.3627

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

## Homogeneous Subsets

diameter hambat

Tukey HSD<sup>a</sup>

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
DMSO 5%	3	.0000										
fraksi n-heksana 12,5%	3		9.8900									
fraksi n-heksana 25%	3			11.5567								
fraksi n-heksana 50%	3				12.8900							
fraksi air 12,5%	3				13.1133							
ekstrak 12,5%	3				13.5567							
ekstrak 25%	3					14.5567						
fraksi air 25%	3					14.5567						
ekstrak 50%	3					15.2200						
fraksi air 50%	3						16.1133					
fraksi etil asetat 12,5%	3							22.3333				
fraksi etil asetat 25%	3								24.0000			
fraksi etil asetat 50%	3									25.3333		
siprofloksacin	3											31.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	.258	.265	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Kesimpulan : subset 1 terdapat kontrol negatif, subset 10 terdapat kontrol positif, sedangkan pada subset 2 sampai 9 terdapat sediaan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pada subset 9 terdapat fraksi etil asetat 50%, sehingga dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat 50% merupakan fraksi yang paling aktif. Sediaan uji pada subset 4 sampai 5 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas antibakteri.

### Multiple Comparisons

Diameterhambat

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi etil asetat 12,5%	fraksi etil asetat 25%	-1.66667*	.27218	.002	-2.5018	-.8315
	fraksi etil asetat 50%	-3.00000*	.27218	.000	-3.8351	-2.1649
fraksi etil asetat 25%	fraksi etil asetat 12,5%	1.66667*	.27218	.002	.8315	2.5018
	fraksi etil asetat 50%	-1.33333*	.27218	.006	-2.1685	-.4982
fraksi etil asetat 50%	fraksi etil asetat 12,5%	3.00000*	.27218	.000	2.1649	3.8351
	fraksi etil asetat 25%	1.33333*	.27218	.006	.4982	2.1685

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

### diameterhambat

Tukey HSD<sup>a</sup>

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
fraksi etil asetat 12,5%	3	22.3333		
fraksi etil asetat 25%	3		24.0000	
fraksi etil asetat 50%	3			25.3333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

**Kesimpulan** : terdapat perbedaan antara konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%.