

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031



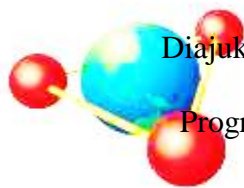
Oleh:

**Natalia Marta Anggraheni
19133714A**

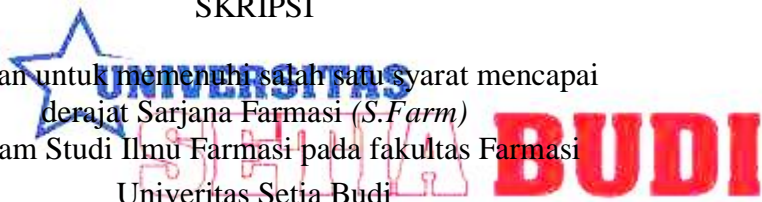
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70%, FRAKSI *n*-
HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI
Klebsiella pneumoniae ATCC 10031**

SKRIPSI



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



Oleh:

**Natalia Marta Anggraheni
19133714A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK 70%, FRAKSI *n*-HEKSANA,
ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI
Klebsiella pneumoniae ATCC 10031**

Oleh:

Natalia Marta Anggraheni
19133714 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Juni 2017



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing Utama

Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Dra. Kartinah W.SU.

Penguji :

- | | |
|---|---------|
| 1. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt. | 1. |
| 2. Dra. Nony Puspawati, M.Si. | 2. |
| 3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si | 3. |
| 4. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt | 4. |

PERNYATAAN

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian, karya ilmiah, atau skripsi orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi baik secara akademis maupun ivokum. Demikian pernyataan ini saya buat dengan semestinya.

Surakarta, Juni 2017



Natalia Marta Anggraheni

PERSEMBAHAN

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

(Amsal 23 : 18)”.

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Tuhan Yesus yang selalu baik dan menyertai setiap langkah dalam kehidupan saya.
2. Sumaryono dan alm. Marjiyatni , Orang tua tercinta yang selalu memberikan doa dukungan dan semangat.
3. Maria Krisnandari, Kakak tersayang yang selalu menghiburku dan memberiku semangat.
4. Priyandika Satya Perkasa yang selalu memberikan dukungan, dorongan sekaligus pendengar dalam suka dan duka yang saya alami.
5. Seluruh keluarga yang selalu menyemangati saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Sahabatku Defita Febriyani, Novia Margarena yang selalu mendoakan dan banyak mendukung saya.
7. Pramestiamurti dan Yasri Lukita, teman seperjuangan praktikum yang sudah membantu dan menyemangati saya dalam melaksanakan penelitian ini.
8. Seluruh teman-teman “FKK 1” dan S1 Farmasi angkatan 2013 yang saling membantu dan berjuang bersama.
9. Almamater, Bangsa, dan Negara yang saya banggakan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yesus Kristus yang telah menyertai, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK 70%, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031”** guna memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan farmasi (S.farm) di fakultas farmasi Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan kerjasama dengan pihak-pihak yang berkaitan, skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta
3. Dewi Ekowati, M.Sc.,Apt selaku pembimbing akademik yang senantiasa membimbing dan memberi nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Fransiska Leviana, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini.
5. Dra. Kartinah W.SU selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Dosen penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam menyempurnakan skripsi ini.
7. Kedua orang tua dan kakak tercinta yang telah memberikan kasih sayang dan doa tiada hentinya, serta dukungan baik moral, spiritual dan material sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Seluruh sahabat, teman-teman seperjuangan S1 farmasi angkatan 2013, dosen dan staf pegawai di Universitas Setia Budi.

9. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari sepenuhnya atas keterbatasan waktu, pengetahuan dan kemampuan sehingga skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca, demi kebaikan penulisan selanjutnya dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kefarmasian.

Penulis

DAFTAR ISI

PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN	iv
PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Cabe	4
1. Sistematika tanaman cabe	4
2. Nama lain	4
3. Morfologi tanaman	4
4. Kandungan kimia	5
B. Simplisia	6
1. Pengertian simplisia	6
2. Pengumpulan simplisia	6
3. Pemilihan simplisia	6
4. Pengeringan	6
5. Penyerbukan	7
C. Ekstraksi	7
1. Pengertian ekstraksi	7
2. Metode remaserasi	7
3. Fraksinasi	7
4. Pelarut	8
4.1 <i>n</i> -heksana	8
4.2 Etil asetat	8
4.3 Air	8
D. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
1. Sistematika bakteri	9
2. Morfologi dan sifat bakteri	9
3. Patogenesis	9
4. Toksin	10
5. Pengobatan	10

E. Antibakteri	10
1. Definisi	10
2. Mekanisme kerja antibakteri.....	10
F. Uji aktivitas antibakteri	12
1. Metode difusi.....	12
2. Metode dilusi	12
G. Media	12
H. Sterilisasi	14
I. Amoksisilin.....	14
J. Landasan Teori	15
K. Hipotesis	16
BAB III METODE PENELITIAN	18
A. Populasi dan Sampel.....	18
1. Populasi	18
2. Sampel	18
B. Variabel Penelitian.....	18
1. Identifikasi variabel utama	18
2. Klasifikasi variabel utama	18
3. Definisi operasional variabel utama	19
C. Bahan dan Alat	20
1. Bahan.....	20
1.1. Bahan sampel	20
1.2. Bakteri uji.....	20
1.3. Medium	20
1.4. Bahan kimia.	21
2. Alat	21
D. Jalannya Penelitian	21
1. Determinasi tanaman	21
2. Pengambilan bahan.....	21
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit.....	22
5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabe rawit.....	22
7. Penetapan persen rendemen.....	23
8. Uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit	23
9. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit.....	23
10. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi teraktif	23
10.1. Identifikasi saponin.	23
10.2. Identifikasi flavonoid..	24
10.3. Identifikasi alkaloid.....	24
10.4. Identifikasi tannin.....	24
11. Sterilisasi	24
12. Pembuatan suspensi bakteri uji	24
13. Isolasi bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	25
13.1 Identifikasi <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	25
13.2 Identifikasi pengecatan Gram.	25

13.3 Identifikasi biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031	25
14. Pengujian aktibakteri daun cabe rawit secara difusi	26
15. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi.....	27
16. Skema jalannya penelitian.....	29
E. Analisa Data	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	36
1. Determinasi daun cabe rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	36
2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun cabe rawit	36
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit.....	36
4. Hasil pembuatan ekstrak daun cabe rawit	37
5. Hasil penetapan kadar air daun cabe rawit	38
6. Hasil penetapan persen rendemen ekstrak daun cabe rawit.....	38
7. Hasil uji bebas etanol ekstrak remaserasi daun cabe rawit.....	38
8. Hasil fraksinasi daun cabe rawit	38
9. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun cabe rawit....	39
10. Hasil pembuatan suspensi bakteri	40
11. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	40
11.1. Hasil identifikasi bakteri secara makroskopis.....	40
11.2. Hasil identifikasi pewarnaan Gram.....	41
11.3. Hasil uji biokimia.....	41
12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara difusi.....	42
13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara dilusi	45
BAB V KESIMPULAN DAN PENUTUP	48
A. Kesimpulan	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman <i>Capsicum frutescens</i>	5
Gambar 2. Skema kerja daun cabe rawit secara remaserasi.....	29
Gambar 3. Skema kerja fraksinasi daun cabe rawit	30
Gambar 4. Skema jalannya penelitian.....	31
Gambar 5. Bagan kerja pembuatan suspensi bakteri	32
Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 dengan metode difusi	33
Gambar 7. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 dengan metode dilusi	34

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit	37
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air dalam ekstrak daun cabe rawit	38
Tabel 3. Persen rendemen fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak daun cabe rawit.....	39
Tabel 4. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi air daun cabe rawit	40
Tabel 5. Identifikasi uji biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.....	41
Tabel 6. Hasil pengujian aktifitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara difusi	43
Tabel 7. Hasil uji dilusi fraksi air pada media Mac Conkey	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan melakukan determinasi tanaman cabe rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	53
Lampiran 2. Foto tumbuhan, daun dan serbuk cabe rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	54
Lampiran 3. Foto alat oven, <i>sterling bedwell</i> , <i>Moisture Balance</i> , maserasi, evaporator dan hasil ekstrak etanolik daun cabe rawit	55
Lampiran 4. Foto alat inkubator, autoklaf , autovortex , inkas dan standar Mc farland 0,5.	56
Lampiran 5. Foto fraksinasi dan hasil fraksinasi	57
Lampiran 6. Foto identifikasi senyawa serbuk, ekstrak dan fraksi air dari daun cabe rawit	58
Lampiran 7. Foto bakteri uji <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031.	59
Lampiran 8. Foto hasil uji difusi.	60
Lampiran 9. Foto hasil uji dilusi	63
Lampiran 10. Perhitungan persen rendemen serbuk daun cabe rawit.....	66
Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabe rawit.....	67
Lampiran 12. Pembuatan larutan stok uji difusi dengan berbagai konsentrasi.....	69
Lampiran 13. Perhitungan diameter daya hambat pada uji aktivitas antibakteri daun cabe rawit terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 secara difusi	71
Lampiran 14. Pembuatan konsentrasi fraksi air metode dilusi	74
Lampiran 15. Komposisi media	76
Lampiran 16. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-).	80

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
BTB	Bromo Thymol Blue
DMSO	Dimetil sulfoksida
FeCl ₃	Ferri Klorida
HCl	Asam Klorida
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KIA	Kligler Iron Agar
LIA	Lysine Iron Agar
MCA	Mac Conkey
Mg	Magnesium
MHA	Muller Hinton Agar
PABA	Para Amino Benzoid Acid
PBP	Penicillin-binding-protein
SIM	Sulfida Indol Motility
UV	Ultraviolet

INTISARI

ANGGRAHANI, N. M., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK 70%, FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN CABE RAWIT (*Capsicum frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penyebab infeksi saluran pernapasan (ISP) adalah masuknya mikroorganisme ke dalam sistem pernapasan. Salah satu mikroorganisme utama penyebab ISP adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pemanfaatan tanaman obat sebagai pengganti antibiotik perlu dilakukan karena peningkatan jumlah resisten bakteri terhadap antibiotika. Daun cabe rawit mengandung tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Serbuk daun cabe rawit diekstraksi dengan metode remaserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian difraksinasi dengan pelarut fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi yang digunakan dalam metode difusi 50%, 25%, dan 12,5% bertujuan untuk mengetahui fraksi teraktif. Fraksi teraktif kemudian dilakukan uji dilusi untuk mengetahui KHM dan KBM menggunakan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,2%; 0,1%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *oneway* guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak dan fraksi daun cabe rawit mempunyai aktivitas antibakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Fraksi teraktif daun cabe rawit yaitu fraksi air dengan nilai KHM tidak dapat ditentukan dan nilai KBM 25%.

Kata kunci : Daun cabe rawit, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

ABSTRACT

ANGGRAHENI, N. M., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT 70%, FRACTION N-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FROM CAYENNE PEPPER LEAVES (*Capsicum frutescens* L.) TO *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITI, SURAKARTA.

The reason of respiratory tract infection is the exposed of microorganism to the respiratory tract. One of the main causes microorganism ISP is *Klebsiella pneumoniae* bacterium. The utilization of medical plants as an antibiotic replacement were necessary because increase in bacterium resistant of antibiotic. Cayenne leaves contain tannins, saponins, flavonoids, and alkaloids. The purpose of this research was to know the antibacterial activities of ethanol extract 70%, the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, and the water fraction of cayenne leaves (*Capsicum frutescens* L.) of *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

The cayenne leaves powder was extracted by macerated method with the ethanol 70%, and then it was fractionated by solvent *n*-hexane, ethyl acetate, and water. Antibacterial activity test was performed using diffusion and dilution methods. The concentration used in the diffusion method was 50%, 25% and 12,5% aimed to determine the most active fraction. The most active fraction is continued dilution test to determine the MIC and MBC with concentration 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,2%, 0,1%. Statistical analysis using one-way ANOVA to determine whether there is a significant difference between the test preparation.

The results showed that all the fractions and extracts cayenne leaves had antibacterial activity. Most active fraction cayenne leaves that is a water fraction with a value of 25% of MCK.

Key words: (*Capsicum frutescens* L.), fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, fraction of water, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi saluran pernapasan adalah penyakit yang umum terjadi pada manusia. Secara umum penyebab dari infeksi saluran pernapasan adalah berbagai mikroorganisme, namun yang terbanyak akibat infeksi virus dan bakteri. Infeksi saluran pernapasan berdasarkan wilayah infeksiya terbagi menjadi infeksi saluran pernapasan atas dan infeksi saluran pernapasan bawah (Depkes 2005). Berdasarkan hasil survei kesehatan nasional 2001 penyakit infeksi saluran pernapasan bawah merupakan salah satu infeksi yang penyebab kematian terbanyak di dunia (Depkes 2001).

Bronkitis adalah penyakit infeksi saluran pernapasan bawah yang ditandai dengan kondisi peradangan pada daerah trakheobronkial. Bronkitis seringkali diklasifikasikan sebagai bronkitis akut dan bronkitis kronis. Bronkitis akut mungkin terjadi pada semua usia, namun bronkitis kronis umumnya hanya dijumpai pada dewasa (Depkes 2005). Bronkitis akut disebabkan infeksi virus dan bronkitis kronis sebagian besar disebabkan oleh bakteri. Salah satu bakteri penyebab bronkitis yaitu *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 (Ikawati 2011).

Klebsiella pneumoniae adalah kuman *Enterobacteriaceae* yang dapat menimbulkan penyakit infeksi. Bentuk klinis penyakit infeksi oleh *Klebsiella pneumoniae* ini adalah infeksi nosokomial, terutama pada penderita dengan imunokompromais, diabetes melitus, penyakit paru obstruktif kronik, alkoholik (Jong 1995). Selain itu *Klebsiella pneumoniae* termasuk dalam *the big three* kuman gram negatif penyebab *febrile neutropenia* (Margono 2006).

Pengobatan klinis untuk menangani penyakit infeksi penggunaan antibiotik sangat diperlukan. Tingginya penggunaan antibiotik secara tidak tepat dalam masyarakat saat ini menyebabkan terjadinya masalah resistensi antibiotik. Permasalahan resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau

bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi (Utami 2012).

Pada saat ini banyak dikembangkan pengobatan alternatif untuk menangani penyakit akibat bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dengan memanfaatkan suatu tanaman herbal sebagai pengganti obat antibiotik. Tanaman cabe rawit banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pada bagian buah sebagai bahan rempah dalam berbagai masakan tradisional, akan tetapi pada bagian daunnya masih belum banyak dimanfaatkan.

Penelitian yang dilakukan oleh Gayathri dkk (2016) menunjukkan analisis fitokimia dari *Capsicum chinense* Jacq. memiliki kandungan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri. Yunita (2012) mengidentifikasi adanya senyawa glikon dan flavonoid pada daun cabe rawit, akan tetapi penelitian tersebut belum membuktikan aktivitas antibakteri daun cabe rawit terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Hasil penelitian Rahim dkk (2014), ekstrak etanolik daun cabe rawit terbukti memiliki potensi yang sama dengan kelompok perlakuan positif (Amoksisilin) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 belum pernah dilakukan sehingga akan dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun cabe rawit terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 ?

Kedua, manakah dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air yang paling aktif aktivitas antibakterinya terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Kedua, untuk mengetahui yang paling aktif aktivitas antibakterinya dari ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Ketiga, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi atau tambahan pengetahuan khususnya di bidang obat tradisional yang berguna bagi masyarakat dalam upaya pemanfaatan daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) sebagai agen antibakteri. Bagi peneliti dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat ekstrak dan fraksi daun cabe sebagai antibakteri khususnya terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dan dapat digunakan untuk acuan penelitian selanjutnya.

BAB II **TINJAUAN PUSTAKA**

A. Tanaman Cabe

1. Sistematika tanaman cabe

Klasifikasi tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) menurut Cronquist (1981) adalah :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak Kelas	: Asteridae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum frutescens</i> L.

2. Nama lain

Capsicum frutescens L. dikenal dengan nama daerah leudeu jarum (Sumatra), cabe rawit (Sunda), lombok rawit (Jawa), cabhi letek (Madura), lada marica (Makasar), dan berbagai nama daerah lainnya. Penggunaan nama nasional Indonesia untuk *Capsicum frutescens* L adalah cabe rawit. Nama nasional *Capsicum frutescens* L di negara lain, yaitu silleng labuyo (Filipina), phrikkhinu (Thailand) dan nama internasionalnya adalah chilli (Inggris).

3. Morfologi tanaman

Secara morfologi, tanaman cabe rawit berupa terna perdu setinggi 50 cm sampai 150 cm, batang bagian atasnya bersudut, serta tidak berbulu. Daun tanaman cabe berbentuk bundar telur sampai lonjong atau bundar telur meruncing, 1 cm sampai 12 cm, tidak berbulu atau 2 sampai 3 bunga letaknya berdekatan. Mahkota bunga berbentuk bintang, berwarna putih, putih kehijauan atau kadang-kadang ungu, garis tengahnya 1,75 mm sampai 2 mm. Kelopak bunga berbulu dan tidak berbulu, panjang 2 mm sampai 3 mm. buah tegak kadang-kadang pada tanaman hibrid buah merunduk, berbentuk bulat telur, jorong panjang 0,75 mm

sampai 1,50 mm, lebar 2,5 cm sampai 12 cm, buah muda berwarna hijau tua putih kehijauan dan putih apabila masak berwarna merah terang cabe rawit diperbanyak dengan biji



Gambar 1. Tanaman *Capsicum frutescens* (Yunita 2012)

Dikenal tiga varietas cabe rawit, yakni: (1) cabe rawit atau cengek leutik: buahnya kecil, berdiri tegak pada tangkainya, yang muda berwarna hijau, setelah tua berubah jadi merah; (2) cengek domba atau cengek bodas: buahnya lebih besar dari cengek leutik, yang muda berwarna putih setelah tua berubah jadi jingga; (3) ceplik: buahnya besar, yang muda berwarna hijau setelah tua berubah jadi merah.

Tanaman cabe rawit berasal dari Amerika di daerah tropik. Tumbuh di Pulau Jawa dan daerah lainnya di Indonesia. Di Jawa tumbuh di dataran rendah hingga pegunungan, pada ketinggian tempat 0,5 m sampai 1.250 m di atas permukaan laut.

4. Kandungan kimia

Genus *Capsicum* merupakan sumber utama senyawa fenol (Howard dkk 2000). Tanaman cabe sendiri banyak mengandung flavonoid, yang banyak diteliti aktivitas antibakterinya. Senyawa kimia yang terdapat banyak dalam buah cabe rawit adalah vitamin C, vitamin E, beta karoten, dan pigmen karotenoid. Karotenoid seperti kapsantin, kapsorubin, dan kriptokapsin. Kandungan kimia

yang terdapat pada daunnya antara lain tannin, saponin dan flavonoid (Yunita 2012).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Menurut Departemen Kesehatan RI (2000) simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, yaitu bahan yang telah dikeringkan. Dengan kata lain, simplisia merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Simplisia dibedakan atas simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel berupa suatu senyawa nabati yang dikeluarkan dari sel tumbuhan, baik secara spontan atau dengan cara tertentu. Eksudat ini belum berupa senyawa kimia murni.

2. Pengumpulan simplisia

Senyawa aktif yang terbentuk sangat erat dengan waktu panen (Depkes 1985) Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda tergantung pada bagian yang digunakan, umur tanaman, atau bagian tanaman saat dipanen, waktu panen dan lingkungan dan lingkungan tempat tumbuh. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun.

3. Pemilihan simplisia

Pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari partikel asing yang merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga dan kotoran hewan, bau dan warnanya tidak boleh menyimpang, tidak boleh mengandung lendir atau adanya tanda-tanda pengotor lain serta tidak boleh berbahaya dan beracun (Depkes 1985).

4. Pengeringan

Tujuan dari pengeringan ialah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi oleh bakteri, menghilangkan aktifitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif serta memudahkan proses

pengolahan selanjutnya. Pengeringan ini dilakukan dengan alat pengering. Pada waktu pengeringan ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, antara lain suhu pengeringan, kelembaban, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

5. Pembuatan serbuk

Untuk meningkatkan luas permukaan dari bahan sehingga senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan dapat ditarik secara optimal maka dilakukan penyerbukan. Daun cabe rawit yang sudah dikeringkan kemudian diserbuk dengan cara diblender dan diayak, kemudian dilakukan perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun cabe rawit (Voigt 1995).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah perpindahan zat aktif dari dalam sel lalu ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor dan untuk pemilihan larutan harus memenuhi kriteria antara lain murah, mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkasiat, diperbolehkan oleh peraturan (Depkes 1986).

2. Metode remaserasi

Maserasi adalah proses pengekstrasian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan dengan suhu ruangan. Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Pelarut kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama (Depkes 2000).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan kepolaran suatu senyawa. Pelarut polar akan melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar, dan untuk senyawa-senyawa nonpolar akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Pada awalnya ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok

kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut dengan pelarut polar (Harborne 1987).

Fraksinasi menggunakan ekstraksi cair-cair, bersifat sederhana, bersih, cepat serta mudah. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu tehnik dimana suatu larutan dibuat bersentuhan dengan pelarut kedua (organik), yang pada hakekatnya tak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (*solute*) ke pelarut kedua. Pemisahan ini dilakukan dengan mengocok dalam dalam corong pemisah selama beberapa menit (Basset *et al.* 1994).

4. Pelarut

Pemilihan pelarut ada beberapa faktor yang harus dipertimbangkan yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkasiat, dan pelarut yang digunakan antara lain :

4.1 *n*-heksana. Pelarut *n*-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat *volatile*, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzene, kloroform, eter (Martindale 1993). Pelarut *n*-heksana dapat melarutkan senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, triterpenoid, dan sterol, alkaloid, fenil propanoid (Depkes 1987).

4.2 Etil asetat. Etil asetat adalah pelarut semipolar, mudah menguap dan terbakar, maka untuk penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform (Depkes 1986). Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, polifenol (Harborne 1987).

4.3 Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Enzim dapat

dilarutkan oleh air sehingga dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatis, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi dengan adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat aktif ikut tersari serta zat lain yang tidak diperlukan dapat mengganggu proses penyarian. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, saponin, dan tannin (Depkes 1986).

D. *Klebsiella pneumoniae*

1. Sistematika bakteri

Sistematika bakteri *Klebsiella pneumoniae* menurut Rahardja (2006) adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Bangsa	: Enterobacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: <i>Klebsiella</i>
Jenis	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

2. Morfologi dan sifat bakteri

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek, mempunyai ukuran 0,5 µm x 3,0 µm, mempunyai selubung/kapsul, tidak berspora dan tidak berflagel, mengurai laktosa, membentuk kapsul baik *in vivo* atau *in vitro* sehingga koloni berlendir (mukoid).

3. Patogenesis

Flora endogen menjadi patogen ketika memasuki saluran pernapasan. *Klebsiella pneumoniae* masuk ke dalam jaringan paru melalui saluran pernapasan. Terjadi penghancuran jaringan, terbentuk daerah purulen, dan nekrosis parenkim paru, bronkiektasis, bakteri masuk dalam aliran darah, septicemia, abses liver. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* sering menimbulkan infeksi pada traktus urinarius karena infeksi nosokomial, meningitis dan pneumonia pada penderita diabetes mellitus dan pecandu alkohol. Bakteri ini menimbulkan gejala demam akut,

malaise dan batuk kering kemudian batuknya menjadi produktif serta menghasilkan sputum berdarah dan purulent. Bila berlanjut akan terjadi abses nekrosis jaringan paru, bronkiektasis dan fibrosis paru-paru (Fatimah 2010).

4. Toksin

Klebsiella pneumoniae dapat menyebabkan konsolidasi nekrosis hemoragik yang luas pada paru-paru. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan infeksi saluran kemih dan bacteremia dengan lesi fokal pada penderita yang lemah (Rahardja 2006).

5. Pengobatan

Infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* diobati dengan antibiotik yang mengandung beta-laktam. Salah satu contoh antibiotiknya adalah amoksisilin (Fatimah 2010).

E. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri merupakan suatu zat atau senyawa yang dapat menekan, menghambat pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif. Antibakteri berdasar toksisitas selektif, ada yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba (aktivitas bakteristatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (aktivitas bakterisid) (Ganiswara 1995).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri yaitu mengganggu metabolise mikroba, menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Jawetz *et al.* 1986).

Pertama, mengganggu metabolisme mikroba, mikroba butuh asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari *Para Amino Benzoid Acid* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Bila antimikroba bersaing dengan PABA pada pembentukan asam folat, maka akan terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan asam folat tidak

terpenuhi sehingga menyebabkan bakteri menjadi mati (Ganiswara 1995). Contoh antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamide dan trimetroprin (Bakung 2014).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri, dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara 1995). Contoh antibakteri golongan antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin (Radji 2002).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel, selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membrane sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Ganiswara 1995). Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga mempengaruhi kehidupan sel bakteri, antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida dan poliena misalnya amfotrisin B (Radji 2002).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri, untuk kelangsungan hidupnya, bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu mekanisme kerja bakteri ialah menyebabkan tRNA salah membaca kode mRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel bakteri (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji 2002).

Kelima, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang mempunyai mekanisme kerja seperti ini pada umumnya bersifat toksik kurang selektif, karena antibakteri ini pada umumnya bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah asam nalidiksat dan golongan kuinolon (Radji 2002).

F. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat diperlukan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi atau pengenceran.

1. Metode difusi

Metode difusi dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tak beralas. Metode sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu kedalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Faktor yang mempengaruhi metode difusi agar antara lain faktor fisika kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *et al.* 2001).

2. Metode dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan cara mencampur suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda secara homogen atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan dari metode dilusi ialah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 1986).

G. Media

Media ialah kumpulan zat organik untuk menumbuhkan bakteri dengan cara tertentu. Bakteri sebagai makhluk hidup mempunyai kebutuhan dasar yang sama meliputi air, karbon, energi, mineral, dan faktor tumbuh. Keasaman (pH)

medium sangat penting bagi pertumbuhan organisme terutama kerja enzim sangat dipengaruhi oleh pH (Hadioetomo 1985).

Media terdiri atas campuran nutrisi atau zat makanan yang dipakai untuk menumbuhkan mikroba dan perhitungan jumlah mikroba. Ada tidaknya penambahan zat pematik seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya menentukan bentuk suatu media dan bentuk media sendiri ada tiga jenis yaitu media padat, cair, dan semi padat.

Konsistensi media dapat disesuaikan dengan kebutuhannya. Untuk biakan mikroorganisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji biasanya digunakan media cair. Dalam media cair bila tidak ditambahkan zat pematik, biasanya media cair dipergunakan untuk perbaikan mikroalga juga mikroba lain, terutama untuk bakteri dan ragi.

Pengamatan morfologi koloni serta isolasi biakan murni biasanya digunakan media padat. Dan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi digunakan media semi solid. Media semi solid penambahan zat pematik hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik (Suriawiria 1985).

Media berdasarkan konsistensinya dibedakan menjadi 3 yaitu media padat, umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikroba, media air dipergunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi juga mikroba lain terutama bakteri dan ragi, media semi padat dan semi cair, umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang memerlukan kandungan air dan hidup anaerobik atau fermentatif (Suriawira 1995).

Media berdasarkan susunan kimia digolongkan menjadi 4 antara lain media anorganik, yaitu media yang tersusun dari bahan-bahan anorganik, media organik, yaitu media yang susunannya terdiri dari bahan-bahan organik, media sintetik, yaitu media yang susunan kimianya diketahui dengan pasti, umumnya digunakan untuk mempelajari makanan suatu mikroba dan media non sintetik, yaitu media yang susunan kimianya tidak diketahui dengan pasti, umumnya

digunakan untuk menumbuhkan dan mempelajari taksonomi mikroba (Sutedjo *et al.* 1991)

H. Sterilisasi

Peralatan yang digunakan dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, yang berarti pada bahan atau peralatan tersebut tidak terdapat mikroba yang tidak diharapkan, baik yang mengganggu atau merusak media maupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2004).

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat atau media dari mikroba. Cara untuk sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar α , sinar-X, sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Secara mekanik yaitu dengan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008).

I. Amoksisilin

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang rentan pada penisilinase dan secara kimia maupun farmakologinya berhubungan dengan ampisilin. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara membunuh bakteri dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih protein mengikat penisilin PBP (*Penicillin-binding-protein*) yang pada gilirannya menghambat langkah akhir transpeptidasi, sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga menghambat biosintesis dinding sel. Bakteri akan lisis akibat aktivitas enzim autolitik dinding sel yang sedang berlangsung (autolysins dan murein hidrolase) sementara perakitan dinding sel dihambat. Spektrum antimikroba ini pada dasarnya sama dengan ampisilin, tetapi amoksisilin kurang efektif untuk shigelosis dibandingkan ampisilin (Goodman & Gilman 2007).

J. Landasan Teori

Tumbuhan cabe rawit terutama bagian daun, berkhasiat sebagai alternatif pengobatan infeksi saluran pernapasan. Kandungan zat aktif yang terdapat dalam daun cabe rawit yaitu glikon dan flavonoid (Yunita 2012). Pada penelitian sebelumnya, hasil penelitian Rahim (2014) menunjukkan bahwa daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan 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 nonpolar, kemudian disari dengan semipolar, dan yang terakhir disari dengan pelarut polar (Harborne 1987).

Pelarut etanol adalah pelarut serbaguna digunakan untuk ekstraksi awal. Etanol dapat melarutkan minyak menguap, glikosida, flavonoid, kurkumin, alkaloid basa, kumarin, antrakinon, steroid, damar, lemak, malam, tanin, klorofil, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986). Pelarut *n*-heksana dapat melarutkan lemak, asam lemak tinggi, karotenoid, minyak atsiri, triterpenoid, steroid. Kandungan kimia tersebut, kemungkinan terdapat klorofil dan resin yang bersama dengan lemak lebih sering disebut sebagai senyawa pengotor (Anonim 1987). Pelarut etil asetat adalah pelarut semipolar yang dapat menyari komponen minyak atsiri tertentu, asam lemak, dan senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan flavonoid (Harborne 1987). Pelarut air dapat melarutkan gula, gom, pati, protein, enzim, lender, lilin, lemak peptida, minyak menguap, garam alkaloid, zat warna, dan asam organik (Depkes 1986).

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek, mempunyai ukuran 0,5 μm x 3,0 μm , mempunyai selubung/ kapsul, tidak berspora dan tidak berflagel, mengurai laktosa, membentuk kapsul baik *invivo* atau *invitro* sehingga koloni berlendir (mukoid).

Uji difusi adalah suatu uji aktifitas dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum diolesi bakteri uji. Konsentrasi yang digunakan untuk uji difusi adalah 12,5%, 25% dan 50%. Setelah diinkubasi lalu pertumbuhan mikroba diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling cakram (*disk*).

Uji dilusi adalah metode antibakteri menggunakan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair atau padat. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Media kemudian diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Pada uji dilusi ini menggunakan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,097%.

Keuntungan metode dilusi adalah diketahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Bahan uji pada metode dilusi cair bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode ini adalah memerlukan waktu relatif lebih lama, dan tidak praktis (Jawetz *et al.* 1986).

K. Hipotesis

Dari permasalahan yang ada, maka hipotesis pada penelitian aktivitas antibakteri ini adalah

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabe rawit memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Kedua, fraksi etil asetat daun cabe rawit adalah fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) hasil fraksi teraktif dalam membunuh dan menghambat *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 ditentukan dari hasil penelitian.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ialah daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua yang masih segar dari CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah serbuk daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang dibuat ekstrak dengan pelarut etanol 70% lalu dilanjutkan fraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan air.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan fraksi air daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi variabel utama terdapat berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel lain. Variabel kendali merupakan variabel yang

mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat.

Variabel bebas dalam penelitian ini ialah remaserasi, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari ekstraksi dengan cara remaserasi dengan etanol 70% dan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air dengan berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 yang dipengaruhi oleh fraksinasi daun cabe rawit yang dilihat dari aktivitas antibakteri pada media selektif.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 serta jumlah koloni bakteri. Kondisi laboratorium (meliputi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril, media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, dan metode remaserasi).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun cabe rawit adalah bagian dari tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh dari CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun cabe rawit adalah daun cabe rawit yang di ambil kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dengan pemanas buatan yaitu dioven pada suhu 40⁰C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol 70% daun cabe rawit adalah hasil ekstraksi secara remaserasi dari serbuk daun cabe rawit dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah fraksi dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebagai pelarut nonpolar, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semipolar, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah hasil fraksinasi dari residu etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar, kemudian dipekatkan dengan waterbath.

Ketujuh, bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi untuk mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif adalah pelarut Dimetilsulfoksida (DMSO) dan kontrol positif antibiotik amoksisilin. Metode dilusi yaitu berupa seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi : 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098% dengan kontrol positif suspensi bakteri dan kontrol negatif fraksi teraktif.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) diambil dari CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

1.2. Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

1.3. Medium. *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mac Conkey* (MCA), *Muller Hinton Agar* (MHA). Reagen untuk pengecatan Gram larutan *kristal violet* (Gram A), *lugol iodine* (Gram B), etanol 70% (Gram C), *safranin* (Gram D). Media untuk uji biokimia adalah medium *Kligler Iron Agar* (KIA), medium *Lysine Iron Agar* (LIA), medium *Sulfida Indol Motility* (SIM), medium *Citrat*. Standar *Mc Farland* 0,5.

1.4. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, *n*-heksana, etil asetat, aquadest steril, xilen, DMSO 1%, HCl, FeCl₃, H₂SO₄ pekat, Mg

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven 40⁰C, alat penyerbuk, ayakan mess 40, *moisture balance*, *sterling bidwell*, *rotary evaporator*, corong pisah, mikropipet, timbangan analitik, corong, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan penguap, botol maserator, aluminium foil, gelas ukur, dan kertas saring, *vakum Buchner*.

Alat uji aktivitas antibakteri digunakan adalah autoklaf, inkubator, inkas, jarum ose, tabung reaksi, oven, lampu spiritus, kapas lidi steril, cawan petri, beaker glass, pipet ukur, penggaris, tabung reaksi, dan pinset.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini ialah determinasi tanaman daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman cabe rawit, dengan mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dengan acuan buku. Tanaman cabe rawit diideterminasi di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Sampel daun cabe rawit diambil secara acak dengan memilih daun yang masih segar diambil dari CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

3. Pembuatan serbuk cabe rawit

Pembuatan serbuk cabe rawit dibuat dengan cara 16 kg daun cabe rawit dicuci bersih lalu dikeringkan dan dioven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Hasil berat kering yang didapatkan adalah 3150 gram, kemudian diserbuk dengan mesin penyerbuk lalu diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga didapatkan serbuk daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) sebanyak 2500 gram yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Tujuan dari penyerbukan ini adalah agar luas permukaan partikel

bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sehingga penyarian dapat langsung secara efektif.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

Penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit digunakan menggunakan alat *moisture balance*. Suhu *moisture balance* diatur yaitu sebesar 105⁰C dan waktu pengeringan secara manual hingga kering kemudian dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00 kemudian 2 gram serbuk daun cabe rawit dimasukkan. Tunggu sampai alat berbunyi, menandakan hasil analisa telah selesai. Kadar air memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Kemenkes 2008).

5. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun cabe rawit

Ekstraksi daun cabe rawit dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi yang mengacu pada penelitian sebelumnya (Rahim, dkk 2014). 2200 gram serbuk kering daun cabe rawit dimasukkan ke dalam maserator, kemudian 22 L pelarut etanol 70% ditambahkan. Pada 6 jam pertama serbuk cabe rawit direndam sambil sesekali diaduk, lalu diamkan selama 24 jam. Maserat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kain flannel dengan bantuan *vakum Buchner* untuk mendapatkan sarinya. Penyarian ini dilakukan dua kali dengan jumlah dan jenis pelarut yang sama. Maserat kemudian diletakkan diatas *evaporator* suhu 60⁰C untuk menghilangkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental (Kemenkes 2008)

6. Penetapan kadar air daun cabe rawit

Penetapan kadar air dari daun cabe rawit menggunakan *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun cabe rawit 20 gram kemudian dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai ekstrak terendam lalu alat *sterling bidwell* dipasang. Labu dipanaskan dengan lampu spirtus dan apabila tetesan sudah tidak terdapat air yang menetes pemanasan dihentikan kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b (Kemenkes 2013).

7. Penetapan persen rendemen

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil dari ekstrak kemudian dibagi berat serbuk daun cabe rawit kering dan dikalikan 100%

$$\%Rendemen = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk daun cabe rawit}}$$

8. Uji bebas etanol ekstrak daun cabe rawit

Uji bebas etanol daun cabe rawit dilakukan dengan cara esterifikasi etanol, yaitu ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak terdapat etanol (Voigt 1995).

9. Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun cabe rawit kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol dan 65 mL aquadest, difraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksana masing-masing 75 mL, Dalam proses fraksinasi dengan corong pisah, fase *n*-heksana terletak di atas dan fase air terletak di bawah. Fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan dengan menggunakan evaporator. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 mL. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang terletak di atas dan fraksi air bawah kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sedangkan fraksi air dipekatkan dalam penangas air.

10. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi teraktif

Identifikasi kandungan kimia digunakan untuk membuktikan adanya kandungan kimia yang terdapat pada daun cabe rawit.

10.1. Identifikasi saponin. Masukkan 0,5 gram serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi air daun cabe rawit masing-masing ke dalam tabung reaksi, tambahkan air panas lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).

10.2. Identifikasi flavonoid. Masukkan 0,5 gram serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi air daun cabe rawit masing-masing ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 1-2 mL etanol panas 50% (v/v). Kemudian ke dalam larutan dimasukkan serbuk magnesium dan ditambahkan larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan 1 mL pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989).

10.3. Identifikasi alkaloid. Masukkan 0,5 gram serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi air daun cabe rawit masing-masing ke dalam tabung reaksi, ditambah sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian tambahkan reagen Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1987).

10.4. Identifikasi tannin. Masukkan 0,5 gram serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi air daun cabe rawit masing-masing ke dalam tabung reaksi ditambah 10 mL air panas lalu dipanaskan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrate yang diperoleh disebut larutan B. 5 mL larutan B ditambah FeCl_3 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya warna biru tua atau hitam kehijauan (Robinson 1995).

11. Sterilisasi

Alat-alat gelas yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu hingga bersih. Alat dan bahan dibungkus dengan koran. Masukkan ke dalam oven untuk sterilisasi dengan suhu 160°C selama 2 jam. Sterilisasi media menggunakan autoclav dengan suhu 121°C selama 15 menit.

12. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dalam biakan murni pada media NA diambil 1 ose lalu dimasukkan kedalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 mL secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dipipet 0,01 mL dimasukkan dalam 10 mL BHI sehingga didapatkan kekeruhan yang setara dengan standar *McFarland* 0,5 yang mengandung bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

13. Isolasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*

13.1 Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*. Prinsip identifikasi *Klebsiella pneumoniae* dengan melihat gambaran mikroskop, isolasi primer pada media, melihat penampakan koloni pada medium. Identifikasi *Klebsiella pneumoniae* diinokulasikan secara perataan dengan ose pada seluruh permukaan *Medium Mac Conkey Agar*. Bakteri diinkubasikan secara aerob pada suhu kamar 37°C selama 24 jam. Hasil positif Koloni *Klebsiella pneumoniae* tampak berwarna merah muda mukoid pada medium Mac Conkey (laktosa positif) (Buxton 2005).

13.2 Identifikasi pengecatan Gram. Bakteri yang dicurigai *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 pada pengamatan koloni, diambil satu ose kemudian dioleskan pada obyek glass dan ditambah satu tetes aquadest kemudian dilewatkan di atas nyala bunsen atau difiksasi kemudian ditunggu 1 menit dan preparat siap dicat. Smear pada objek glass kemudian ditetesi dengan Gram A (larutan kristal violet) ± 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram B (*lugol's iodine*) ± 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram C (etanol 70%) ± 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram D (safranin) diamkan ± 1 menit kemudian dibilas. Objek glass yang telah dilakukan pengecatan dilihat di mikroskop.

13.3 Identifikasi biokimia *Klebsiella pneumoniae*. Identifikasi *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dengan cara ditanam pada media KIA, LIA, dan SIM, Citrat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi hasil dilakukan dengan mencocokkan evaluasi hasil penanaman pada media biokimiawi dengan tabel identifikasi Enterobacteriaceae. Pada media KIA menunjukkan perubahan warna pada bagian dasar berwarna kuning dan bagian miring juga berwarna kuning disebabkan *Klebsiella* memfermentasi laktosa yang bersifat asam sehingga terbentuk warna kuning (Jawetz, et al, 2001). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memproduksi gas, tetapi tidak memproduksi H₂S.

Hasil uji biokimiawi media LIA yaitu media tetap berwarna ungu yang menunjukkan *Klebsiella pneumoniae* mampu mendekarboksilasi lisin (bersifat

basa), selain itu tidak terbentuknya endapan berwarna hitam pada dasar media, hal ini menunjukkan bahwa tidak terbentuknya H₂S.

Sulfur Indol Motility (SIM). Media SIM adalah perbenihan semi solid yang dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H₂S, indol dan motility dari bakteri. Hampir semua bakteri *Klebsiella* membentuk indol kecuali tipe *pneumonia* dan *ozaenae*. Motility negatif sesuai dengan morfologi *Klebsiella* yang tidak memiliki flagella. sedangkan pembentukan H₂S juga tak terlihat pada semua jenis *Klebsiella*.

Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Enzim sitrat yang dihasilkan bakteri memecah sitrat yang berasal dari natrium sitrat dalam media menjadi piruvat yang selanjutnya akan direduksi pada proses fermentasi. Uji sitrat menggunakan indikator bromthymol blue. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri dan terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru yang disebabkan oleh peningkatan pH medium di atas 7,6 karena adanya ammonia yang dihasilkan yang berasal dari monoammonium phosphate yang terdapat pada medium. Biakan diinokulasi pada media simmon sitrat agar dengan inokulum yang tipis kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika hasil positif terjadi perubahan warna indikator dari hijau menjadi biru yang bermakna pertumbuhan bakteri pada medium sitrat menghasilkan keadaan alkalis dan bakteri telah menggunakan sitrat. *Klebsiella sp.* memberikan reaksi positif terhadap penggunaan sitrat (Elmer 2006).

14. Pengujian aktibakteri daun cabe rawit secara difusi

Ekstrak etanol fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) yang diperoleh diuji secara mikrobiologi pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Pengujian daya antibakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Difusi adalah metode yang digunakan dengan cara menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media *Muller Hinton Agar* (MHA) dengan metode perataan (*Spread Plate Method*) kemudian medium didiamkan selama 15 menit pada suhu kamar agar suspensi

biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut dibagi menjadi 6 bagian dengan jarak yang sama. Mengambil 20 µl dengan mikropipet amoksisilin, DMSO 5%, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air kemudian diteteskan dalam cakram kosong. Cakram dari semua konsentrasi kemudian diletakkan diatas media. Konsentrasi ekstrak dan fraksi masing-masing 50%, 25% dan 12,5%. Pembuatan konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air menggunakan pelarut DMSO 5%, sedangkan amoksisilin dilarutkan dalam aquadest steril. Masa inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar disk yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia daun cabe rawit memiliki daya hambat terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

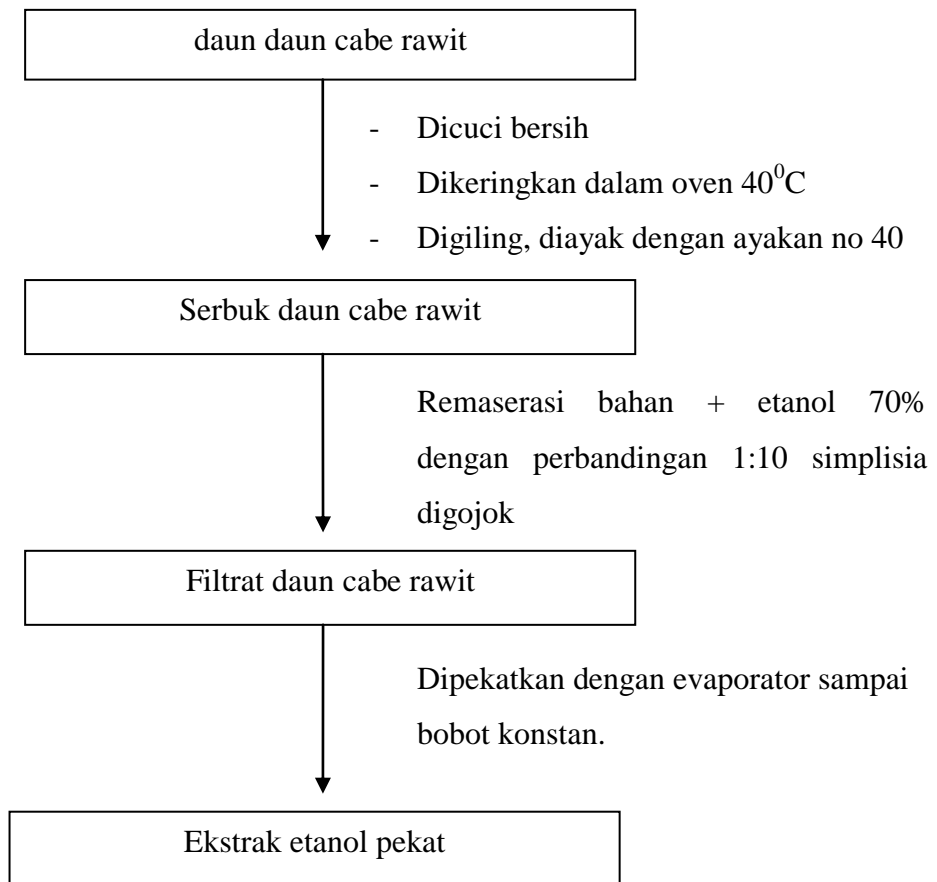
15. Pengujian antibakteri daun cabe rawit secara dilusi

Metode dilusi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi paling rendah yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril secara aseptis. Pada metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan tabung sebagai kontrol negatif.

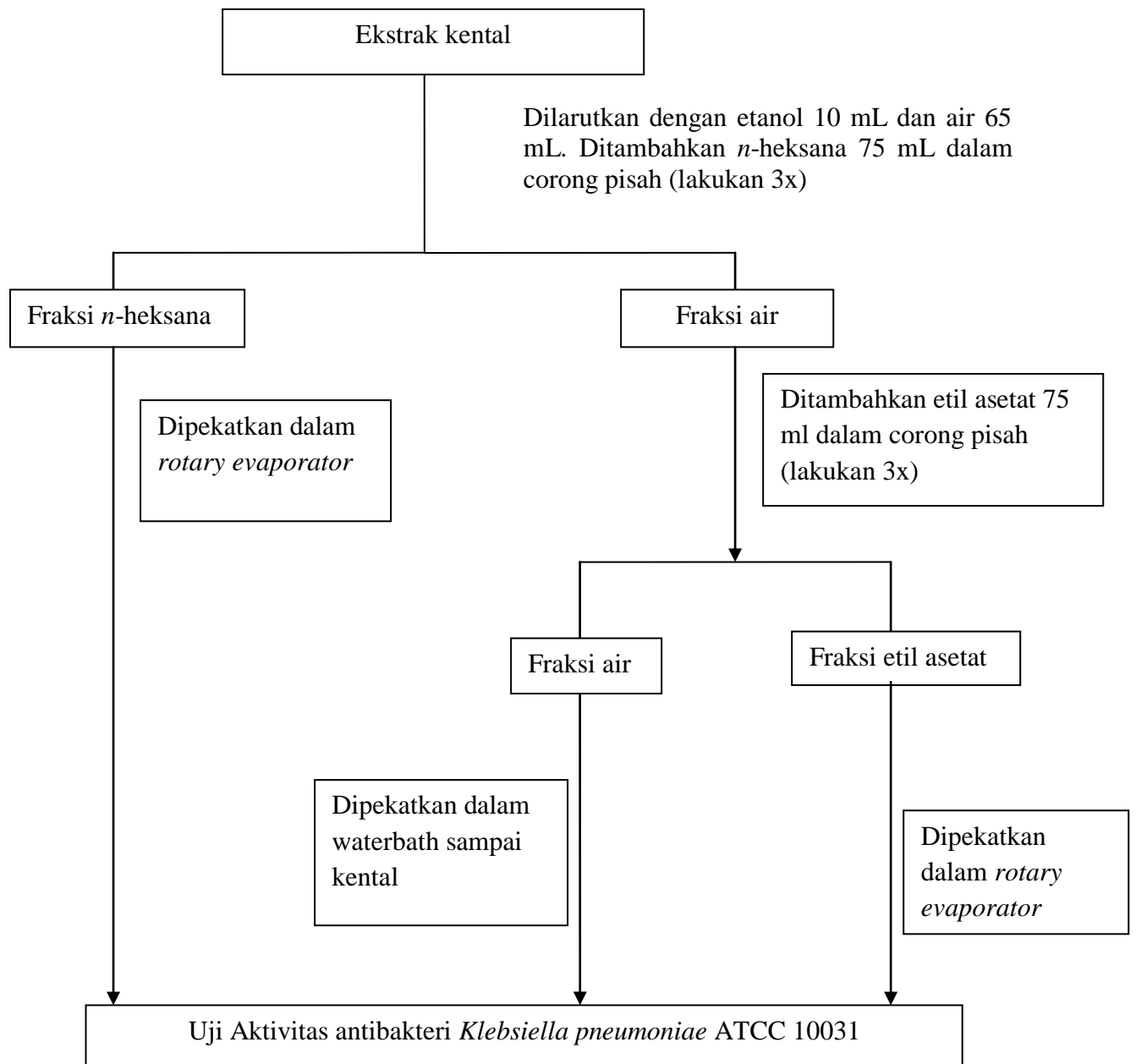
Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5% yang merupakan pelarut polaritas efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik maupun anorganik. Konsentrasi pengenceran pada masing-masing tabung diantaranya 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,097%. Pada tabung kedua berisi 0,5 mL fraksi air. Medium BHI dimasukkan 0,5 mL ke dalam tabung ketiga sampai tabung kesebelas secara aseptis. Tabung ketiga yang telah berisi medium BHI 0,5 mL ditambah fraksi 0,5 mL. Dari tabung ketiga diambil 0,5mL larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung keempat dan begitu seterusnya sampai tabung kesebelas, dari tabung kesebelas diambil 0,5 mL kemudian dibuang kemudian terakhir ditambahkan suspensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* 0,5 mL pada tabung kedua sampai tabung kesebelas. Kontrol negatif berisi 1 mL larutan stok fraksi teraktif dan kontrol positif berisi 1 mL suspensi bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Inkubasi pada suhu

kamar selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan cara melihat tabung yang jernih dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Amati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat dilihat karena larutan berwarna sehingga sulit untuk dilakukan pengamatan tabung yang jernih. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media *Mac Conkey* dimana tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

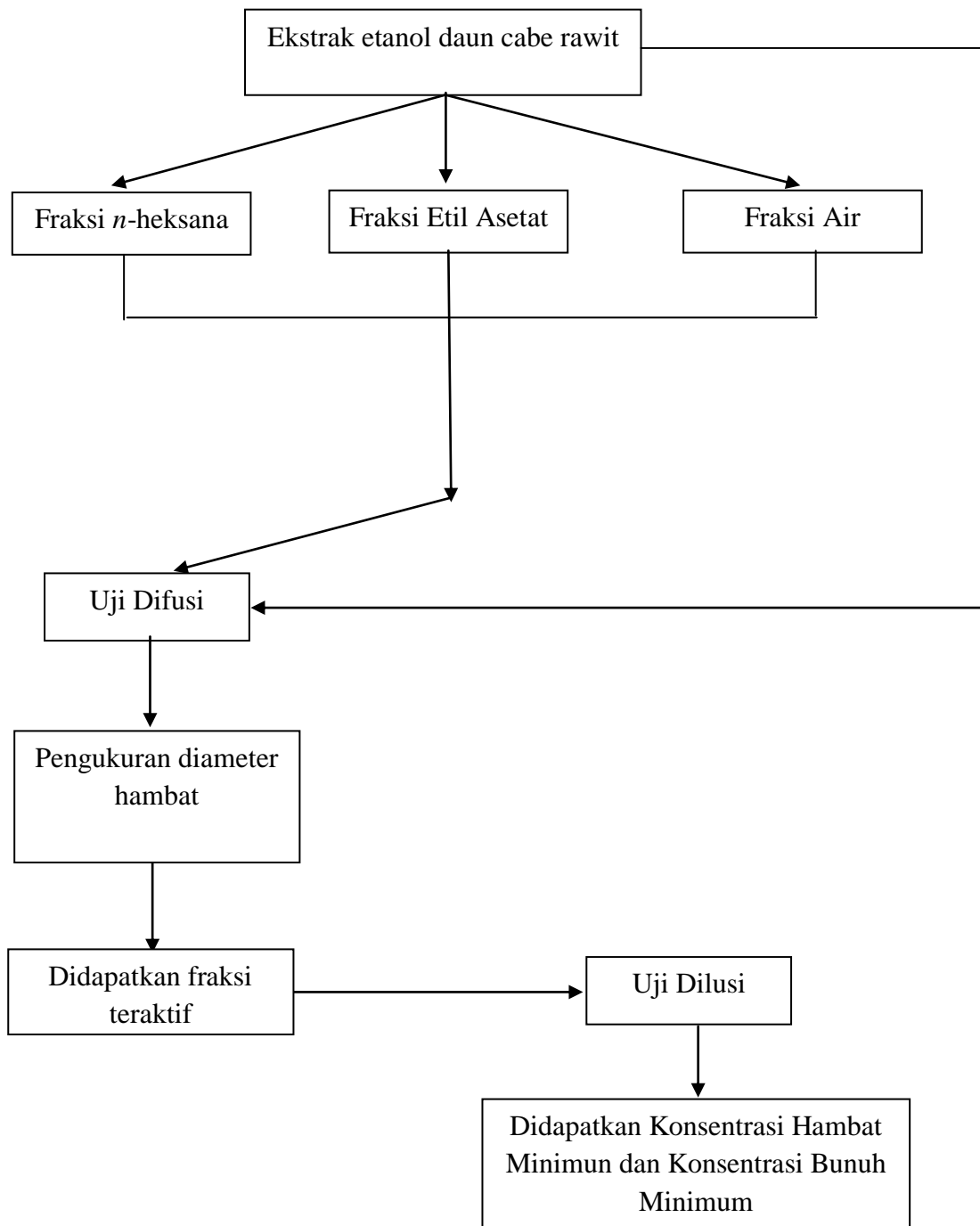
16. Skema jalannya penelitian



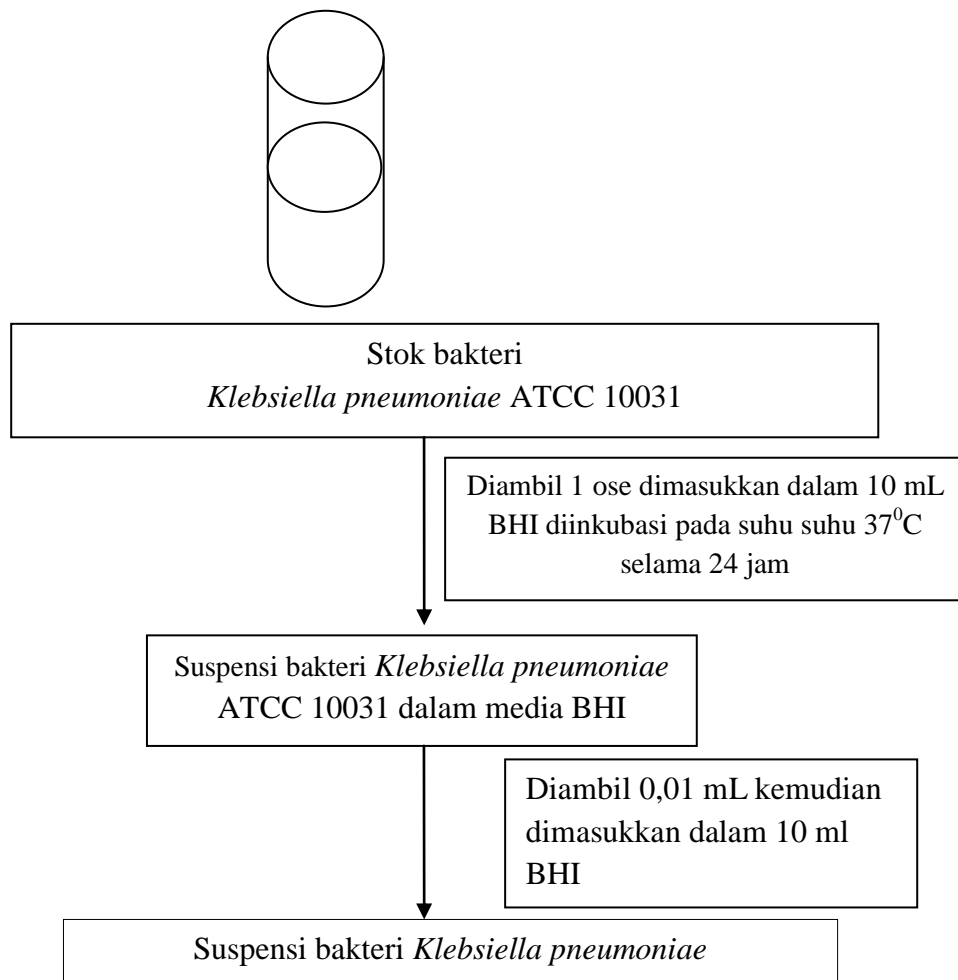
Gambar 2. Skema kerja daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) secara remaserasi.



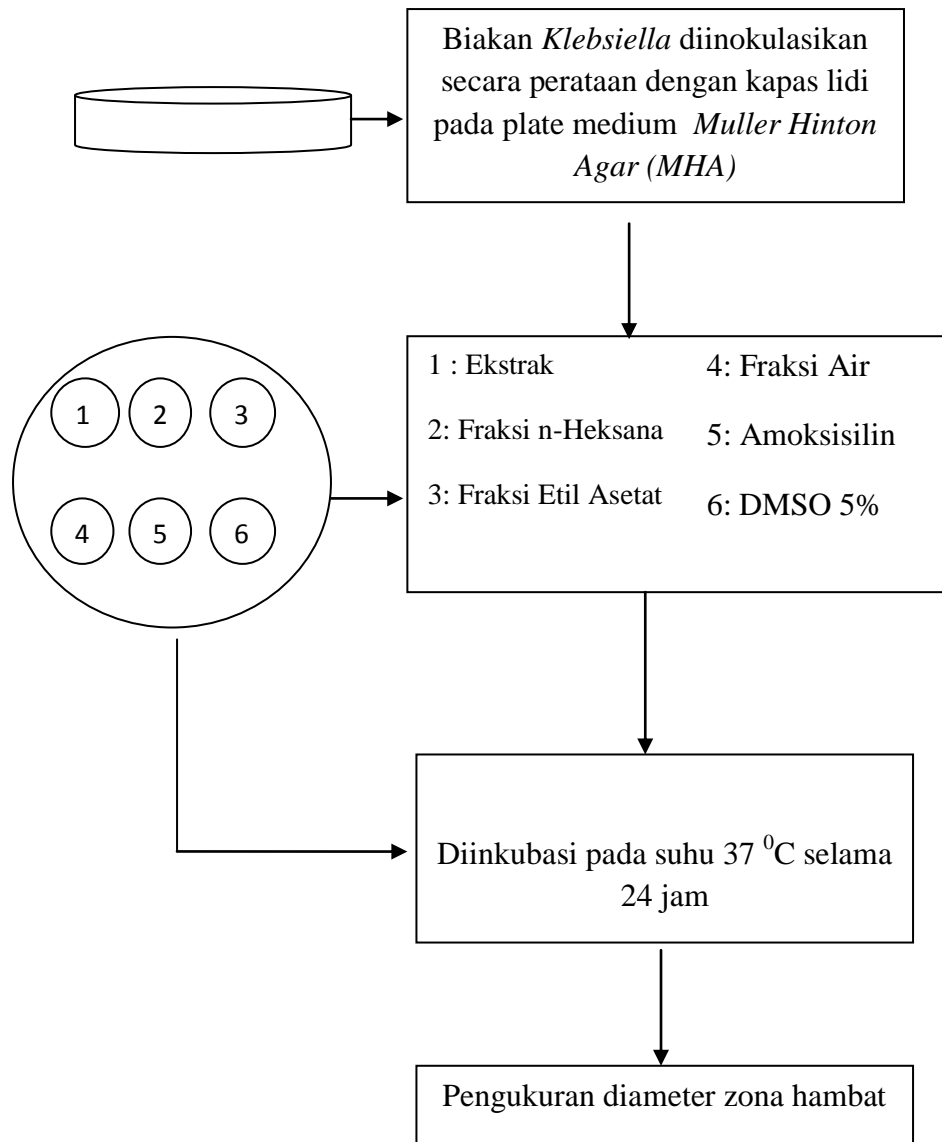
Gambar 3. Skema kerja proses fraksinasi daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.).



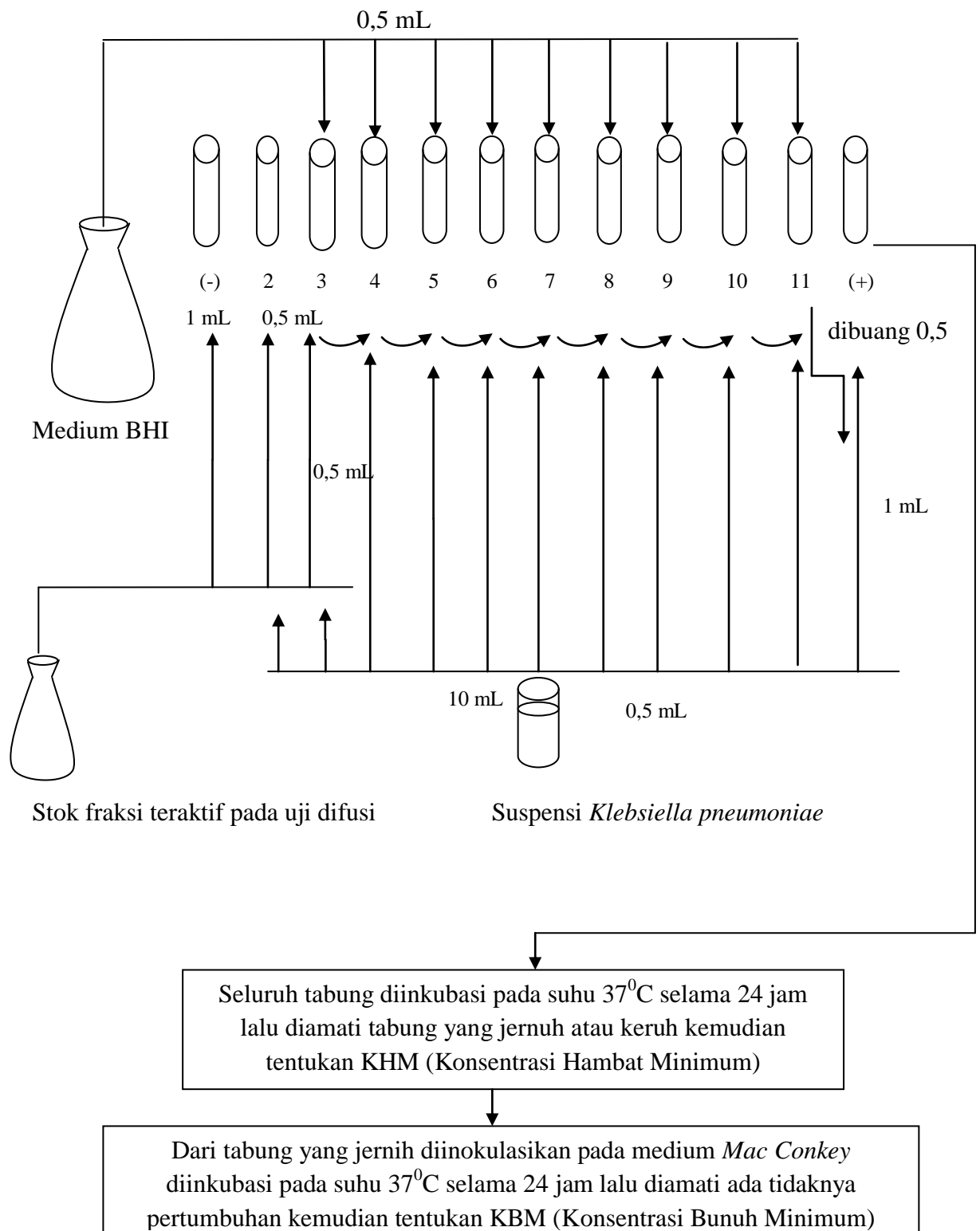
Gambar 4. Skema jalannya penelitian aktivitas antibakteri daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.



Gambar 5. Skema pembuatan suspensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 1:1000



Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dengan metode difusi.



Gambar 7. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dengan metode dilusi.

E. Analisa Data

Hasil penelitian dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji, ditunjukkan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, lalu diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analisa of varian* (ANOVA) satu jalan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Determinasi dilakukan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman cabe rawit dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain. Determinasi daun cabe rawit dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, dan dinyatakan bahwa daun tersebut adalah daun dari tumbuhan cabe rawit, jenis (*Capsicum frutescens* L.) dari suku Solanaceae Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

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

Tahap awal pembuatan serbuk daun cabe rawit dengan cara pemanenan bahan dan pengeringan. Pemanenan daun cabe rawit dalam penelitian ini pada bulan Januari 2017 di CV. Multi Global Agrindo (MGA) Karangpandan, Jawa Tengah.

Bobot basah daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) sebanyak 16000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 3150 gram. Hasil presentase bobot basah sebesar 19,68 %(b/b). Presentase kadar kelembaban dapat dilihat pada Lampiran 10.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

Penetapan kadar lembab dilakukan untuk memperoleh prosentase kelembaban yang terdapat dalam serbuk yang akan diekstraksi. Kadar kelembaban yang terlalu tinggi dapat menyebabkan enzim-enzim dalam simplisia menjadi aktif dan merubah komposisi kimia sehingga kualitas simplisia menurun. Tabel 1 menunjukkan hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun cabe rawit.

Tabel 1. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun cabe rawit

Replikasi	Berat (gram)	Kandungan lembab serbuk (%)
1	2,0	6,0
2	2,0	6,0
3	2,0	6,5
Rata-rata		6,17

Rata-rata hasil kadar lembab daun cabe rawit menggunakan alat *moisture balance* yaitu 6,17%, sehingga memenuhi syarat karena tidak lebih dari 10%. Penetapan kadar air dari simplisia perlu dilakukan mengingat air merupakan media tumbuhnya bakteri dan mikroorganisme yang lain yang dapat merusak simplisia.

4. Hasil pembuatan ekstrak daun cabe rawit

Pembuatan ekstrak daun cabe rawit menggunakan metode remaserasi yang merupakan salah satu metode modifikasi dari maserasi. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel kemudian isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Waktu remaserasi adalah 2 kali 24 jam, pada hari pertama maserat disaring dengan kain flanel dengan bantuan *corong buchner* lalu disaring lagi menggunakan kertas saring dengan bantuan *corong Buchner*, lalu filtrat pertama dimasukkan dalam wadah. Maserat dimasukkan kembali ke dalam wadah lalu ditambahkan pelarut dengan jenis dan volume yang sama kemudian disaring pada hari berikutnya. Filtrat pertama dan kedua dicampur kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

5. Hasil penetapan persen rendemen ekstrak daun cabe rawit

Pembuatan ekstrak etanolik daun cabe rawit menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 70%. Serbuk yang digunakan dalam pembuatan ekstrak sebanyak 2200 gram. Hasil ekstrak yang didapatkan sebanyak 438,89 gram sehingga diperoleh rendemen 19,95 %. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 11. Ekstrak kental etanolik yang didapat kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air dimaksudkan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya.

6. Hasil penetapan kadar air daun cabe rawit

Penetapan kadar air pada ekstrak dilakukan menggunakan alat *sterling bidwell* yaitu 8,83%. Tabel 2 menunjukkan hasil penetapan kadar air dalam ekstrak daun cabe rawit.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air dalam ekstrak daun cabe rawit

Replikasi	Berat awal (gram)	Volume air akhir (mL)	Kadar air (% v/b)
1	20,00	1,8	9,0
2	20,00	1,8	9,0
3	20,00	1,7	8,5
Rata-rata			8,83

7. Hasil uji bebas etanol ekstrak remaserasi daun cabe rawit

Uji bebas etanol daun cabe rawit dilakukan dengan uji esterifikasi etanol. Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak bebas dari pelarutnya, ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Tujuan dari uji ini agar ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri sehingga aktivitasnya hanya dari ekstrak daun cabe rawit.

8. Hasil fraksinasi daun cabe rawit

Ekstrak daun cabe rawit kemudian dilakukan fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Hasil persen rendemen fraksinasi ekstrak daun cabe rawit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persen rendemen fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak daun cabe rawit

Fraksi	Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%b/b)
n-heksana	200	5,200	2,6
Etil asetat	200	8,438	4,219
Air	200	94,059	2,6

Fraksinasi ekstrak daun cabe rawit menggunakan 3 pelarut berdasarkan polaritas yang berbeda. *n*-heksana digunakan sebagai pelarut yang bersifat nonpolar, etil asetat bersifat semi polar dan air sebagai pelarut yang bersifat polar. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut polar. (Harbone 1987).

Prosentase rendemen dari fraksi *n*-heksana adalah 2,6 %, prosentasi rendemen kecil disebabkan senyawa non polar yang tersari dalam ekstrak daun cabe rawit sedikit sehingga berat fraksi *n* heksan kecil. Prosentase rendemen etil asetat adalah 4,219 %, prosentase rendemen lebih besar dibandingkan dengan *n*-heksana disebabkan senyawa yang bersifat semi polar lebih banyak tersari dalam daun cabe rawit. Fraksi air didapatkan prosentase rendemen 47,029 %, yang merupakan prosentase rendemen paling besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan etil asetat karena senyawa polar yang terdapat dalam daun cabe rawit lebih banyak dibandingkan dengan senyawa non polar dan semi polar. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 11.

9. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi air daun cabe rawit

Uji kandungan senyawa kimia daun cabe rawit yang dilakukan adalah uji flavonoid, uji tannin, uji alkaloid, uji saponin. Identifikasi kandungan kimia daun cabe rawit dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk daun cabe rawit yang dilakukan menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun cabe rawit mengandung senyawa kimia flavonoid, tannin, saponin dan alkaloid. Hasil identifikasi kimia pada fraksi air dari daun cabe rawit menunjukkan bahwa fraksi air daun cabe rawit mengandung senyawa kimia

flavonoid, tannin, dan saponin. Hasil identifikasi kandungan kimia dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel 4. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak, dan fraksi air daun cabe rawit

Senyawa	Identifikasi	Hasil Identifikasi			
		Pustaka	Serbuk	Ekstrak	Fraksi air
Flavonoid	Serbuk, ekstrak, fraksi air 0,5 gram + 5 mL aquades, dipanaskan 1 menit, filtrat + 0,1 gram serbuk Mg + 2 mL larutan alkohol : asam klorida (1:1) + pelarut amil alkohol, kocok kuat biarkan memisah	Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1989).	Larutan berwarna jingga pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan berwarna jingga pada lapisan amil alkohol (+)	Larutan berwarna jingga pada lapisan amil alkohol (+)
Alkaloid	Masukan 0,5 gram serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi air + sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan + reagen Dragendrof	terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1987).	terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (+)	terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (+)	Tidak terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (-)
Saponin	Serbuk, ekstrak, fraksi air 0,5 gram + 10 mL air panas kocok kuat 10 detik, terbentuk buih + HCL 2N	Terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).	Terdapat busa yang mantap + HCl, busa tidak hilang selama 10 menit setinggi 1-10 cm (+)	Terdapat busa yang mantap + HCl, busa tidak hilang selama 10 menit setinggi 1-10 cm (+)	Terdapat busa yang mantap + HCl, busa tidak hilang selama 10 menit setinggi 1-10 cm (+)
Tanin	Serbuk, ekstrak, fraksi air 0,5 gram + 10 mL air panas, dipanaskan selama 15 menit, disaring, filtrate + FeCl ₃	Adanya warna biru tua atau hitam kehijauan (Robinson 1995).	Terbentuk warna hitam kehijauan (+)	Terbentuk warna hitam kehijauan (+)	Terbentuk warna hitam kehijauan (+)

10. Hasil pembuatan suspensi bakteri

Biakan murni bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 diambil 1 ose lalu dimasukkan kedalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 mL secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Suspensi dipipet 0,01 mL dimasukkan dalam 10 mL BHI sehingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan standar *McFarland* 0,5.

11. Hasil identifikasi bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

11.1. Hasil identifikasi bakteri secara makroskopis. Hasil identifikasi secara makroskopis dari *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 pada media *Mac Conkey Agar* yang diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam yaitu terbentuk koloni bulat, besar-besar berwarna merah muda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

11.2. Hasil identifikasi pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram pada *Klebsiella pneumoniae* ditunjukkan dengan bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 tersebut termasuk golongan Gram negatif. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

11.3. Hasil uji biokimia. Tabel 5 menunjukkan Hasil uji biokimia bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 pada media SIM, KIA, LIA, dan Citrat.

Tabel 5. Identifikasi uji biokimia *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031

Uji	Hasil	Pustaka
SIM	---	---
KIA	A/A G ⁺ S ⁻	A/A G ⁺ S ⁻
LIA	K/K S ⁻	K/K S ⁻
Citrat	+	+

Keterangan :

SIM : Sulfida Indol Motility

KIA : Klinger Iron Agar

LIA : Lysin Iron Agar

A : Terbentuk warna kuning (pada media KIA)

K : Terbentuk warna ungu (pada media LIA)

S (-) : Tidak terbentuk warna hitam

Hasil uji biokimia pada media SIM setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, tidak terbentuk warna hitam pada media SIM menunjukkan bahwa sulfida negatif, tidak terbentuk warna merah pada media SIM setelah penambahan reagen Erlich menunjukkan bahwa indol negatif serta tidak terdapat pertumbuhan bakteri yang menyebar disekitar tusukan, menandakan bahwa motilitas negatif.

Hasil uji biokimia pada media KIA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, didapatkan pada bagian dasar media berwarna kuning dan pada bawah lereng media juga berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi laktosa, hasil pada media KIA media yang terfermentasi terangkat keatas hal ini dikarenakan hasil gas yang positif, sulfide negative ditunjukkan tidak adanya pembentukan warna hitam pada media KIA.

Uji media LIA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam diperoleh hasil pada bagian dasar berwarna ungu dan pada bagian lereng berwarna ungu hal ini menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* mampu menderkaboksilasi lisin,

serta tidak terbentuk warna hitam pada media LIA hal ini meunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan hydrogen sulfida.

Uji pada media Citrat yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam didapatkan hasil positif yaitu dengan terbentuknya warna biru pada media yang berarti citrat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon tunggal. Media Citrat terdapat indikator BTB (Bromo Thymol Blue) yang merupakan inikator ph jika mikroba mampu menggunakan citrat maka dalam media asam akan dihilangkan sehingga terjadi peningkatan ph dan mengubah warna media dari warna hijau menjadi biru. Uji positif ditunjukkan dengan warna biru pada media. Hasil uji biokimia *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada Lampiran 7.

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 secara difusi

Pengujian aktivitas antibakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dilakukan pada ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabe rawit. Media yang digunakan adalah *Muller Hinton Agar* (MHA). Pengujian menggunakan metode difusi dengan tujuan untuk mengetahui zona hambat pada sekeliling cakram (disk). Dilihat dari terbentuknya daerah jernih disekitar cakram (disk) serta mengetahui fraksi mana yang paling aktif menghambat aktivitas bakteri.

Uji aktivitas ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabe rawit bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dilakukan pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%. Antibiotik amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Pembuatan suspensi *Klebsiella pneumoniae* disesuaikan dengan kekeruhan standart MC Farland 0,5. Inkubasi pengujian aktivitas pada suhu 37°C selama 24 jam, adanya zona hambat diamati dalam ukuran milimeter (mm).

Perhitungan konsentrasi larutan ditunjukkan pada Lampiran 12. Hasil uji antibakteri dengan metode difusi terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 6. Hasil pengujian aktifitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 secara difusi

Sampel	Konsentrasi(%)	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata (mm)
		1	2	3	
<i>N</i> -heksana	50	9	8	8,5	8,5
Etil asetat	50	9,5	9,5	10	9,7
Air	50	14	13	13,5	13,5
Ekstrak	50	10	9,5	10	9,8
<i>N</i> -heksana	25	8	7,5	8,5	8
Etil asetat	25	9	9	8,5	8,8
Air	25	13	12	13	12,7
Ekstrak	25	9	9,5	9	9,2
<i>N</i> -heksana	12,5	7,5	7	7	7,2
Etil asetat	12,5	9,5	8,5	8,5	8,8
Air	12,5	11	12	12,5	11,8
Ekstrak	12,5	8	8,5	8,5	8,3
Kontrol (+)	2,5	20	20	20	20
Kontrol (-)	5	0	0	0	0

Keterangan :

0 : tidak terbentuk daerah hambatan bakteri pada media selektif

Kontrol (-) : DMSO 5%

Kontrol (+) : Amoksisilin

Terbentuknya zona hambat yang semakin besar disebabkan konsentrasi yang semakin tinggi. Semakin pekat konsentrasi ekstrak, maka zat aktif dalam ekstrak semakin banyak sehingga berpengaruh pada zona hambat yang terbentuk (Ajizah 2004). Hasil uji pada Tabel 6 bahwa fraksi air konsentrasi 50% memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 daripada ekstrak, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat maka dilanjutkan ke uji analisis data.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi diuji secara statistik *Analisis of Varian* (ANOVA) *oneway*. ANOVA *oneway* digunakan untuk membandingkan hubungan antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air. Kontrol positif dan kontrol negatif juga ikut dalam

analisis ANOVA *oneway* untuk mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* merupakan langkah awal dalam analisis data, digunakan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji ini diperoleh signifikansi $0,101 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA.

Hasil uji homogenitas data diameter zona hambat dinyatakan homogen dengan nilai sig $0,071 > 0,05$. Hasil uji ANOVA tabel diameter hambat diperoleh probabilitas $0,000 < 0,05$ yang artinya tiap sampel uji terdapat perbedaan yang nyata dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Hasil dari *Homogeneous Subsets* terbagi menjadi 8 subset. Pada subset 1-8 mempunyai mempunyai perbedaan yang nyata, yang berarti mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap diameter zona hambat. Pada perbandingan diameter zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang efektif adalah fraksi air 50%, namun tidak memiliki beda signifikan dengan fraksi air 25% karena berada dalam satu subset bila dibandingkan dengan kontrol positif fraksi air masih kurang efektif dari pada kontrol positif. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada Lampiran 16.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi air dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 mempunyai aktivitas antibakteri terbesar dari pada fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana, ekstrak etanol daun cabe rawit kemungkinan dalam fraksi air terdapat senyawa aktif yaitu flavonoid dan saponin. Hal ini diduga adanya kandungan kimia yang bersifat polar dalam fraksi air yang lebih optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Senyawa flavonoid berikatan dengan protein sel bakteri memiliki kemampuan membentuk kompleks melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menjadi tidak stabil disebabkan struktur protein bakteri rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas

sel terganggu dan sel bakteri menjadi pecah yang berakibat pada kematian sel bakteri. Flavonoid juga menyebabkan perubahan pada membran sel bakteri yang diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol kedalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan sel bakteri dan akhirnya membran sel pecah. Pecahnya membran sel menyebabkan kematian sel bakteri (Kusdarwati *et al* 2010).

Saponin dapat bekerja sebagai antimikroba dengan cara merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Robinson 1995). Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran kuman (Dwidjoseputro 1990).

Kontrol positif terbukti efektif dalam menghambat bakteri yang ditunjukkan dengan zona hambat yang paling besar dari pada fraksi teraktif. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5%. Pelarut ini digunakan dalam pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan air karena DMSO 5% tidak dapat membunuh bakteri namun bila penggunaan DMSO lebih dari 10% dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri.

13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 secara dilusi

Pengujian antibakteri dilanjutkan menggunakan metode dilusi dengan menggunakan fraksi air sebagai sediaan uji karena fraksi air dari daun cabe rawit paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Tujuan dilakukannya uji dilusi adalah untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum dari fraksi teraktif. Seri konsentrasi yang digunakan adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,563%; 0,781%; 0,391%; 0,195%; 0,098%, kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dalam uji dilusi menggunakan suspense bakteri sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan fraksi teraktif yaitu fraksi air.

Hasil pengujian antibakteri daun cabe rawit diketahui dengan melihat kekeruhan dari masing-masing tabung yang kemudian digoreskan pada media *Mac Conkey Agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil

pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada Tabel 7. Gambar hasil uji dilusi fraksi air dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 7. Hasil uji dilusi fraksi air pada media Mac Conkey

Konsentrasi (%)	Hasil		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	+	+	+
6,25	+	+	+
3,125	+	+	+
1,563	+	+	+
0,781	+	+	+
0,391	+	+	+
0,195	+	+	+
0,098	+	+	+
K (+)	+	+	+
K (-)	-	-	-

Keterangan: (+) = terdapat pertumbuhan bakteri (-) = tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Pegujian aktivitas antibakteri fraksi air terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 tidak dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum karena seluruh tabung berwarna sehingga sulit untuk diketahui tabung yang jernih dan untuk nilai KBMnya didapatkan hasil mampu membunuh pada konsentrasi 25%. Hal ini diduga adanya kandungan kimia yang bersifat polar pada fraksi air yang lebih optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi air ialah flavonoid dan saponin. Semakin tinggi konsentrasi sediaan uji semakin tinggi juga kandungan zat aktif di dalamnya sehingga dapat mengurangi aktivitas antibakteri. Konsentrasi bunuh minimum pada sediaan uji yang semakin kecil, menandakan semakin potensial sediaan tersebut sebagai antibakteri.

Pada penelitian Elyza (2013) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 mengandung beberapa senyawa kimia termasuk diantaranya flavonoid dan saponin yang dapat bekerja sebagai antibakteri (Robinson 1995). Hasil penelitian tersebut didapat nilai KBM 50%.

Pada hasil dilusi fraksi air daun cabe rawit didapatkan nilai KBM 25%, apabila dibandingkan dengan penelitian Elyza (2013), hasil dilusi fraksi air daun cabe rawit lebih potensial membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031. Hal ini mungkin disebabkan flavonoid dan saponin dalam ekstrak mengkudu tidak tersari maksimal dibandingkan dengan fraksi air daun cabe rawit yang proses penyariannya berdasarkan tingkat kepolaran.

BAB V

KESIMPULAN DAN PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Kedua, fraksi air dari ekstrak etanol cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) merupakan fraksi paling aktif terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi air tidak dapat ditentukan namun Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air dari daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 dengan metode dilusi pada konsentrasi 25%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji aktivitas antibakteri daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap bakteri yang berbeda dengan metode penyari yang lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan kandungan senyawa murni dengan cara isolasi dari fraksi air ekstrak etanol daun cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* *Bioscientiae* 1 (1): 8-31.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik pada Pasien ISPA Rawat Jalan di Rumah Sakit Profesor dr Aloe Saboe Kota Gorontalo [Thesis]. Gorontalo: Universitas Negri Gorontalo.
- Bassett J. 1994. *Buku Ajaran Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Ed ke-4. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Bonang, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya, PT Gramedia.
- Bridson EY. 1998. *The Oxoid Manual 8th Edition*. England: Oxoid Limited Hampsire.
- Buxton R. 2005. *Mac Conkey Agar Plates Klebsiella pneumonia*.
- Cronquist A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Darmandi. 2008. Infeksi Nosokomial: *Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. hlm 80-81.
- [Depkes RI]. 1985. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm. 4-11,25-26.
- [Depkes RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid 1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- [Depkes RI]. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan*. Cet. 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 10-11.
- [Depkes RI]. 2001. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta.
- [Depkes RI]. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Infeksi Saluran Pernapasan*. Jakarta.

- Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Surabaya: Djambatan. hlm 111-124.
- Fatimah. 2010. *Identifikasi bakteri Klebsiella*. [http://www.goggle.com/identifikasi-bakteri_klebsiella/diaskes tanggal 29 Januari 2014](http://www.goggle.com/identifikasi-bakteri_klebsiella/diaskes_tanggal_29_Januari_2014).
- Ganiswara S, Setiabudy R, Suyatna F. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press. hlm. 571-573.
- Gayathri N *et al.* 2016. *Phytochemical screening and antimicrobial activity of Capsicum chinense Jacq.* India: University of Madras.
- Goodman and Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta : Penabur Swadaya.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia. hlm 42-44.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed II. Kosasi Patmawinata dan Iwang Sudiro, penerjemah; Bandung: ITB.
- Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum species*) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (2000), pp. 1713–1720.
- Ikawati Z. 2011. *Penyakit Sistem Pernapasan dan Tatalaksana Terapinya*. Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Jawetz E, Melnick JL, Edelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Review of Medical Microbiology*. 14th Edition. Bonang G, penerjemah; Jakarta: UI. hlm 25-263.
- Jawetz Melnick dan Adelbergs. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Jong GM, Hsive TR, Chen GR, Chang H, Chen C. 1995. *Rapidly Fatal Outcome of Bacteremic Klebsiella pneumoniae Pneumoniae in Alcoholics*. *Chest*;107;214-7.
- Kumala P *et al.* 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Kusdarwati R, Sari L, Taufiq AM. 2010. Antibacterial effort of adas fruits (*Feonikum vulgare*) extract on *Micrococcus Luteus* bacterial by in vitro. *Jurnal ilmiah perikanan dan kelautan*. 2 (1) : 31-35.
- Kusmayati dan Agustini NWR. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentinum*). *Biodivesitas* 8:48-53.
- Kusumaningtyas Elyza. 2013. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Bakteri *Klebsiela pneumoniae* Secara Dilusi. [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi USB.
- Margono. 2006. *Pemilihan Antibiotika pada Febrile Netropenia*. Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan VIII Ilmu Penyakit Paru.
- Martindale. 1993. *The Ekstrak Pharmacopeia*. Edisi 23. James EF, Rynold, editor. London: The Pharmaceutical press.
- Pratama MA, Hosea JE dan Jovie MD. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum* L.). *Pharmacon* 1(2):86-92. E-journal.
- Radji M. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahardja F. 2006. *Efek Kombinasi Ampisilin dan Klorampenikol Terhadap Streptococcus pneumoniae dan Klebsiella pneumonia*. Bandung: Departemen Farmasi ITB.
- Rahim Abdul *et al*. 2014. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi: Uji Pendahuluan Potensi Tanaman Obat Tradisional Sebagai Alternatif Pengobatan Infeksi Saluran Pernapasan. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi V. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Biologi Umum*. Bandung : Penerbit Angkasa Bandung.
- Sutedjo M, Mulyani, Kartasapoetra AG ,Sastroatmodjo RDS. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Utami ER. 2012 *Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi*. 1(1):124-38.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Soendani NS, penerjemah; Yogyakarta: UGM Press.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press. hlm 41-47.
- Winn Washington , A.S., Janda William , Koneman Elmer , Procop Gary , Schreckenberger Paul , Woods Gail. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Yunita. 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun Cabe Rawit (Capsicum frutescens L.) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif*. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas MIPA UI.

Lampiran 1. Surat keterangan melakukan determinasi tanaman cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)



No : 127/DET/UPT-LAB/15/1/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Natalia Marta A
NIM : 19133714 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

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

Hasil determinasi berdasarkan: Steenis : Flora.

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

Deskripsi :

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

Surakarta, 15 Januari 2017
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Foto tumbuhan, daun dan serbuk cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.)



Tumbuhan cabe rawit



Serbuk daun cabe rawit

Lampiran 3. Foto alat oven, *sterling bedwell*, *Moisture Balance*, maserasi, evaporator dan hasil ekstrak etanolik daun cabe rawit



Oven



Sterling bedwell



tes bebas etanol



evaporator



ekstrak kental



Moisture Balance

Lampiran 4. Foto alat inkubator,autoklaf ,autovortex ,inkas dan standar Mc farland 0,5



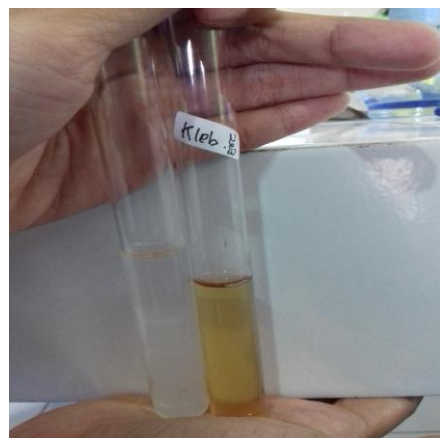
inkubator



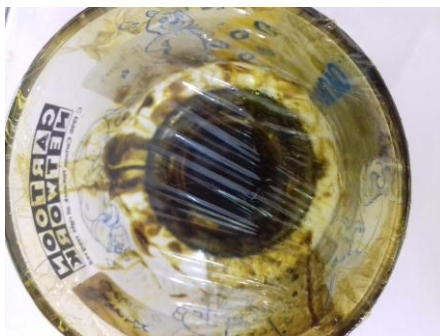
autoklaf







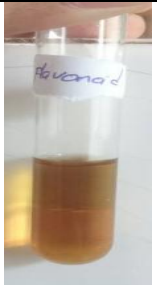



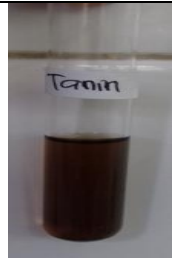


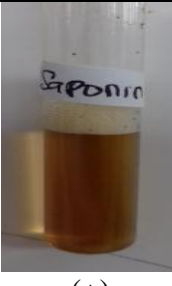
autovortex



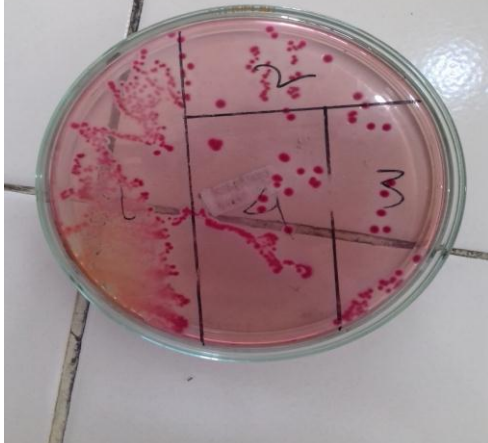
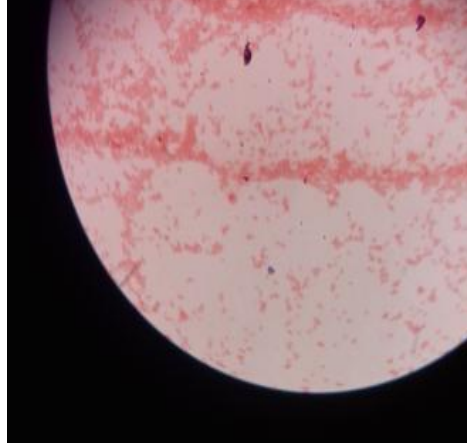



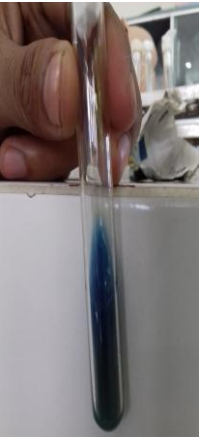
standar Mc farland 0,5

Lampiran 5. Foto fraksinasi dan hasil fraksinasi**a. Fraksinasi****b. Hasil Fraksinasi****Fraksi *n*-heksana****Fraksi etil asetat****Fraksi air**

Lampiran 6. Foto identifikasi senyawa serbuk, ekstrak dan fraksi air dari daun cabe rawit

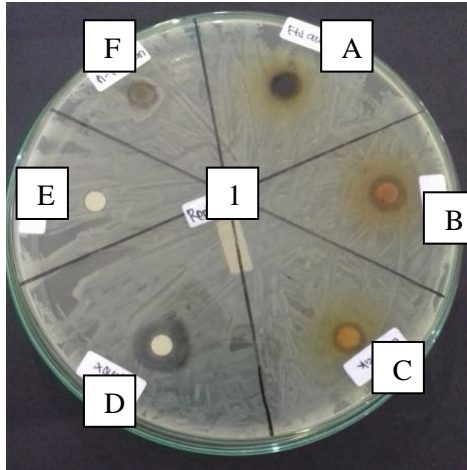
Senyawa	Interpretasi hasil		
	Serbuk	Ekstrak	Fraksi Air
Alkaloid (dragendrof)	 (+)	 (+)	 (-)
Flavonoid	 (+)	 (+)	 (+)
Tannin	 (+)	 (+)	 (+)
Saponin	 (+)	 (+)	 (+)

Lampiran 7. Foto bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031.

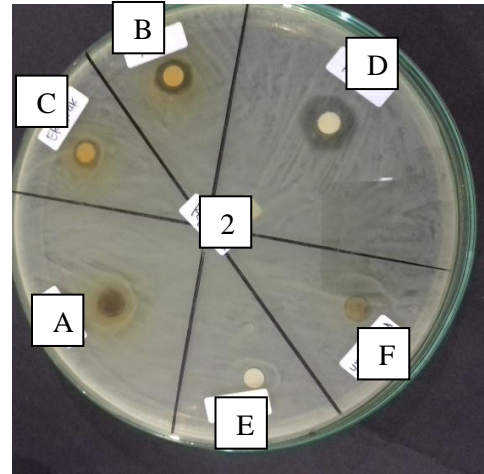
			
<p>Hasil inokulasi pada media <i>Mac Conkey Agar</i></p>	<p>Hasil mikroskopis pada perbesaran 100 x 10</p>		
<p>Hasil uji biokimia</p>			
<p>SIM</p>	<p>KIA</p>	<p>LIA</p>	<p>CITRAT</p>
			
<p>---</p>	<p>A/A G⁺S⁻</p>	<p>K/K S⁻</p>	<p>+</p>

Lampiran 8. Foto hasil uji difusi

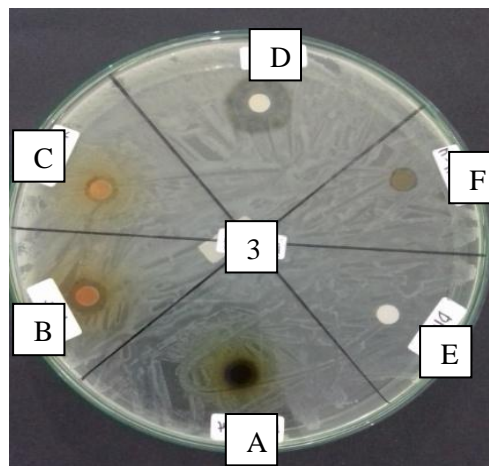
a. Konsentrasi 50%



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Keterangan

A : Fraksi etil asetat

B : Fraksi air

C : Ekstrak

D : Amoksisilin

E : DMSO 5%

F : Fraksi *n*-heksana

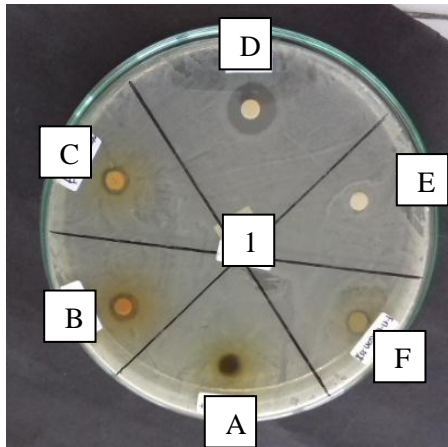
1 : Replikasi 1

2 : replikasi 2

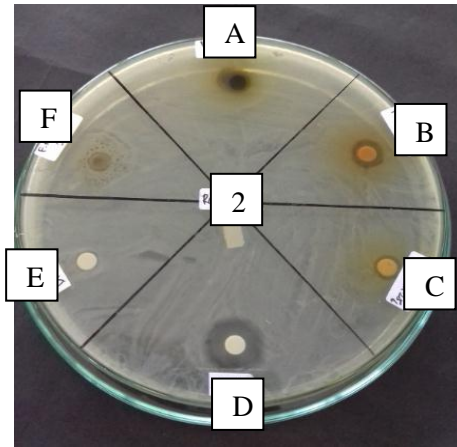
3 : Replikasi 3

Kesimpulan : zona hambat konsentrasi 50%, paling besar ditunjukkan oleh fraksi air dengan diameter 13,5 mm

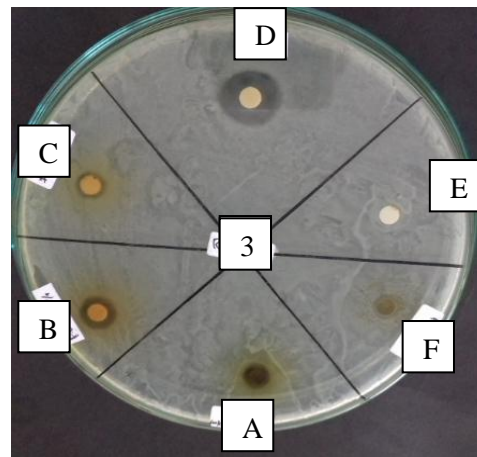
b. Konsentrasi 25%



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Keterangan

A : Fraksi etil asetat

B : Fraksi air

C : Ekstrak

D : Amoksisilin

E : DMSO 5%

F : Fraksi *n*-heksana

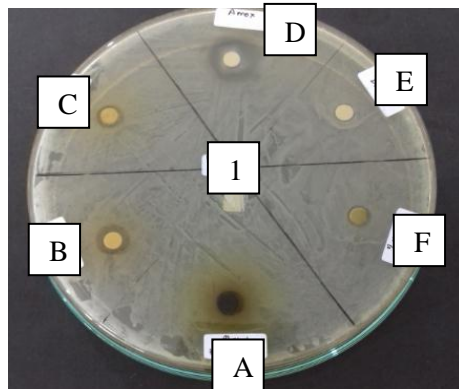
1 : Replikasi 1

2 : replikasi 2

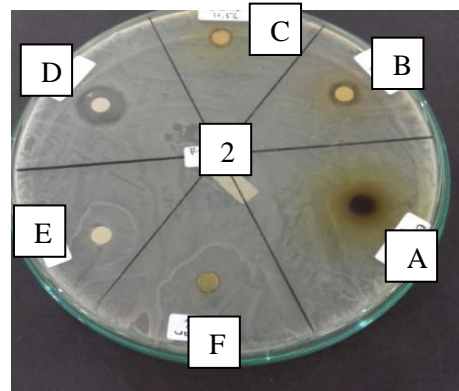
3 : Replikasi 3

Kesimpulan : zona hambat konsentrasi 25 %, paling besar ditunjukkan oleh fraksi air dengan diameter 12,7 mm

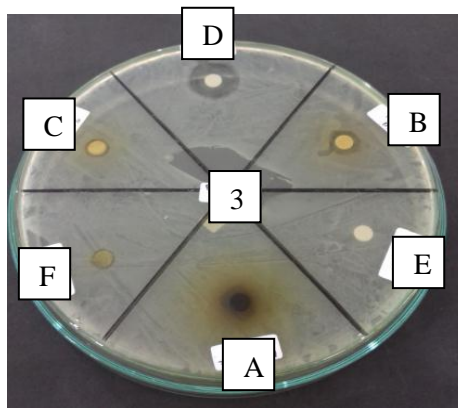
c. Konsentrasi 12,5%



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Keterangan

A : Fraksi etil asetat

D : Amoksisilin

1 : Replikasi 1

B : Fraksi air

E : DMSO 5%

2 : replikasi 2


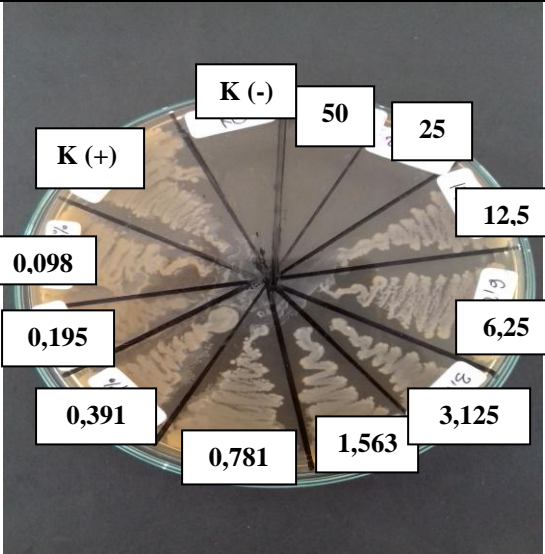
C : Ekstrak

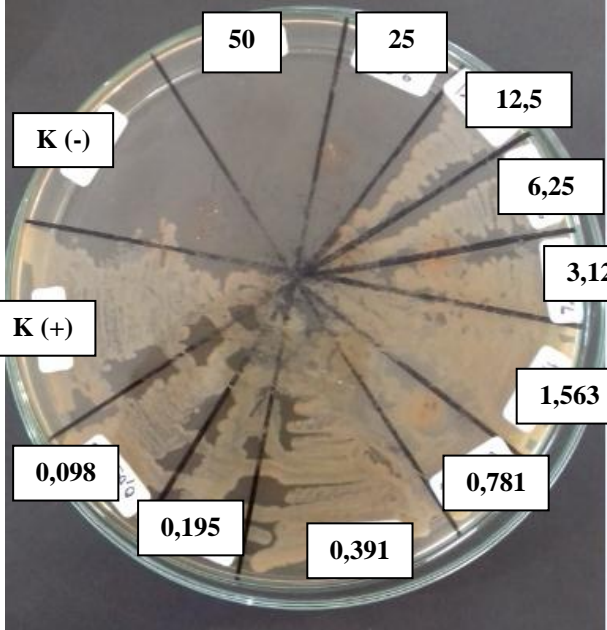
F : Fraksi *n*-
heksana

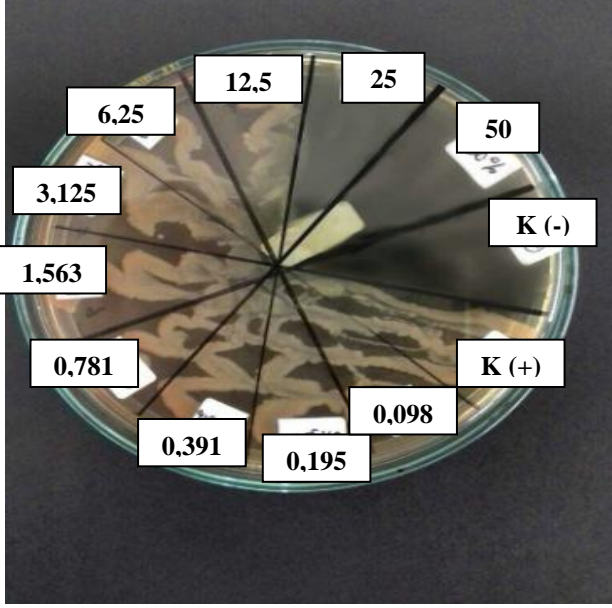
3 : Replikasi 3

Kesimpulan : zona hambat konsentrasi 12,5 %, paling besar ditunjukkan oleh fraksi air dengan diameter 11,8 mm

Lampiran 9. Foto hasil uji dilusi

Tabung Dilusi Fraksi Air 50%		
		
Hasil replikasi 1	Konsentrasi (%)	Hasil inokulasi
	K (-)	-
	50	-
	25	-
	12,5	+
	6,25	+
	3,125	+
	1,563	+
	0,781	+
	0,391	+
	0,195	+
	0,098	+
	K (+)	+
Kesimpulan : KBM fraksi air dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit pada konsentrasi 25%		

Hasil replikasi 2	Konsentrasi (%)	Hasil inokulasi
	K (-) 50 25 12,5 6,25 3,125 3,125 1,563 0,781 0,391 0,195 0,098 K (+)	- - - + + + + + + + + + +
<p>Kesimpulan : KBM fraksi air dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit pada konsentrasi 25%</p>		

Hasil replikasi 3	Konsentrasi (%)	Hasil inokulasi
 <p data-bbox="408 1099 999 1245">Kesimpulan : KBM fraksi air dari ekstrak etanol 70% daun cabe rawit pada konsentrasi 25%</p>	K (-)	-
	50	-
	25	-
	12,5	+
	6,25	+
	3,125	+
	1,563	+
	0,781	+
	0,391	+
	0,195	+
	0,098	+
	K (+)	+
	K (-)	+

Lampiran 10. Perhitungan persen rendemen serbuk daun cabe rawit

Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%b/b)
16000	3150	19,68

$$\begin{aligned}\text{Presentase rendemen serbuk (\%)} &= \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{3150 \text{ gram}}{16000 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 19,68\%\end{aligned}$$

Kesimpulan : Rendemen serbuk daun cabe rawit adalah 19,68 %b/b

Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun cabe rawit

Serbuk (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%b/b)
2200	438,89	19,95

$$\begin{aligned} \text{Presentase rendemen ekstrak (\%)} &= \frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{438,89 \text{ gram}}{2200 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 19,95 \% \end{aligned}$$

Nama pelarut	Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen %(b/b)
<i>n</i> - Heksana	200	5,200	2,6
Etil asetat	200	8,438	4,219
Air	200	94,059	47,029

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi } n - \text{heksana (\%)} &= \frac{\text{bobot fraksi } n - \text{heksana (gram)}}{\text{bobot ekstrak (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{5,200 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 2,6 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi etil asetat (\%)} &= \frac{\text{bobot fraksi etil asetat (gram)}}{\text{bobot ekstrak (gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{8,438 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 4,219 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi air (\%)} &= \frac{\text{bobot fraksi air (gram)}}{\text{bobot ekstrak(gram)}} \times 100 \% \\ &= \frac{94,059 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 47,029 \%\end{aligned}$$

Kesimpulan :

Rendemen ekstrak daun cabe rawit adalah 19,95 %b/b

Rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol daun cabe rawit adalah 2,6 %b/b

Rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun cabe rawit adalah 4,219 %b/b

Rendemen fraksi air dari ekstrak etanol daun cabe rawit adalah 47,029 %b/b

Lampiran 12. Pembuatan larutan stok uji difusi dengan berbagai konsentrasi

1. Pembuatan konsentrasi 50 %

$$50 \% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{2 \text{ gram}}{4 \text{ mL}}$$

Menimbang \pm 2 gram ekstrak etanol atau fraksi kemudian masing-masing ditambahkan DMSO 5% sampai volume 4 mL.

2. Pembuatan konsentrasi 25 %

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

$$V_1 \cdot 50 \% = 1 \text{ mL} \cdot 25 \%$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ mL} \cdot 25 \%}{50 \%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL sediaan awal 50% kemudian ditambah DMSO 5% sampai volume 1 mL.

3. Pembuatan konsentrasi 12,5 %

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

$$V_1 \cdot 25 \% = 1 \text{ mL} \cdot 12,5 \%$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ mL} \cdot 12,5 \%}{25 \%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL sediaan awal 25 % kemudian ditambahkan DMSO 5% sampai volume 1 mL

4. Pembuatan amoksisilin 2,5%

$$\frac{125 \text{ mG}}{5 \text{ mL}}$$

$$\frac{25 \text{ mG}}{\text{mL}}$$

$$\frac{2,5 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 2,5 \% \text{b/v}$$

$$= 0,025 \text{ gram/ mL}$$

Menimbang 0,025 gram serbuk amoksisilin dry sirup kemudian ditambahkan aquadest steril sampai volume 1 mL.

Lampiran 13. Perhitungan diameter daya hambat pada uji aktivitas antibakteri daun cabe rawit terhadap *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 secara difusi

Sampel	Konsentrasi(%)	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata (mm)
		1	2	3	
<i>N</i> -heksana	50	9	8	8,5	8,5
Etil asetat	50	9,5	9,5	10	9,7
Air	50	14	13	13,5	13,5
Ekstrak	50	10	9,5	10	9,8
<i>N</i> -heksana	25	8	7,5	8,5	8
Etil asetat	25	9	9	8,5	8,8
Air	25	13	12	13	12,7
Ekstrak	25	9	9,5	9	9,2
<i>N</i> -heksana	12,5	7,5	7	7	7,2
Etil asetat	12,5	9,5	8,5	8,5	8,8
Air	12,5	11	12	12,5	11,8
Ekstrak	12,5	8	8,5	8,5	8,3
Kontrol (+)	2,5	20	20	20	20
Kontrol (-)	5	0	0	0	0

1. Konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat ekstrak etanol} &= \frac{(10 + 9,5 + 10) \text{ mm}}{3} \\ &= 9,8 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat fraksi } n - \text{heksana} &= \frac{(9 + 8 + 8,5) \text{ mm}}{3} \\ &= 8,5 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat fraksi etil asetat} &= \frac{(9,5 + 9,5 + 10) \text{ mm}}{3} \\ &= 9,7 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata daerah hambat fraksi air} &= \frac{(14 + 13 + 13,5)\text{mm}}{3} \\ &= 13,5 \text{ mm}\end{aligned}$$

2. Konsentrasi 25%

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata daerah hambat ekstrak etanol} &= \frac{(9 + 9,5 + 9)\text{mm}}{3} \\ &= 9,2 \text{ mm}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata daerah hambat fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{(8 + 7,5 + 8)\text{mm}}{3} \\ &= 8 \text{ mm}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata daerah hambat fraksi etil asetat} &= \frac{(9 + 9 + 8,5)\text{mm}}{3} \\ &= 8,8 \text{ mm}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata daerah hambat fraksi air} &= \frac{(13 + 12 + 13) \text{ mm}}{3} \\ &= 12,7 \text{ mm}\end{aligned}$$

3. Konsentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat ekstrak etanol} &= \frac{(8 + 8,5 + 8,5)\text{mm}}{3} \\ &= 8,3 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat fraksi } n \text{ - heksana} &= \frac{(7,5 + 7 + 7)\text{mm}}{3} \\ &= 7,2 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat fraksi etil asetat} &= \frac{(9,5 + 8,5 + 8,5)\text{mm}}{3} \\ &= 8,8 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat fraksi air} &= \frac{(11 + 12 + 12,5) \text{ mm}}{3} \\ &= 11,8 \text{ mm} \end{aligned}$$

4. Kontrol (+) amoksisilin

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata daerah hambat amoksisilin} &= \frac{(20 + 20 + 20)\text{mm}}{3} \\ &= 20 \text{ mm} \end{aligned}$$

Kesimpulan : Rata- rata daerah hambat paling besar ialah fraksi air dengan konsentrasi 50% dengan diameter 13,5 mm

Lampiran 14. Pembuatan konsentrasi fraksi air metode dilusi

Fraksi air daun cabe rawit

Menimbang 1 gram fraksi etil asetat dalam vial dilarutkan dengan 2 mL DMSO 5 %

No	Konsentrasi (%)	V ₁	C ₁	V ₂	C ₂	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 mL larutan stok
2	50	-	-	-	-	0,5 mL
3	25	0,5	50	1	25	0,5 mL larutan stok + BHI ad 1 mL
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 mL tabung 3 + BHI ad 1 mL
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 mL tabung 4 + BHI ad 1 mL
6	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 mL tabung 5 + BHI ad 1 mL
7	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 mL tabung 6 + BHI ad 1 mL
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 mL tabung 7 + BHI ad 1 mL
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 mL tabung 8 + BHI ad 1 mL
10	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 mL tabung 9 + BHI ad 1 mL
11	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 mL tabung 10 + BHI ad 1 mL
12	-	-	-	-	-	0,5 mL BHI+ 0,5 mL suspensi bakteri

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 2 = konsentrasi 50%

$$\frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,5 \text{ gram/ml}$$

Tabung 3 = konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25 \%$$

$$= \frac{25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 mL tabung 10 ditambah BHI 0,5 mL kemudian di homogenkan dan dibuang 0,5 mL.

Tabung 12 = kontrol positif berisi 0,5 mL BHI + suspensi bakteri 0,5 mL

Tabung 2 – 11 ditambah 0,5 mL suspensi bakteri

Lampiran 15. Komposisi media

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

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
aquadest ad	1000,0 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4.

b. *Sulfida Indol Motility* (SIM)

Pepton from casein	20,0 gram
Pepton from meat	6,0 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	0,2 gram
Aquadest	ad 1000 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

c. *Klinger Iron Agar (KIA)*

Pepton from casein	15,0 gram
Pepton from meat	5,0 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Meat extract	3,0 gram
Yeast extract	3,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
Laktosa	10 gram
Dextrosa	1,0 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,024 gram
Agar-agar	12 gram
Aquadest	ad 1000 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

d. *Lysine Iron Agar (LIA)*

Pepton from casein	5,0 gram
Yeast extract	3,0 gram
Glukosa	1,0 gram
Lysin monohydrochloride	10,0 gram
Sodium thiosulfate	0,04 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,05 gram
Bromo cresol purple	0,02 gram
Agar-agar	12,5 gram
Aquadest	1000 mL
Aquadest	ad 1000 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

e. *Citrat Agar*

Ammonium hydrogen fosfat	1,0 gram
di-potassium hydrogen fosfate	1,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
Magnesium sulfat	0,2 gram
Bromo thymol blue	0,08 gram
Agar-agar	12,5 gram
Aquadest	ad 1000 mL

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

f. *Mac Conkey Agar (MCA)*

Pepton from Casein	17,0 gram
Pepton from Meat	3,0 gram
Lactose	10,0 gram
Bile Salts Mixture	1,5 gram
Sodium Chloride	5,0 gram
Neutral Red	0,03 gram
Crystal Violet	0,001 gram
Agar-agar	13,5 gram

Cara : reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1 L dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave

pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

g. *Muller Hinton Agar* (MHA)

Beef Extract	2,0 gram
Acid Hydrolysate of Casein	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar	17 gram

Cara : reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1 L dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

Lampiran 16. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-).

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter hambatan	42	9.7262	4.22709	.00	20.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter hambatan
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.7262
	Std. Deviation	4.22709
Most Extreme Differences	Absolute	.188
	Positive	.188
	Negative	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		1.221
Asymp. Sig. (2-tailed)		.101

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Dari data uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi = 0,101 > 0,05 (H_0) diterima maka, data tersebut mengikuti distribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

diameter hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.931	13	28	.071

Kesimpulan : Nilai probabilitas *Lavene Statistic* adalah $0,071 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut mempunyai varians yang sama.

ANOVA

diameter hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	728.101	13	56.008	348.493	.000
Within Groups	4.500	28	.161		
Total	732.601	41			

Kesimpulan : Dari data uji *ANOVA* terlihat bahwa F hitung = 384,493 dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ maka H_0 ditolak, berarti menunjukkan adanya perbedaan nyata pada setiap konsentrasi.

Descriptives

diameter hambatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					n-Heksana 50%	3		
ekstrak 50%	3	9.8333	.28868	.16667	9.1162	10.5504	9.50	10.00
etil asetat 50%	3	9.6667	.28868	.16667	8.9496	10.3838	9.50	10.00
air 50%	3	13.5000	.50000	.28868	12.2579	14.7421	13.00	14.00
n-heksana 25%	3	8.0000	.50000	.28868	6.7579	9.2421	7.50	8.50
ekstrak 25%	3	9.1667	.28868	.16667	8.4496	9.8838	9.00	9.50
etil asetat 25%	3	8.8333	.28868	.16667	8.1162	9.5504	8.50	9.00
air 25%	3	12.6667	.57735	.33333	11.2324	14.1009	12.00	13.00
n-heksana 12,5%	3	7.1667	.28868	.16667	6.4496	7.8838	7.00	7.50
ekstrak 12,5%	3	8.3333	.28868	.16667	7.6162	9.0504	8.00	8.50
etil asetat 12,5%	3	8.6667	.28868	.16667	7.9496	9.3838	8.50	9.00
air 12,5%	3	11.8333	.76376	.44096	9.9360	13.7306	11.00	12.50
Amoksisilin	3	20.0000	.00000	.00000	20.0000	20.0000	20.00	20.00
DMSO 5%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	42	9.7262	4.22709	.65225	8.4089	11.0434	.00	20.00

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:diameter hambatan

	(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	n-Heksana 50%	ekstrak 50%	-1.33333 [*]	.32733	.019	-2.5315	-.1352
		etil asetat 50%	-1.16667	.32733	.062	-2.3648	.0315
		air 50%	-5.00000 [*]	.32733	.000	-6.1981	-3.8019
		n-heksana 25%	.50000	.32733	.950	-.6981	1.6981
		ekstrak 25%	-.66667	.32733	.734	-1.8648	.5315
		etil asetat 25%	-.33333	.32733	.998	-1.5315	.8648
		air 25%	-4.16667 [*]	.32733	.000	-5.3648	-2.9685
		n-heksana 12,5%	1.33333 [*]	.32733	.019	.1352	2.5315
		ekstrak 12,5%	.16667	.32733	1.000	-1.0315	1.3648
		etil asetat 12,5%	-.16667	.32733	1.000	-1.3648	1.0315
		air 12,5%	-3.33333 [*]	.32733	.000	-4.5315	-2.1352
		Amoksisilin	-11.50000 [*]	.32733	.000	-12.6981	-10.3019
		DMSO 5%	8.50000 [*]	.32733	.000	7.3019	9.6981
		ekstrak 50%	n-Heksana 50%	ekstrak 50%	1.33333 [*]	.32733	.019
etil asetat 50%	.16667			.32733	1.000	-1.0315	1.3648
air 50%	-3.66667 [*]			.32733	.000	-4.8648	-2.4685
n-heksana 25%	1.83333 [*]			.32733	.000	.6352	3.0315
ekstrak 25%	.66667			.32733	.734	-.5315	1.8648
etil asetat 25%	1.00000			.32733	.177	-.1981	2.1981
air 25%	-2.83333 [*]			.32733	.000	-4.0315	-1.6352
n-heksana 12,5%	2.66667 [*]			.32733	.000	1.4685	3.8648
ekstrak 12,5%	1.50000 [*]			.32733	.005	.3019	2.6981

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable:diameter hambatan

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	etil asetat 12,5%	1.16667	.32733	.062	-.0315	2.3648
	air 12,5%	-2.00000 [*]	.32733	.000	-3.1981	-.8019
	Amoksisilin	-10.16667 [*]	.32733	.000	-11.3648	-8.9685
	DMSO 5%	9.83333 [*]	.32733	.000	8.6352	11.0315
etil asetat 50%	n-Heksana 50%	1.16667	.32733	.062	-.0315	2.3648
	ekstrak 50%	-.16667	.32733	1.000	-1.3648	1.0315
	air 50%	-3.83333 [*]	.32733	.000	-5.0315	-2.6352
	n-heksana 25%	1.66667 [*]	.32733	.001	.4685	2.8648
	ekstrak 25%	.50000	.32733	.950	-.6981	1.6981
	etil asetat 25%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315
	air 25%	-3.00000 [*]	.32733	.000	-4.1981	-1.8019
	n-heksana 12,5%	2.50000 [*]	.32733	.000	1.3019	3.6981
	ekstrak 12,5%	1.33333 [*]	.32733	.019	.1352	2.5315
	etil asetat 12,5%	1.00000	.32733	.177	-.1981	2.1981
	air 12,5%	-2.16667 [*]	.32733	.000	-3.3648	-.9685
	Amoksisilin	-10.33333 [*]	.32733	.000	-11.5315	-9.1352
	DMSO 5%	9.66667 [*]	.32733	.000	8.4685	10.8648
air 50%	n-Heksana 50%	5.00000 [*]	.32733	.000	3.8019	6.1981
	ekstrak 50%	3.66667 [*]	.32733	.000	2.4685	4.8648
	etil asetat 50%	3.83333 [*]	.32733	.000	2.6352	5.0315
	n-heksana 25%	5.50000 [*]	.32733	.000	4.3019	6.6981
	ekstrak 25%	4.33333 [*]	.32733	.000	3.1352	5.5315
	etil asetat 25%	4.66667 [*]	.32733	.000	3.4685	5.8648
	air 25%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable: diameter hambatan

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	n-heksana 12,5%	6.33333 ⁺	.32733	.000	5.1352	7.5315
	ekstrak 12,5%	5.16667 ⁺	.32733	.000	3.9685	6.3648
	etil asetat 12,5%	4.83333 ⁺	.32733	.000	3.6352	6.0315
	air 12,5%	1.66667 ⁺	.32733	.001	.4685	2.8648
	Amoksisilin	-6.50000 ⁺	.32733	.000	-7.6981	-5.3019
	DMSO 5%	13.50000 ⁺	.32733	.000	12.3019	14.6981
n-heksana 25%	n-Heksana 50%	-.50000	.32733	.950	-1.6981	.6981
	ekstrak 50%	-1.83333 ⁺	.32733	.000	-3.0315	-.6352
	etil asetat 50%	-1.66667 ⁺	.32733	.001	-2.8648	-.4685
	air 50%	-5.50000 ⁺	.32733	.000	-6.6981	-4.3019
	ekstrak 25%	-1.16667	.32733	.062	-2.3648	.0315
	etil asetat 25%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	air 25%	-4.66667 ⁺	.32733	.000	-5.8648	-3.4685
	n-heksana 12,5%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315
	ekstrak 12,5%	-.33333	.32733	.998	-1.5315	.8648
	etil asetat 12,5%	-.66667	.32733	.734	-1.8648	.5315
	air 12,5%	-3.83333 ⁺	.32733	.000	-5.0315	-2.6352
	Amoksisilin	-12.00000 ⁺	.32733	.000	-13.1981	-10.8019
	DMSO 5%	8.00000 ⁺	.32733	.000	6.8019	9.1981
ekstrak 25%	n-Heksana 50%	.66667	.32733	.734	-.5315	1.8648
	ekstrak 50%	-.66667	.32733	.734	-1.8648	.5315
	etil asetat 50%	-.50000	.32733	.950	-1.6981	.6981
	air 50%	-4.33333 ⁺	.32733	.000	-5.5315	-3.1352

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable:diameter hambatan

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	n-heksana 25%	1.16667	.32733	.062	-.0315	2.3648
	etil asetat 25%	.33333	.32733	.998	-.8648	1.5315
	air 25%	-3.50000 [*]	.32733	.000	-4.6981	-2.3019
	n-heksana 12,5%	2.00000 [*]	.32733	.000	.8019	3.1981
	ekstrak 12,5%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315
	etil asetat 12,5%	.50000	.32733	.950	-.6981	1.6981
	air 12,5%	-2.66667 [*]	.32733	.000	-3.8648	-1.4685
	Amoksisilin	-10.83333 [*]	.32733	.000	-12.0315	-9.6352
	DMSO 5%	9.16667 [*]	.32733	.000	7.9685	10.3648
etil asetat 25%	n-Heksana 50%	.33333	.32733	.998	-.8648	1.5315
	ekstrak 50%	-1.00000	.32733	.177	-2.1981	.1981
	etil asetat 50%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	air 50%	-4.66667 [*]	.32733	.000	-5.8648	-3.4685
	n-heksana 25%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315
	ekstrak 25%	-.33333	.32733	.998	-1.5315	.8648
	air 25%	-3.83333 [*]	.32733	.000	-5.0315	-2.6352
	n-heksana 12,5%	1.66667 [*]	.32733	.001	.4685	2.8648
	ekstrak 12,5%	.50000	.32733	.950	-.6981	1.6981
	etil asetat 12,5%	.16667	.32733	1.000	-1.0315	1.3648
	air 12,5%	-3.00000 [*]	.32733	.000	-4.1981	-1.8019
	Amoksisilin	-11.16667 [*]	.32733	.000	-12.3648	-9.9685
	DMSO 5%	8.83333 [*]	.32733	.000	7.6352	10.0315
air 25%	n-Heksana 50%	4.16667 [*]	.32733	.000	2.9685	5.3648

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable:diameter hambatan

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ekstrak 50%	2.83333 ⁺	.32733	.000	1.6352	4.0315
	etil asetat 50%	3.00000 ⁺	.32733	.000	1.8019	4.1981
	air 50%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	n-heksana 25%	4.66667 ⁺	.32733	.000	3.4685	5.8648
	ekstrak 25%	3.50000 ⁺	.32733	.000	2.3019	4.6981
	etil asetat 25%	3.83333 ⁺	.32733	.000	2.6352	5.0315
	n-heksana 12,5%	5.50000 ⁺	.32733	.000	4.3019	6.6981
	ekstrak 12,5%	4.33333 ⁺	.32733	.000	3.1352	5.5315
	etil asetat 12,5%	4.00000 ⁺	.32733	.000	2.8019	5.1981
	air 12,5%	.83333	.32733	.414	-.3648	2.0315
	Amoksisilin	-7.33333 ⁺	.32733	.000	-8.5315	-6.1352
	DMSO 5%	12.66667 ⁺	.32733	.000	11.4685	13.8648
n-heksana 12,5%	n-Heksana 50%	-1.33333 ⁺	.32733	.019	-2.5315	-.1352
	ekstrak 50%	-2.66667 ⁺	.32733	.000	-3.8648	-1.4685
	etil asetat 50%	-2.50000 ⁺	.32733	.000	-3.6981	-1.3019
	air 50%	-6.33333 ⁺	.32733	.000	-7.5315	-5.1352
	n-heksana 25%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	ekstrak 25%	-2.00000 ⁺	.32733	.000	-3.1981	-.8019
	etil asetat 25%	-1.66667 ⁺	.32733	.001	-2.8648	-.4685
	air 25%	-5.50000 ⁺	.32733	.000	-6.6981	-4.3019
	ekstrak 12,5%	-1.16667	.32733	.062	-2.3648	.0315
	etil asetat 12,5%	-1.50000 ⁺	.32733	.005	-2.6981	-.3019
	air 12,5%	-4.66667 ⁺	.32733	.000	-5.8648	-3.4685
	Amoksisilin	-12.83333 ⁺	.32733	.000	-14.0315	-11.6352
	DMSO 5%	7.16667 ⁺	.32733	.000	5.9685	8.3648

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable: diameter hambat

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak 12,5%	n-Heksana 50%	-.16667	.32733	1.000	-1.3648	1.0315
	ekstrak 50%	-1.50000 [*]	.32733	.005	-2.6981	-.3019
	etil asetat 50%	-1.33333 [*]	.32733	.019	-2.5315	-.1352
	air 50%	-5.16667 [*]	.32733	.000	-6.3648	-3.9685
	n-heksana 25%	.33333	.32733	.998	-.8648	1.5315
	ekstrak 25%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	etil asetat 25%	-.50000	.32733	.950	-1.6981	.6981
	air 25%	-4.33333 [*]	.32733	.000	-5.5315	-3.1352
	n-heksana 12,5%	1.16667	.32733	.062	-.0315	2.3648
	etil asetat 12,5%	-.33333	.32733	.998	-1.5315	.8648
	air 12,5%	-3.50000 [*]	.32733	.000	-4.6981	-2.3019
	Amoksisilin	-11.66667 [*]	.32733	.000	-12.8648	-10.4685
DMSO 5%	8.33333 [*]	.32733	.000	7.1352	9.5315	
etil asetat 12,5%	n-Heksana 50%	.16667	.32733	1.000	-1.0315	1.3648
	ekstrak 50%	-1.16667	.32733	.062	-2.3648	.0315
	etil asetat 50%	-1.00000	.32733	.177	-2.1981	.1981
	air 50%	-4.83333 [*]	.32733	.000	-6.0315	-3.6352
	n-heksana 25%	.66667	.32733	.734	-.5315	1.8648
	ekstrak 25%	-.50000	.32733	.950	-1.6981	.6981
	etil asetat 25%	-.16667	.32733	1.000	-1.3648	1.0315
	air 25%	-4.00000 [*]	.32733	.000	-5.1981	-2.8019

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable:diameter hambat

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	n-heksana 12,5%	1.50000*	.32733	.005	.3019	2.6981
	ekstrak 12,5%	.33333	.32733	.998	-.8648	1.5315
	air 12,5%	-3.16667*	.32733	.000	-4.3648	-1.9685
	Amoksisilin	-11.33333*	.32733	.000	-12.5315	-10.1352
	DMSO 5%	8.66667*	.32733	.000	7.4685	9.8648
air 12,5%	n-Heksana 50%	3.33333*	.32733	.000	2.1352	4.5315
	ekstrak 50%	2.00000*	.32733	.000	.8019	3.1981
	etil asetat 50%	2.16667*	.32733	.000	.9685	3.3648
	air 50%	-1.66667*	.32733	.001	-2.8648	-.4685
	n-heksana 25%	3.83333*	.32733	.000	2.6352	5.0315
	ekstrak 25%	2.66667*	.32733	.000	1.4685	3.8648
	etil asetat 25%	3.00000*	.32733	.000	1.8019	4.1981
	air 25%	-.83333	.32733	.414	-2.0315	.3648
	n-heksana 12,5%	4.66667*	.32733	.000	3.4685	5.8648
	ekstrak 12,5%	3.50000*	.32733	.000	2.3019	4.6981
	etil asetat 12,5%	3.16667*	.32733	.000	1.9685	4.3648
	Amoksisilin	-8.16667*	.32733	.000	-9.3648	-6.9685
	DMSO 5%	11.83333*	.32733	.000	10.6352	13.0315
Amoksisilin	n-Heksana 50%	11.50000*	.32733	.000	10.3019	12.6981
	ekstrak 50%	10.16667*	.32733	.000	8.9685	11.3648
	etil asetat 50%	10.33333*	.32733	.000	9.1352	11.5315
	air 50%	6.50000*	.32733	.000	5.3019	7.6981
	n-heksana 25%	12.00000*	.32733	.000	10.8019	13.1981

Multiple Comparisons (Lanjutan)

Dependent Variable: diameter hambatan

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ekstrak 25%	10.83333 [*]	.32733	.000	9.6352	12.0315
	etil asetat 25%	11.16667 [*]	.32733	.000	9.9685	12.3648
	air 25%	7.33333 [*]	.32733	.000	6.1352	8.5315
	n-heksana 12,5%	12.83333 [*]	.32733	.000	11.6352	14.0315
	ekstrak 12,5%	11.66667 [*]	.32733	.000	10.4685	12.8648
	etil asetat 12,5%	11.33333 [*]	.32733	.000	10.1352	12.5315
	air 12,5%	8.16667 [*]	.32733	.000	6.9685	9.3648
	DMSO 5%	20.00000 [*]	.32733	.000	18.8019	21.1981
DMSO 5%	n-Heksana 50%	-8.50000 [*]	.32733	.000	-9.6981	-7.3019
	ekstrak 50%	-9.83333 [*]	.32733	.000	-11.0315	-8.6352
	etil asetat 50%	-9.66667 [*]	.32733	.000	-10.8648	-8.4685
	air 50%	-13.50000 [*]	.32733	.000	-14.6981	-12.3019
	n-heksana 25%	-8.00000 [*]	.32733	.000	-9.1981	-6.8019
	ekstrak 25%	-9.16667 [*]	.32733	.000	-10.3648	-7.9685
	etil asetat 25%	-8.83333 [*]	.32733	.000	-10.0315	-7.6352
	air 25%	-12.66667 [*]	.32733	.000	-13.8648	-11.4685
	n-heksana 12,5%	-7.16667 [*]	.32733	.000	-8.3648	-5.9685
	ekstrak 12,5%	-8.33333 [*]	.32733	.000	-9.5315	-7.1352
	etil asetat 12,5%	-8.66667 [*]	.32733	.000	-9.8648	-7.4685
	air 12,5%	-11.83333 [*]	.32733	.000	-13.0315	-10.6352
	Amoksisilin	-20.00000 [*]	.32733	.000	-21.1981	-18.8019

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

Kesimpulan: Tanda bintang di angka *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan.

Homogeneous Subsets

diameter hambatan

Tukey HSD^a

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DMSO 5%	3	.0000							
n-heksana 12,5%	3		7.1667						
n-heksana 25%	3		8.0000	8.0000					
ekstrak 12,5%	3		8.3333	8.3333					
n-Heksana 50%	3			8.5000	8.5000				
etil asetat 12,5%	3			8.6667	8.6667	8.6667			
etil asetat 25%	3			8.8333	8.8333	8.8333			
ekstrak 25%	3			9.1667	9.1667	9.1667			
etil asetat 50%	3				9.6667	9.6667			
ekstrak 50%	3					9.8333			
air 12,5%	3						11.8333		
air 25%	3						12.6667	12.6667	
air 50%	3							13.5000	
amoksisilin	3								20.0000
Sig.		1.000	.062	.062	.062	.062	.414	.414	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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