

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25992**



**Oleh:**

**Cindy Phalosa  
20144185A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25992**

**SKRIPSI**

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

**Oleh:**

**Cindy Phalosa  
20144185A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Dengan judul :

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN EKSTRAK  
ETANOL BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)  
TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25992**

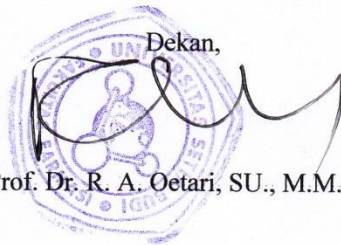
Oleh:

**Cindy Phalosa**  
**20144185 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Juni 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan,



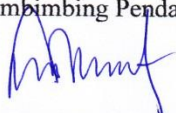
Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., M.M., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama,



Iswandi S.Si, M.Farm., Apt

Pembimbing Pendamping,



Drs. Edy Prasetya M.Si

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si.
2. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt.
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si.
4. Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt.



## PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juli 2018



*Cindy Phalosa*  
Cindy Phalosa

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*"Dari Anas bin Malik ia berkata, Rasulullah saw, bersabda: Mencari ilmu itu wajib bagi setiap muslim"*

*(HR. Ibnu Majah)*

*"Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga, sesungguhnya para malaikat menaungkan sayap-sayapnya kepada orang yang menuntut ilmu karena senang terhadap apa yang diperbuat"*

*(HR. Ibnu Majah)*

*"Pendidikan merupakan perlengkapan yang paling baik untuk hari tua "*

*(Aristoteles)*

*Ku persembahkan Skripsi ini untuk:*

*Bapak ibu ku dan semua keluarga ku*

*Sahabat, Almamater, Bangsa dan Negaraku*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan kekuatan serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP *Escherichia coli* ATCC 25922”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

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

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta kemudahan dalam kehidupan saya
2. Dr. Djoni Taringa, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Iswandi, S.Si, M.Farm., Apt., selaku Pembimbing Utama dan Drs. Edy Prasetya, M.Si., selaku Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, saran, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Dosen penguji yang telah memberikan banyak saran demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.
7. Bapak, Ibu, Adikku dan Kakek Nenekku serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan cinta, kasih sayang, do'a, dukungan dan pengorbanan, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat dan teman-teman atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan segala saran dan kritik dari pembaca yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta,

Penulis

## DAFTAR ISI

### Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
INTISARI .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Daun Jambu Biji.....	5
1. Sistematika Daun Jambu Biji.....	5
2. Nama Daerah.....	6
3. Morfologi Daun Jambu Biji .....	6
4. Kandungan Kimia.....	6
4.1 Saponin.....	6
4.2 Flavonoid.....	7
4.3 Tannin.....	7
4.4 Alkaloid.....	8
5. Kegunaan Tanaman .....	8
B. Umbi Bawang Putih .....	8
1. Sistematika Umbi Bawang Putih.....	8
2. Nama Daerah.....	9
3. Morfologi Umbi Bawang Putih .....	9
4. Kandungan Kimia.....	10
4.1 Saponin.....	10



4.2	Tannin.....	11
4.3	Alkaloid.....	11
4.4	Flavonoid.....	11
4.5	Alicin.....	12
5.	Kegunaan Tanaman .....	12
C.	Simplisia.....	12
1.	Pencucian Simplisia .....	12
2.	Pengeringan Simplisia.....	12
3.	Tahapan Pembuatan Simplisia. ....	13
D.	Penyarian.....	13
1.	Ekstrak .....	13
2.	Ekstraksi.....	14
3.	Metode Maserasi.....	14
E.	Pelarut .....	15
F.	Diare .....	15
G.	<i>Escherichia coli</i> .....	15
1.	Sistematika <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 menurut (Songer & Post, 2005):.....	15
2.	Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	16
3.	Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	16
4.	Fisiologi <i>Escherichia coli</i> .....	17
5.	Toksin <i>Escherichia coli</i> .....	17
5.1	Enterotoksigenik <i>Escherichia coli</i> (ETEC). ....	17
5.2	Enteropatogenik <i>Escherichia coli</i> (EPEC). ....	17
5.3	Enteroinvasif <i>Escherichia coli</i> (EIEC). ....	17
5.4	Enterohemoragik <i>Escherichia coli</i> (EHEC). ....	17
6.	Patogenesis.....	18
7.	Pengobatan Diare .....	18
H.	Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Dilusi.....	20
I.	Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi .....	21
J.	Media .....	22
1.	Macam-macam bentuk media.....	22
2.	Jenis-jenis media.....	23
2.1	Media anaerob .....	23
2.2	Media kompleks .....	23
2.3	Media pengayaan .....	23
2.4	Media biakan khusus .....	23
2.5	Media sintetik .....	23
2.6	Media selektif dan diferensial .....	24
K.	Sterilisasi.....	24
L.	Kotrimoksazol.....	25
M.	Efek Kombinasi Obat .....	26
1.	Antagonis.....	27
2.	Sinergisme .....	27
N.	Landasan Teori .....	27
O.	Hipotesis.....	29
	BAB III METODE PENELITIAN.....	30

A.	Populasi dan Sampel .....	30
B.	Variabel Penelitian .....	30
1.	Identifikasi variabel utama .....	30
2.	Klasifikasi variabel utama .....	30
2.1	Variabel bebas. ....	31
2.2	Variabel kendali .....	31
2.3	Variabel tergantung.....	31
3.	Definisi operasional variabel utama.....	31
C.	Bahan dan Alat .....	32
1.	Bahan.....	32
2.	Alat.....	33
D.	Jalannya Penelitian.....	33
1.	Determinasi tanaman .....	33
2.	Pembuatan serbuk.....	34
3.	Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji ( <i>Psidium guajava</i> L.) dan umbi bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	34
4.	Pembuatan ekstrak etanol .....	34
4.1.	Ekstrak etanol daun jambu biji .....	34
4.2.	Ekstrak etanol umbi bawang putih.....	34
5.	Uji bebas etanol.....	35
6.	Pengujian kandungan kimia.....	35
6.1.	Identifikasi flavonoid .....	35
6.2.	Identifikasi saponin.....	35
6.3.	Identifikasi alkaloid .....	35
6.4.	Identifikasi tannin .....	36
7.	Sterilisasi.....	36
8.	Identifikasi bakteri uji .....	36
8.1	Identifikasi bakteri .....	36
8.2	Pembuatan suspensi bakteri uji. ....	36
8.3	Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. ....	36
9.	Uji biokimia.....	37
9.1	SIM ( <i>Sulfide Indol Motilitas</i> ). ....	37
9.2	KIA ( <i>Kliger Iron Agar</i> ). ....	37
9.3	LIA ( <i>Lysin Iron Agar</i> ).....	37
9.4	Simmon Citrat .....	38
10.	Pembuatan Larutan Kombinasi Sediaan Ekstrak .....	38
11.	Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	38
E.	Analisa Hasil .....	39
F.	Skema penelitian .....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		44
A.	Hasil Penelitian.....	44
1.	Identifikasi tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih.....	44
2.	Hasil pembuatan serbuk tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih.....	44
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan bawang putih.....	44

4.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih.....	45
5.	Hasil uji bebas etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	46
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih.....	46
B.	Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	48
1.	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	48
2.1	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara makroskopis .....	48
2.2	Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram. ....	48
2.3	Hasil Identifikasi Fisiologi secara Biokimia .....	49
2.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih serta kombinasi 1:1, 1:3, atau 3:1, secara difusi .....	51
3.	Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih dalam perbandingan 1:1 secara dilusi .....	54
	BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	58
A.	Kesimpulan .....	58
B.	Saran.....	58
	DAFTAR PUSTAKA .....	59
	LAMPIRAN 64	

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L.) .....	5
Gambar 2. Umbi bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.) .....	9
Gambar 3. Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	16
Gambar 4. Struktur Antibiotik Sulfametoksazol .....	25
Gambar 5. Struktur Antibiotik Trimetoprim .....	25
Gambar 6. Skema jalannya penelitian. ....	40
Gambar 7. Skema pengujian antibakteri dengan metode difusi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	41
Gambar 8. Skema uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji ( <i>Psidium guajava</i> L) dan umbi bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L) secara dilusi .....	42
Gambar 9. Skema jalannya maserasi .....	43
Gambar 10. Hasil identifikasi koloni <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 pada media <i>Endo Agar</i> .....	48
Gambar 11. Hasil identifikasi <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram .....	49
Gambar 12. Struktur Quersetin.....	56

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah .....	44
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji menggunakan alat <i>moisture balance</i> .....	45
Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang putih menggunakan <i>moisture balance</i> .....	45
Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	46
Tabel 5. Hasil uji bebas etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	46
Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan bawang .....	47
Tabel 7. Hasil identifikasi biokimia pada bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	49
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan bawang putih terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25992 dengan metode difusi.....	52
Tabel 9. Hasil inokulasi ekstrak tunggal daun jambu biji dan bawang putih serta kombinasi 1:1 .....	55

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan .....	66
Lampiran 2. Foto daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	68
Lampiran 3. Foto serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	69
Lampiran 4. Ekstrak kental daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	70
Lampiran 5. Foto hasil uji kandungan senyawa dengan metode kimia .....	71
Lampiran 6. Foto alat evaporator, moisture balance, dan oven. ....	73
Lampiran 7. Foto autoclav, inkas, penggiling simplisia dan inkubator .....	74
Lampiran 8. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia.....	75
Lampiran 9. Foto larutan stok untuk uji difusi.....	76
Lampiran 10. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 secara difusi .....	77
Lampiran 11. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 259922 secara dilusi dengan perbandingan 1:1 .....	78
Lampiran 12. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal daun jambu biji terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 259922 secara dilusi .....	79
Lampiran 13. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal umbi bawang putih terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 259922 secara dilusi .....	80
Lampiran 14. Perhitungan presentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih.....	81

Lampiran 15. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	82
Lampiran 16. Perhitungan kadar rendemen ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih .....	83
Lampiran 17. Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi konsentrasi 50% .....	84
Lampiran 18. Formulasi dan pembuatan media.....	86
Lampiran 19. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal-Wallis Test.....	87

## INTISARI

**PHALOSA.C., 2018 AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) dan UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25992 , SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.**

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, saponin sedangkan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) mengandung senyawa allicin, flavonoid, tannin, alkaloid, saponin yang diduga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih masing-masing memiliki khasiat sebagai antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25992. Kombinasi keduanya diharapkan dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25992. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25992.

Ekstraksi daun jambu biji dan umbi bawang putih menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dan dilusi dengan sampel ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal umbi bawang putih, dan kombinasi ekstrak 1:1, 1:3, 3:1. Pada hasil difusi menunjukkan hasil 1:1 yang memiliki aktivitas paling efektif dengan diameter daerah hambat (DDH) 22,87 mm. Sedangkan pada pengujian dilusi menggunakan konsentrasi ekstrak mulai dari 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

Nilai konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi yang paling efektif dari ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih adalah kombinasi 1:1 sebesar 12,5%. Pada hasil difusi menunjukkan hasil 1:1 yang memiliki aktivitas paling efektif dengan diameter daerah hambat (DDH) 22,87 mm.

---

Kata kunci : Antibakteri, *Escherichia coli*, Kombinasi, Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), Umbi bawang putih (*Allium sativum* L.)



## ABSTRACT

**PHALOSA.C., 2018. ACTIVITY OF ANTIBACTERIAL COMBINATION OF GUAVA LEAF EXTRACT (*Psidium guajava* L.) and GARLIC (*Allium sativum* L.) ON GROWTH OF *Escherichia coli* ATCC 25992 , THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Guava leaf (*Psidium guajava* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) contain flavonoid, tannins, alkaloids, saponins, and allicin that are thought to have antibacterial activity. In the previous research, ethanol extract of guava leaf and garlic respectively efficacious as antibacterial *Escherichia coli* ATCC 25992. The combination of both is expected to improve the efficiency and effectiveness in inhibiting the growth of *Escherichia coli* bacteria. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of guava leaf and garlic to the growth of *Escherichia coli* ATCC 25992 bacteria.

The extraction of guava leaf and garlic using maceration method with 96% ethanol. The testing of antibacterial activity used was diffusion method and dilution method with single extract sample of guava leaf, single extract garlic, and combination of 1:1, 1:3, 3:1 extract. In the diffusion results showed a 1: 1 result which has the most effective activity with a diameter of the inhibitory area (DDH) of 22.87 mm. The concentration of extract used ranging from 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%.

The minimum bactericidal concentration (MBC) most effective combination of guava leaf and garlic extract is a 1:1 combination of 12,5%. The diffusion results showed a 1: 1 result which has the most effective activity with a diameter of the inhibitory area (DDH) of 22.87 mm.

---

Keyword : Antibacterial, *Escherichia coli*, Combination, Guava leaf (*Psidium guajava* L.), Garlic (*Allium sativum* L.)

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dengan pesat. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Hal ini ditunjang dengan keadaan udara di Indonesia yang panas, lembab dan berdebu sehingga mikroba dapat tumbuh dengan subur. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang berkembang biak di dalam jaringan tubuh manusia (Djide & Sartini, 2008).

Gejala penyakit infeksi yang sering kita temukan di Indonesia adalah diare. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dengan angka kejadian gejala penyakit infeksi yang tinggi salah satunya adalah diare (Magdarina, 2010). Angka kejadian diperkirakan antara 20-50 kejadian diare per 100 penduduk setiap tahunnya (Paramitha *et al.* 2010). Diare adalah suatu kondisi ketika konsistensi feses lembek atau cair, bahkan dapat berupa air sajan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Diare merupakan salah satu penyebab terjadinya kematian, karena penderita mengalami dehidrasi. Bakteri penyebab diare meliputi *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella* *Campylobacter* (Tjay & Raharja, 2007).

*Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. *Escherichia coli* ditemukan dalam usus besar manusia dan tidak menimbulkan penyakit pada inang pada keadaan normal. *Escherichia coli* pada keadaan tertentu apabila terjadi perubahan terhadap inang seperti sistem imun yang menurun bakteri ini mampu menimbulkan penyakit pada manusia (Sarson *et al.* 2014). Bakteri ini termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Maksum, 2002). *Eacherichia coli* dapat menyebabkan diare yaitu dengan melakukan invasi pada mukosa, memproduksi enterotoksin. Mekanisme tersebut menimbulkan absorpsi cairan sehingga akan terjadi dehidrasi dan hilangnya nutrisi atau elektrolit (Muttaqin & Sari, 2011).

Seiring perkembangan zaman pemakaian dan penggunaan obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang sangat pesat. Obat-obat tradisional kembali digunakan dalam kehidupan masyarakat Indonesia sebagai salah satu alternatif pengobatan. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah, 2005).

Pengobatan tradisional telah lama digunakan dan merupakan bagian integral dari budaya suatu daerah (Permatasari *et al.* 2015). Faktor penting yang mendukung antara lain, keterampilan, sumber daya flora, keadaan tanah dan iklim, perkembangan industri obat modern dan tradisional, meningkatkan minat konsumen di dalam negeri dan luar negeri, serta harga yang semakin terjangkau (Supriadi *et al.* 2001).

Salah satu contoh tanaman yang dipercaya untuk pengobatan diare adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Senyawa aktif pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid, tanin, dan saponin (Naim, 2004). Efek farmakologis dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yaitu antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, dan penambah trombosit.

Bahan alam lain yang telah dikenal oleh masyarakat sebagai obat tradisional dan merupakan agen antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif adalah umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (Lekshmi *et al.*, 2015). Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam umbi bawang putih (*Allium sativum*) adalah senyawa metabolit sekunder, seperti tannin, alkaloid dan saponin. Umbi bawang putih (*Allium sativum*) juga mengandung senyawa *Allisin* yang dapat bekerja sebagai antibakteri untuk gram positif dan gram negatif (Gydian *et al.*, 2017) sebagai antibakteri *Allicin* bekerja dengan mengubah fitur dari protein, lipid dan polysakarida pada selaput sel bakteri (Xiaonan *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa tersebut dapat mereduksi sistein dalam

tubuh mikroba sehingga mengganggu ikatan disulfide dalam proteinnya (Hernawan dan Setyawan, 2003).

Berdasarkan penelitian dari Devy (2013) menyatakan dengan menggunakan tanaman kombinasi adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang telah membuktikan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode disc diffusion. Konsentrasi yang didapat ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) masing-masing 50% b/v dengan 3 perbandingan, yaitu 1:3, 1:1, dan 3:1 dan perbandingan yang paling efektif dari penelitian tersebut adalah 3:1.

Menurut Gaherwal *et al.* (2014) dari hasil penelitiannya menggunakan metode difusi, minyak mentah dan ekstrak etanol baik memberikan zona hambat yang sama dalam *Escherichia coli*, ekstrak kasar memberikan zona hambat maksimum terhadap *S. aureus* dan ekstrak metanol memberikan zona hambat terhadap *Salmonella thypii*. Secara keseluruhan hasil menunjukkan bahwa ekstrak kasar adalah yang paling kuat terhadap bakteri patogen dibandingkan dengan ekstrak metanol meskipun keduanya efektif.

Menurut Jawezt *et al.* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kerja kedua efek.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat disusun perumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Pada kombinasi berapa dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

2. Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui manakah kombinasi dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas efektif sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang aktivitas ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dapat menyebabkan diare.

Penelitian ini juga dapat digunakan sebagai referensi untuk perkembangan ilmu pengetahuan khususnya untuk pengobatan tradisional.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Daun Jambu Biji**

##### **1. Sistematika Daun Jambu Biji**

Sistematika tanaman jambu biji menurut (Herbie T, 2015)

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: Psidium
Jenis	: <i>Psidium guajava</i> L.



(Hapson dan Hasanah, 2011)

**Gambar 1. Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)**

## 2. Nama Daerah

Setiap daerah yang ada di Indonesia memiliki nama khas dalam penyebutan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), diantaranya adalah jambu klutuk (Sunda), jambu bhender (Madura), gayamas (Manado), dambu (Gorontalo), jambu paratugala (Makasar), galiman (Batak), masiambu (Nias), gayawa (Ternate) (Hapson dan Hasanah, 2011).

## 3. Morfologi Daun Jambu Biji

Jambu biji tanaman yang berasal dari Amerika tropik, tumbuh pada tanah yang gembur maupun liat, pada tempat terbuka dan mengandung air yang cukup banyak. Jambu biji adalah tanaman dengan batang yang berkayu, mengelupas, bercabang, dan berwarna cokelat, memiliki kulit batang yang licin. Daun berwarna hijau dan tunggal, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata berhadapan, tulang daun menyirip berwarna hijau kekuningan. Memiliki jenis bunga tunggal, terletak di ketiak daun, bertangkai, kelopak bunga berbentuk corong. Mahkota bunga berbentuk bukat telur, benang sari pipih berwarna putih atau putih kekuningan. Memiliki biji kecil-kecil, keras dan dalamnya berwarna putih pada jambu biji. Pada jambu biji putih memiliki daun berbentuk panjang, langsing, bulat oval dengan ujung tumpul dan lancip. Memiliki warna beragam hijau tua, hijau muda, merah tua dan hijau berbelang kuning. Permukaan daun ada yang halus mengkilap dan halus biasa (Widiaty, 2008).

## 4. Kandungan Kimia

Menurut Ismail *et al* (2012) daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa kimia diantaranya adalah tannin, fenol, flavonoid, minyak atsiri, lektin, asam lemak buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) banyak mengandung vitamin C.

**4.1 Saponin.** Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Senyawa ini dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995). Senyawa saponin dapat merusak membran. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino

dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim tersebut keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014).

**4.2 Flavonoid.** Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson, 1995). Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid merupakan metabolit minyak sekunder turunan fenol, warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau larutan. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon (Harborne, 1987). Senyawa dari golongan flavonoid dari golongan beberapa bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Harborne, 1987).

**4.3 Tannin.** Tannin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Fungsi tannin sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan mendenaturasi protein. Tannin larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut nonpolar organik (Robinson, 1995). Tannin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tannin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Sel bakteri menjadi lisis akibat tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi



dari ion besi dengan tannin dapat menjelaskan toksisitas tannin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi karena tannin mengikat kuat besi, termasuk reduksi perkusor ribunokleotida DNA (Priya *et al.* 2014).

**4.4 Alkaloid.** Alkaloid adalah senyawa siklik yang mengandung atom hidrogen. Alkaloid bermanfaat dalam hal pengobatan karena memiliki efek fisiologis yang kuat dan selektivitas senyawa (Marek *et al.* 2007). Beberapa senyawa dari alkaloid dapat digunakan sebagai penolak serangga dan senyawa antifungi (Robinson, 1995).

## 5. Kegunaan Tanaman

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) berkhasiat sebagai antiinflamasi, antidiare, analgesik, antibakteri, antidiabetes, dan penambah trombosit, disentri, sariawan, kurap, radang lambung, gusi bengkak dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari (Cahyono, 2010).

## B. Umbi Bawang Putih

### 1. Sistematika Umbi Bawang Putih

Sistematika umbi bawang putih menurut (Herbie T, 2015)

Divisi	: Magnoliophyta
Kingdom	: Plantae
Ordo	: Asparagales
Kelas	: Liliopsida
Famili	: Alliaceae
Subfamili	: Allioideae
Bangsa	: Allieae
Genus	: Allium
Species	: <i>A. sativum</i>



(Obtrando, 2010.)

**Gambar 2. Umbi bawang putih (*Allium sativum* L.)**

## **2. Nama Daerah**

Tanaman umbi bawang putih memiliki nama umum bawang putih. Masyarakat Indonesia mengenal tumbuhan ini dengan nama daerah di antaranya adalah bawang putih (Melayu), lasun (Aceh), dasun (Minangkabau), lasuna (Batak), bacong landak (Lampung), bawang podas (Sunda), bawang (Jawa), babang pole (Madura), lasuna kebo (Makassar), pia mopati (Gorontalo). (Dalimartha, 2000).

## **3. Morfologi Umbi Bawang Putih**

Setiap tumbuhan bawang putih pasti memiliki batang, akar, daun bunga, tandan bunga dan umbi (Dalimartha, 2000). Bawang putih memiliki batang yang berukuran kecil (Corpus) dengan ukuran 0,5-1 cm dan memiliki tinggi sekitar 30-70 cm. Batang ini berdiri tegak menjulang ke atas dan terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Bawang putih memiliki akar serabut berbentuk seperti serabut-serabut kecil. Daun yang dimiliki oleh tumbuhan bawang putih berbentuk seperti pita dengan lebar sekitar 0,4-1,5 cm dan panjang sekitar 60 cm. Daunnya bergaris, datar dan kompak, selain itu tepi daun rata sedangkan ujung daun runcing. Pada pangkal pelepah terdapat umbi berbentuk bulat telur melebar yang dibungkus oleh selaput putih dan bagian atas berbentuk batang semu. Memiliki bunga yang tersusun secara majemuk dalam bentuk payung sederhana yang muncul pada

setiap anak umbi memiliki 1-3 pelindung berupa daun berbentuk seperti selaput. Memiliki tanda bunga ditandai dengan 6 daun yang letaknya dpangkal atau bebas, berbentuk memanjang dan meruncing. Warnanya ada yang putih kehijauan hingga putih keunguan. Umbi bawang putih merupakan umbi majemuk yang berbentuk hampir bundar dengan garis tengah sekitar 4-6 cm. Umbi tersebut terdiri dari sekitar 8-20 siung bawang putih diselimuti oleh 3-5 selaput putih tipis seperti kertas berwarna agak putih. Setiap siung bawang putih diselubungi oleh 2 selaput putih seperti kertas berwarna agak putih dan longgar dari selaput luar sedangkan selaput dalam berwarna merah muda melekat padat pada setiap siung bawang, tapi sangat mudah untuk dibersihkan atau dikupas. Setiap siung bawang putih berbentuk bulat pada bagian punggungnya, memiliki samping berbentuk rata dan tersudut. Bawang putih memang dikenal memiliki aroma khas, rasanya cukup pedas dan terasa getir apabila dimakan mentah.

#### **4. Kandungan Kimia**

Umbi bawang putih mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya saponin, tannin, alkaloid dan mengandung allicin sebagai antibakteri (Martinez, 2007).

**4.1 Saponin.** Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Senyawa ini dapat bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995). Senyawa saponin dapat merusak membran. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan keluar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim tersebut keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014). Penyarian saponin akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antibakteri jika menggunakan pelarut polar seperti etanol 70% (Harborne, 1987).

**4.2 Tannin.** Tannin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan kemampuan menyamak kulit. Fungsi tannin sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan mendenaturasi protein. Tannin larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut nonpolar organik (Robinson, 1995). Tannin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tannin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Sel bakteri menjadi lisis akibat tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tannin dapat menjelaskan toksisitas tannin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi karena tannin mengikat kuat besi, termasuk reduksi perkusor ribonukleotida DNA (Priya *et al.* 2014).

**4.3 Alkaloid.** Alkaloid adalah senyawa siklik yang mengandung atom hidrogen. Alkaloid bermanfaat dalam hal pengobatan karena memiliki efek fisiologis yang kuat dan selektivitas senyawa (Marek *et al.* 2007). Beberapa senyawa dari alkaloid dapat digunakan sebagai penolak serangga dan senyawa antifungi (Robinson, 1995).

**4.4 Flavonoid.** Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson, 1995). Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid merupakan metabolit minyak sekunder turunan fenol, warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau larutan. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon (Harborne, 1987). Senyawa dari golongan flavonoid dari golongan beberapa bahan alam dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme

kerja mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Harborne, 1987).

**4.5 Alicin.** Alicin merupakan senyawa sulfur yang reaktif dan cenderung tidak stabil yang mempunyai kemampuan untuk melawan katalisator biologis (enzim) khususnya yang berada didalam atau dibawah lapisan bakteri yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri.

## **5. Kegunaan Tanaman**

Umbi bawang putih mengandung senyawa allicin yang memiliki khasiat sebagai antibakteri (Dahake *et al.* 2009), mencegah hipertensi, mengencerkan darah, menurunkan berat badan, menurunkan kolestrol (Ayepola *et al.* 2009). Umbi bawang putih pada umumnya digunakan sebagai pelengkap bumbu dapur oleh masyarakat (Dalimartha, 2000).

## **C. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisian yang berupa hewan utuh, atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes, 1985).

### **1. Pencucian Simplisia**

Pencucian simplisia dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo, 2013).

### **2. Pengeringan Simplisia.**

Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang atau bakteri, menghentikan aktivitas

enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia secara alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung. Pengeringan alamiah lainnya yaitu dengan cara diangin-anginkan dan tidak di bawah sinar matahari langsung. Pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan alat pengering yang harus diperhatikan yaitu jenis bahan, suhu pengeringan, dan waktu pengeringan, sehingga simplisia tidak mudah rusak dan kandungan kimia yang berkhasiat tidak berubah karena proses fermentasi. Pengeringan yang paling banyak dilakukan yaitu pengeringan secara alamiah yang menggunakan panas sinar matahari secara langsung (Gunawan & Mulyani, 2004).

### **3. Tahapan Pembuatan Simplisia.**

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air agar tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (Depkes RI, 2007).

## **D. Penyarian**

### **1. Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair, dibuat dengan diambil sari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Air, eter atau campuran etanol dan air digunakan sebagai cairan penyari (Depkes RI, 1979). Cairan penyari harus stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes RI, 2000).

## **2. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut dimana zat yang diinginkan larut, sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Tujuan dari ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat dan disimpan dibandingkan simplisia asal dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni, 2007).

## **3. Metode Maserasi**

Maserasi istilah aslinya adalah macerare (bahasa Latin, artinya merendam). Cara ini merupakan salah satu cara ekstraksi, dimana sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Anonim, 2014). Maserasi adalah salah satu jenis metode ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metode ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali. Sehingga maserasi dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan pemanasan ataupun tahan panas (Hamdani, 2014). Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (Afifah, 2012). Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama 5 hari dalam temperature kamar, terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. 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 (Depkes, 2000).

### E. Pelarut

Pemilihan pelarut yang digunakan adalah etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, tanin dan saponin (Depkes, 1986). Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut penyari karena lebih efektif, tidak beracun, normal dan absorpsinya baik (Depkes, 1986). Dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan campuran dari etanol murni dan air dengan kadar etanol 96%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) etanol 96% adalah pelarut yang universal dan dapat melarutkan senyawa polar, semi polar maupun non polar.

### F. Diare

Diare adalah buang air besar (BAB) dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dengan frekuensi lebih sering dari biasanya tiga kali atau lebih selama 24 jam (DepKes RI 2011). Frekuensi dan konsistensi feces bervariasi antar individu. Mekanisme kerja terjadinya diare meliputi penempelan bakteri pada sel epitel dengan atau tanpa kerusakan mukosa, invasi mukosa, dan produksi enterotoksin atau sitotoksin (Cielsa & Guerrant, 2003). Beberapa hal yang dapat menyebabkan diare termasuk bakteri *Salmonella thypi*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli*, virus *Rotavirus*, *Norovirus*, parasit *Cryptosporidium*, *Giardia*, racun bakteri dari *Staphylococcus* dan beberapa senyawa seperti laksatif, antasida yang mengandung magnesium, prostaglandin dan obat antiinflamasi non steroid (Sukandar *et al.* 2013).

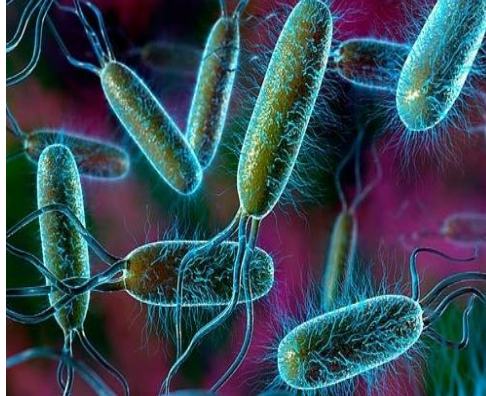
### G. *Escherichia coli*

#### 1. Sistematika *Escherichia coli* ATCC 25922 menurut (Songer & Post, 2005):

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Scimomyceyes
Bangsa	: Eubacterial
Suku	: Enterobactericeae



Marga : Eschericeae  
Jenis : *Escherichia coli*



Gambar 3. Bakteri *Escherichia coli* (Hardjoeno, 2007)

## 2. Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah maupun air (Maksum, 2002).

## 3. Morfologi *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak di usus, bergerak dengan flagel. *Escherichia coli* dapat menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas, yang dapat meningkatkan sekresi air dan klorida dalam lumen usus dan menyebabkan hipermotilitas yang akan menyebabkan diare ringan pada anak-anak (Jawezt *et al.* 1986). *Escherichia coli* menjadi patogen apabila mencapai jaringan di luar saluran kemih, saluran empedu, paru-paru, atau selaput otak yang dapat menyebabkan peradangan pada tempat tersebut (Bonang& Koeswardoyo, 1982).

*Escherichia coli* dapat memecahkan karbohidrat dengan membentuk asam dan gas, tidak menyebabkan hemolisa pada lempeng agar dari darah. *Agar Mc Conkey* menunjukkan produksi asam sebagai penggunaan laktosa dari medium. Pada biakan *Endo Agar* akan membentuk koloni berwarna merah dengan kilap logam yang permanen (Volk & Wheller, 1988).

#### 4. Fisiologi *Escherichia coli*

Bakteri uji *Escherichia coli* tumbuh baik dalam temperatur antara 8°C - 48° dan temperatur optimum 37°C. *Escherichia coli* menghasilkan kolisin, yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang bersifat patogenik, dipakai sebagai indikator untuk menguji adanya pencemaran air oleh tinja. *Escherichia coli* bersifat lateral yaitu peritrik dimana flagel tersebar dari ujung-ujung sampai pada sisi. Rata-rata pergerakan bakteri *Escherichia coli* kira-kira 25 mm/detik atau 10 cm/jam. Flagel berguna untuk bergerak, melekat dan konjugasi. *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati, 2009).

#### 5. Toksin *Escherichia coli*

**5.1 Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC).** ETEC memproduksi toksin LT (termolabil) dan ST (termostabil). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford, 2008).

**5.2 Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC).** EPEC merupakan *Escherichia coli* yang pertama kali dikenali sebagai patogen primer yang menyebabkan wabah diare di tempat perawatan anak. Penempelan berhubungan dengan hilangnya mikrovili dan disebabkan oleh pengaturan ulang dari aktin sel penjamu (Gillespie & Bamford, 2008).

**5.3 Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC).** EIEC mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus dan menyebabkan penyakit diare seperti disentri yang disebabkan oleh bakteri *Shigella Sp.* Bakteri menginvasi sel mukosa, menimbulkan kerusakan sel dan terlepasnya lapisan mukosa (Gillespie & Bamford, 2008).

**5.4 Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC).** EHEC memproduksi verotoksik yang bekerja pada sel vero *in vitro*. Diare berdarah yang disebabkan dapat diperparah oleh hemolisis dan gagal ginjal akut. Organisme ini komersial pada sapi dan di transmisikan ke manusia melalui buruknya *hygiene*

di tempat pemotongan dan tempat produksi makanan (Gillespie & Bamford, 2008).

## **6. Patogenesis**

*Escherichia coli* praktis selalu ada dalam saluran pencernaan hewan dan manusia karena secara alamiah *Escherichia coli* merupakan salah satu penghuni tubuh. Penyebaran *Escherichia coli* dapat terjadi dengan cara kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan) kemudian diteruskan melalui mulut. Penyebaran secara pasif dapat terjadi melalui makanan atau minuman (Meliawati, 2009). Gejala umum infeksi *Escherichia coli* diantaranya diare berdarah, mual-mual, nyeri abdomen, dan kram perut. Infeksi *Escherichia coli* pada bayi, anak-anak, lanjut usia, pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah (penderita HIV/AIDS), dapat menimbulkan komplikasi yang menyebabkan kematian (Kusumaningsih, 2010).

## **7. Pengobatan Diare**

Pengobatan diare dapat diberikan setelah mengetahui penyebab yang pasti. Obat antibiotik dapat diberikan jika pada pemeriksaan laboratorium ditemukan bakteri patogen (Suratmaja, 2007). Pengobatan diare yang tidak disebabkan oleh infeksi (tidak ada panas dan simptom sistemik) dapat diberikan terapi simptomatik seperti terapi dehidrasi, pemberian loperamid, absorben atau pemberian oralit yang sering disebut terapi suportif dan diet. Oralit berfungsi mencegah dehidrasi yang sangat berbahaya bagi penderita diare, terutama bayi dan lansia. Sedangkan diare yang disebabkan oleh infeksi (timbul panas dan simptomatik sistemik) dapat diberikan obat antibiotik yang sesuai (Priyanto dan Lestari, 2009). Pemberian antibiotik untuk penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* pada acuan guideline *The Treatment of Diarrhoea : a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers* yaitu dengan menggunakan kotrimoksazol sebagai lini pertama (WHO, 2005).

## **F. Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa atau zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Daya kerja antibiotik yaitu tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Sedangkan antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman (Rostinawati, 2009).

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesa protein sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri (Jawetz *et al.* 1986). Pertama, menghambat metabolisme sel bakteri. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara, 1995).

Kedua, menghambat dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan. Dimana polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Salah satu kerja antibakteri adalah menghambat sintesis dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara, 1995).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri. Membran biologi terdiri dari lipid, protein, dan lipoprotein. Membran sel berperan sebagai pembatas (*barrier*) difusi molekul air, ion, nutrien, dan sistem transport. Mmembran memelihara integritas komponen selular. Kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya (Ganiswara, 1995).

Keempat, menghambat sintesa protein sel bakteri. Dalam hidupnya bakteri mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan

bantuan mRNA dan tRNA. Berbagai macam enzim yang berada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi kerjanya suatu penghambat. Beberapa agen bakteri bertindak menghambat fungsi ribosom. Ribosom bakteri mengandung dua sub unit yaitu sub unit 50S dan 30S, dan ini memungkinkan untuk tempat aksi antibiotik untuk satu sub unit atau keduanya (Ganiswara, 1995).

Kelima, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Agen antimikroba dapat menghambat sintesis asam nukleat dan dapat mencegah DNA dari fungsinya dengan mengganggu polymerase yaitu suatu enzim yang mengkatalisis proses sintesis DNA yang terlibat dalam replikasi DNA. Protein, DNA, dan RNA memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Ganiswara, 1995).

#### **H. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Dilusi**

Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi bakteri 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 diinokulasi terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan dari metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah mikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 1986) dan satu konsentrasi agen mikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008). Kekurangan metode dilusi adalah sampel yang digunakan harus jernih karena jika keruh akan mempengaruhi pengamatan (Putra 2010).

### I. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi

Uji aktivitas bakteri yaitu suatu uji aktivitas untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi atau pengenceran (Bonang & Koeswardono, 1982). Metode difusi yaitu suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cawan yang berliang renik yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu dan ditempatkan pada suatu pembenihan yang telah ditanami oleh biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986).

Prinsip dari metode difusi adalah bakteri ditanam pada media yang cukup subur sehingga mampu tumbuh optimal, kemudian diletakkan disk yang mengandung obat yang dimasukkan ke dalam agar dan diamati pengaruhnya terhadap penanaman bakteri yang diperiksa. Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi yaitu pradifusi, ketebalan medium agar, ketebalan inokulum, komposisi media agar, suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan pengaruh pH. Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi dari zat uji ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter hambat. Makin tebal media yang digunakan makin kecil media hambat yang terjadi (Bonang & Koeswardono, 1982). Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Muller Hinton* yang ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya yaitu terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harmita, 2004). Dalam media difusi ada berbagai cara yaitu, pertama, cara *Kirby Bauer*. Kuman dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml dioleskan pada permukaan media agar hingga rata kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibiotik di atasnya. Kedua, cara sumuran. Prinsipnya sama dengan *Kirby Bauer*, tetapi disk antibiotik diganti dengan larutan antibiotik yang diteteskan pada sumuran yang dibuat dengan diameter tertentu pada media agar. Ketiga, cara *Pour Plate*. Pada cara ini suspensi kuman dengan konsentrasi  $10^8$  CFU/ml ditambahkan pada agar

yang masih mencair. Setelah media mengeras, diletakkan kertas samir (disk) antibiotik (Anonim, 1986).

Keuntungan metode difusi adalah dapat dengan mudah menentukan potensi antibakteri mengukur diameter zona radikal dan zona iradikal dibanding dengan metode dilusi yang pengamatannya sulit karena warna ekstrak sangat berpengaruh. Zona radikal adalah suatu daerah disekitar sumuran yang sama sekali tidak terlihat pertumbuhan bakteri, sedangkan zona iradikal adalah daerah disekitar sumuran yang pertumbuhan bakterinya dihambat oleh zat antimikroba tetapi tidak dimatikan. Kekurangan metode ini adalah aktivitas antibakterinya dapat dipengaruhi oleh tebal tipisnya medium dan faktor difusibilitas obat karena suspensi bakteri tidak tersebar merata seperti metode dilusi (Jawetz *et al.* 1986).

## **J. Media**

Media yaitu bahan-bahan yang terdiri dari zat kimia organik atau anorganik yang telah melalui proses pengelolaan tertentu dan dapat digunakan untuk menumbuhkan atau mengembangbiakan mikroba. Syarat media yang digunakan dalam mikrobiologi harus mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pengembangbiakan mikroba. Media tersebut harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan mikroba, steril, tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diinginkan dan tidak bersifat toksik (Suriawiria, 1986).

### **1. Macam-macam bentuk media**

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media cair dan media semi padat. Media padat apabila ke dalam media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Tepung agar-agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan mikroalga. Media cair (liquid media) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media tidak ditambahkan zat pematat, media cair dipergunakan untuk perbaikan mikroalga terutama bakteri dan ragi. Media semi cair atau medi semi padat digunakan untuk menguji ada tidaknya mortilitas dan

kemampuan fermentasi. Media ini untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawira, 1986).

## **2. Jenis-jenis media**

**2.1 Media anaerob.** Bakteri anaerob ditanam pada media spesial disebut reducing media yang menggunakan natrium thioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasi dalam media agar di dalam cawan petri (Radji, 2011).

**2.2 Media kompleks.** Media ini mengandung nutrisi tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Vitamin, mineral dan bahan organik diperoleh dari ekstrak daging maupun ragi yang merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cairan adalah *Nutrient Broth*, sedangkan yang ditambahkan media agar disebut *Nutrient Agar* (Radji, 2011).

**2.3 Media pengayaan.** Media ini dalam bentuk media cair bila digunakan untuk pengayaan biakan bakteri dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan. Tahap pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji, 2011).

**2.4 Media biakan khusus.** Media biakan khusus digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan  $O_2$  dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi  $CO_2$  di udara (Radji, 2011).

**2.5 Media sintetik.** Media sintetik digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji.



Organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan disebut *fastidious*, misalnya *Lactobacillus* (Radji, 2011).

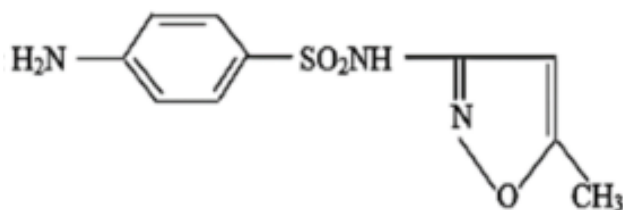
**2.6 Media selektif dan diferensial.** Media selektif dan diferensial digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contoh *Bismuth Sulfite Agar* digunakan untuk mengisilasi bakteri *Salmonella thypi* pada tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama (Radji, 2011).

### K. Sterilisasi

Peralatan maupun bahan yang akan digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Keadaan steril yang dimaksud yaitu bebas dari mikroba yang merusak ataupun mengganggu dalam proses pengerjaan. Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan adalah sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar gelombang pendek seperti sinar-X, sinar  $\alpha$ , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi, 2008). Sterilisasi didesain untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme. Target suatu metode inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein atau membran mikroorganisme tersebut (Pratiwi, 2008).

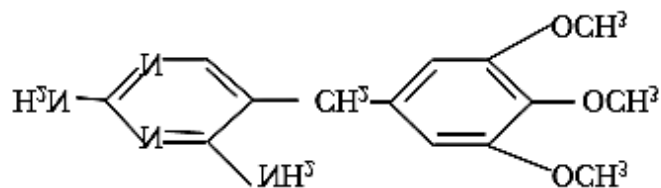
### L. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimetoprim dan sulfametoksazol digunakan dalam bentuk kombinasi karena sifatnya sinergistik. Trimetoprim dan sulfametoksazol menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Penemuan sediaan kombinasi ini merupakan kemajuan penting dalam usaha meningkatkan efektifitas klinik antimikroba. Penggunaan kotrimoksazol pada penelitian ini karena kotrimoksazol merupakan antibiotik yang poten dan aktif dalam membunuh bakteri Gram negatif salah satunya yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922 (Ganiswara, 1995). Kotrimoksazol jarang menimbulkan resistensi sehingga banyak digunakan untuk berbagai penyakit infeksi (Kirana Rahardja, 2003).



Gambar 4. Struktur Antibiotik Sulfametoksazol

Sulfametoksazol memiliki rumus molekul  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$  dengan berat molekul 253,28. Pemerian serbuk hablur, putih sampai hampir putih, praktis tidak berbau. Memiliki kelarutan praktis tidak larut dalam air, dalam eter dan dalam kloroform, mudah larut dalam aseton dan dalam larutan natrium hidroksida encer, agak sukar larut dalam etanol. Sulfonamide adalah struktur yang analog dengan PABA dan menghambat enzim dihidropteroat sintetase. Sulfonamid dapat masuk dalam reaksi dimana terdapat PABA dan bersaing pada sasaran enzim yang aktif. Sebagai hasilnya dibentuk asam folat analog yang nonfungsional sehingga bakteri tidak bisa tumbuh (Brooks dkk., 2007).



Gambar 5. Struktur Antibiotik Trimetoprim

Trimetoprim memiliki rumus molekul  $C_{14}H_{18}N_4O_3$  dengan berat molekul 290,36. Pemerian serbuk hablur, putih sampai krem, tidak berbau. Memiliki kelarutan sangat sukar larut dalam air, agak sukar larut dalam kloroform dan dalam methanol, larut dalam benzilalkohol, sangat sukar larut dalam etanol dan dalam aseton, praktis tidak larut dalam eter dan dalam karbon tetraklorida. Trimetoprim (3, 4, 5 - *trimethoxybenzyl pyrimidin*) menghambat enzim reduktase dihidrofolat 50.000 kali lebih efisien pada bakteri. Enzim ini mereduksi dihidrofilik terhadap asam tetrahidrofolat, merupakan rangkaian sintesis purin dan juga DNA. Sulfonamide dan trimetoprim masing-masing dapat digunakan secara sendiri untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Jika digunakan bersama dihasilkan bloking ganda yang berurutan dan berakibat peningkatan aktivitas yang nyata (sinergisme) (Brooks dkk., 2007). Mekanisme kerja antibiotik tersebut adalah *trimethoprim-sulfamethoxazole* merupakan kombinasi yang bersifat sinergistik dengan mekanisme kerja, trimetoprim memblok produksi asam tetrahidrofolat dari asam dihidrofolat dengan cara menghambat enzim dihidrofolat reduktase bakteri. Sedangkan sulfametoksazol mencegah sintesis asam dihidrofolat, sehingga bakteri bersaing dengan asam para amino benzoat (PABA). Kombinasi ini akan memblok dua langkah yang berhubungan dengan biosintesis asam nukleat dan protein esensial pada banyak bakteri (Sinuhaji dkk., 2005).

Aktivitas kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya pada dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dan hidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenin, guanin, dan timidi) dan beberapa asam amino (metiolin, glisin) (Ganiswara, 1995).

### **M. Efek Kombinasi Obat**

Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan baik dan tepat. Baik takaran, waktu dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama

lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional yang memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan saat ini. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono, 2007). Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme) (Tjay & Raharja, 2002). Efek dari kombinasi obat ada dua yaitu :

### **1. Antagonis**

Antagonis adalah terjadi apabila efeknya yang dihasilkan lemah serta obat yang pertama melemahkan efek obat yang kedua.

### **2. Sinergisme**

Sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dan dikenal dua jenis yaitu: Adisi (penambahan) yaitu efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan masing-masing obat dan potensiasi (peningkatan potensi). Potensiasi yaitu kedua obat saling memperkuat khasiatnya sehingga terjadi efek yang melebihi jumlah matematis.

## **N. Landasan Teori**

Keadaan udara di Indonesia yang panas, lembab, dan berdebu membuat mikroba dapat tumbuh subur. Penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme yaitu penyakit infeksi. Infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang dengan pesat. Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Penyakit infeksi yang paling sering dijumpai adalah diare. Diare adalah suatu kondisi ketika konsistensi feses lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dan frekuensinya lebih sering (biasanya tiga kali atau lebih) dalam satu hari. Penyebab yang paling sering ditemukan di

lapangan ataupun secara klinis adalah diare yang disebabkan infeksi dan keracunan (Depkes RI, 2011). Bakteri yang paling sering dijumpai dan dapat menyebabkan diare yaitu bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif sebagai flora normal pada saluran cerna, yang dapat menyebabkan infeksi atau diare sedang sampai berat pada saluran cerna manusia. Bakteri ini termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah dan dalam air (Maksum, 2002). *Escherichia coli* pada keadaan tertentu dapat terjadi perubahan terhadap sel inang seperti sistem imun yang menurun dan mampu menimbulkan penyakit –pada manusia (Sarson *et al.* 2014). *Escherichia coli* memproduksi toksin labil toxin (LT) dan stable toxin (ST). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford, 2008).

Di Indonesia tanaman tradisional banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat-obatan. Salah satunya adalah tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang dapat digunakan pengobatan untuk diare. Senyawa aktif pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavonoid, tannin dan saponin (Naim, 2004). Berdasarkan penelitian sebelumnya menurut Adnyana *et al.* (2004), ekstrak daun jambu biji daging buah putih dan daun jambu biji daging buah merah memiliki kemampuan daya hambat bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexnerii*, dan *Salmonella thyphi*.

Bahan alam lain yang telah dikenal oleh masyarakat sebagai obat tradisional dan merupakan agen antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif adalah umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) (Lekshmi *et al.*, 2015). Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam umbi bawang putih (*Allium sativum*) adalah senyawa metabolit sekunder, seperti tannin, alkaloid dan saponin. Umbi bawang putih (*Allium sativum*) juga mengandung senyawa *Allisin* yang dapat bekerja sebagai antibakteri untuk gram positif dan gram

negatif (Gydian *et al.*, 2017) Sebagai antibakteri *Allicin* bekerja dengan mengubah fitur dari protein, lipid dan polysakarida pada selaput sel bakteri (Xiaonan *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa tersebut dapat mereduksi sistein dalam tubuh mikroba sehingga mengganggu ikatan disulfide dalam proteinnya (Hernawan dan Setyawan, 2003).

Menurut Gaherwal *et al.* (2014) dari hasil penelitiannya menggunakan metode difusi, minyak mentah dan ekstrak etanol baik memberikan zona hambat yang sama dalam *Escherichia coli*, ekstrak kasar memberikan zona hambat maksimum terhadap *S. aureus* dan ekstrak metanol memberikan zona hambat terhadap *Salmonella thypi*. Secara keseluruhan hasil menunjukkan bahwa ekstrak kasar adalah yang paling kuat terhadap bakteri patogen dibandingkan dengan ekstrak metanol meskipun keduanya efektif.

Menurut Jawezt *et al.* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kerja kedua efek.

### O. Hipotesis

1. Dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. Konsentrasi yang paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diambil secara acak pada bulan November 2017 dari Surakarta, Jawa Tengah. Umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) diambil secara acak pada bulan November 2017 dari Surakarta, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) diambil secara acak dengan memilih helaian daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, berwarna hijau, segar, bebas dari hama, dan dipanen pagi hari diperoleh dari daerah Surakarta, Jawa Tengah. Umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) diambil secara acak dengan memilih umbi bawang putih yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, berwarna putih kekuningan, segar, bebas dari hama, dan dipanen siang hari diperoleh dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah.

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

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

Variabel utama adalah ekstrak etanol 96% dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.).

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak dengan perbandingan (1:1), (3:1), (1:3) dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 96% dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

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

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel

tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variabel yang biasanya diubah-ubah yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel kendali adalah variabel yang dapat mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir dan perlu ditetapkan kualifikasinya, hasil yang didapatkan tidak menyebar dan dapat dilakukan peneliti lain secara tepat. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian.

**2.1 Variabel bebas.** Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi dari ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan perbandingan 1:1, 3:1 dan 1:3.

**2.2 Variabel kendali.** Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, kondisi laboratorium (antara lain: kondisi inkasi, alat dan bahan yang digunakan harus steril), media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen, dan metode ekstraksi.

**2.3 Variabel tergantung.** Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media uji.

### 3. Defisiensi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah tanaman yang diambil dari Desa Mojosongo, Surakarta. Kedua, umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman yang diambil dari Karanganyar, Jawa Tengah.

Ketiga, serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang dikerjakan dalam alat pengering oven pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40. Keempat, serbuk umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang dikerjakan dalam alat pengering oven pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40. Kelima, ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah hasil dari maserasi serbuk dengan pelarut etanol 96%. Keenam, ekstrak umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah hasil dari maserasi serbuk dengan pelarut etanol 96%. Ketujuh, kombinasi ekstrak daun



jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) 1:1 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji 0,50 mg dan umbi bawang putih 0,50 mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%. Kedelapan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih dengan perbandingan 3:1 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji 0,75 mg dan umbi bawang putih 0,25 mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%. Kesembilan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih dengan perbandingan 1:3 adalah kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji 0,25 mg dan umbi bawang putih 0,75 mg dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 1%. Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25992 diambil dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Kesebelas, penentuan aktivitas antibakteri dengan metode difusi adalah mengukur diameter daerah hambatan terhadap pertumbuhan bakteri diujikan pada ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal umbi bawang putih, serta kombinasi ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih dengan perbandingan (1:1), (3:1), (1:3). Kedua belas, uji antibakteri ekstrak teraktif dengan metode difusi, berupa ekstrak tunggal maupun ekstrak kombinasi daun jambu biji dan umbi bawang putih yang paling aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Ketiga belas, metode dilusi adalah pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal yang diinkubasi dengan suhu 37° C selama 24 jam yang diamati dengan melihat taraf kekeruhan dalam media.

### **C. Bahan dan Alat**

#### **1. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang masih segar. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion* (BHI), *Endo Agar* (EA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Simon Citrat* (SC).

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, asam asetat, asam sulfat pekat, HCl 2N, larutan *mayer*, HCl pekat, larutan *dragendorff*, magnesium, pelarut amil alkohol, FeCl<sub>3</sub>, reagen *Erlich*, larutan krisal violet, minyak imersi, larutan safranin, larutan lugol, larutan alkohol dan DMSO 1%.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

## 2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisa yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg dan daya muat maksimal 100 gr, ayakan nomor 40, *Moisture balance*, tabung reaksi, gelas ukur, vial, pipet tetes, pipet volume, micropipette, syring, pinset, inkubator, corong kaca, penangas air, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat *rotary evaporator*, pembakar spritus, *beaker glass*, jarum Ose, *autoclav*, blender, oven, mikroskop, object glass, deg glass, kain flanel, batang pengaduk, labu ukur, gelas arloji, kertas karton, kapas lidi steril, kertas koran, cawan petri.

## D. Jalannya Penelitian

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) diambil yang masih segar dan bersih. Kemudian dicuci bersih dan dilanjutkan ke tahap selanjutnya. Pengambilan simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diambil dari Desa Mojosongo, Surakarta dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang diambil dari Daerah Karanganyar, Jawa Tengah.

### 1. Determinasi tanaman

Determinasi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dilakukan dengan menunjukkan tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih yang meliputi daun, batang, bunga, akar dan buah kemudian menetapkan kebenarannya sesuai ciri-ciri morfologinya. Determinasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

## 2. Pembuatan serbuk

Pembuatan serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan cara dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) yang sudah bersih dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven. Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperbesar luas permukaan antara cairan penyari dengan serbuk.

## 3. Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.)

Penetapan kadar air daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Timbang serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) sebanyak 2 gram, suhu yang digunakan adalah 95° dan waktu pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit. Penandaan hasil analisa telah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sampai 3 kali. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

## 4. Pembuatan ekstrak etanol

**4.1. Ekstrak etanol daun jambu biji.** Serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol coklat diisi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, kemudian direndam selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang diaduk-aduk. Setelah 5 hari diserkai, ampas diperas. Filtrat yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 65°C.

**4.2. Ekstrak etanol umbi bawang putih.** Serbuk umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol coklat diisi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75,

kemudian direndam selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang diaduk-aduk. Setelah 5 hari direndam, ampas diperas. Filtrat yang diperoleh disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 65 °C.

## 5. Uji bebas etanol

Tes bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Dengan cara ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih masing-masing ditambah asam acetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) dan asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) kemudian dipanaskan, jika tidak terdapat bau khas ester berarti sudah tidak terdapat alkohol dalam ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih.

## 6. Pengujian kandungan kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.). Identifikasi senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid dibuktikan di Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

**6.1. Identifikasi flavonoid.** Ekstrak sebanyak 0,5 gram dicampurkan dengan aquadestilata. Setelah itu, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrate ditambahkan 0,5 mg bubuk Mg dan ditambahkan 1 ml HCl pekat dan amil alkohol. Dicampurkan dan dikocok kuat kuat kemudian biarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah, 2014).

**6.2. Identifikasi saponin.** Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambahkan aquadestilata, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang menandakan kandungan saponin.

**6.3. Identifikasi alkaloid.** Ekstrak sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan aquadestilata. Setelah itu ditambahkan 1 ml HCl 2N dibuat dalam 2 tabung. Tabung 1 ml ditambahkan reagen *Mayer* yang kemudian akan membentuk endapan menggumpal putih kekuningan. Tabung 2 ditambahkan reagen

*Dregenddroff* terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga (Alamsyah, 2014).

**6.4. Identifikasi tannin.** Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambahkan aquadestilata sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit. Kemudian direaksikan dengan menambahkan  $\text{FeCl}_3$ . Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tannin (Alamsyah, 2014).

## 7. Sterilisasi

Sterilisasi inkas dengan menggunakan formalin, media yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan *autoklaf* pada suhu  $121^\circ \text{C}$  selama 15 menit. Alat-alat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu  $170^\circ \text{C}$  selama 1-2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan api langsung (Suriawiria, 1985).

## 8. Identifikasi bakteri uji

**8.1 Identifikasi bakteri.** Identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, suspensi *Escherichia coli* ATCC 25922 di inokulasi pada media *Endo Agar* dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ \text{C}$  selama 24 jam. Hasil positif bila penampakan koloni dengan kilat logam dan warna medium merah violet (Volk & Wheller, 1988).

**8.2 Pembuatan suspensi bakteri uji.** Pengambilan suspensi dilakukan dengan mengambil biakan murni kurang lebih dua Ose bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi tersebut dimasukkan kedalam tabung yang berisi media BHI (*Brain Heart Infusion*) dan kemudian kekeruhannya distandarkan dengan *McFarland* 0,5 yaitu setara dengan  $10^8$  CFU/ml bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Tujuan distandarkannya dengan *McFarland* 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu  $37^\circ \text{C}$  selama 24-48 jam.

**8.3 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.** Pewarnaan gram dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan gram negatif ditandai dengan sel bakteri yang berwarna merah dan berbentuk batang. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara membuat preparat ulas yang difiksasi lalu tetes Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada

preparat sampai semua ulasan terwarnai, diamkan kurang lebih selama 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikering anginkan, kemudian tetesi mordant (lugos iodin) Gram B sebagai penguat warna dan diamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikering anginkan setelah itu preparat dilunturkan dengan Gram C (alkohol) dan diamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadest mengalir kemudian keringkan. Larutan safranin (Gram D) diberikan selama 3 menit , dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Minyak imersi diberikan diatas kaca preparat bakteri. Kaca preparat diamati menggunakan mikroskop perbesaran 10x /100x.

## 9. Uji biokimia

**9.1 SIM (*Sulfide Indol Motilitas*).** Biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji adanya sulfida indol, dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif bila berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen *Erhlich* A dan B. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media. Hasil tersebut bisa dituliskan dengan tanda (-++)

**9.2 KIA (*Kliger Iron Agar*).** Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar, terdapatnya gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar berwarna kuning (ditulis A), terbentuknya gas yang ditandai dengan pecahnya media (ditulis G), sulfida positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif dapat dituliskan yaitu A/A S-.

**9.3 LIA (*Lisin Iron Agar*).** Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya lisin deaminasi dan dekarboksilase. Selanjutnya diamati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan berwarna merah (ditulis R).

Berwarna kuning yang berarti susunanya asam (ditulis A). Bila berwarna ungu berarti tetap karena bakteri tidak dapat memecah lisin (ditulis K) disertai terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+). Hasil positif dapat dituliskan yaitu K/K S-.

**9.4 Simmon Citrat.** Biakan bakteri diinokulasikan pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon. Uji ini negatif bila media berwarna biru. Hasil positif dapat dituliskan yaitu berwarna hijau (-).

## **10. Pembuatan Larutan Kombinasi Sediaan Ekstrak**

Ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih dikombinasikan dengan perbandingan (1:1), (3:1), (1:3) dengan menggunakan larutan stok tunggal daun jambu biji dan tunggal umbi bawang putih konsentrasi 50%. Perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,5 ml dan ekstrak umbi bawang putih 0,5 ml. Perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,75 ml dan ekstrak umbi bawang putih 0,25 ml. Perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil ekstrak daun jambu biji sebanyak 0,25 ml dan ekstrak umbi bawang putih 0,75 ml.

## **11. Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan metode difusi. Metode difusi bertujuan untuk menentukan diameter daerah hambat. Metode difusi yang digunakan yaitu menggunakan “*boor prop*”. Pembuatan larutan kombinasi ekstrak adalah 1 ml. Metode difusi dilakukan dengan inokulasi suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 kedalam media MHA (*Mueller Hinton Agar*) menggunakan kapas lidi steril. Metode selanjutnya dilakukan dengan mengisi sumuran dengan ekstrak tunggal, perbandingan kombinasi ekstrak beserta kontrol yang telah dipersiapkan. Sumuran pertama berisi ekstrak tunggal jambu biji, ekstrak tunggal umbi bawang putih, perbandingan kombinasi 1:1, 3:1, 1:3, DMSO 1% sebagai kontrol negatif dan kotrimoksazol sebagai pembanding kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati hasilnya kemudian diukur diameter daerah hambat yang jernih menggunakan jangka sorong (satuan mm).

Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran menunjukan ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi dari daun jambu biji dan umbi bawang putih memiliki daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi bakteri kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono, 1982). Pengujian aktivitas ekstrak antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan seri konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Kontrol negatif yang digunakan yaitu ekstrak dan kontrol positif yang digunakan yaitu bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi bakteri yang digunakan diencerkan dalam medium BHI. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil yang didapatkan tidak dapat dilihat karena ditutupi oleh kekeruhan yang berasal dari ekstrak yang berwarna hijau sehingga mempersulit pengamatan. Hal tersebut dapat diatasi dengan melakukan inokulasi pada semua tabung dalam cawan petri pada media *Endo Agar* sehingga diketahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri.

Inokulasi pada media *Endo Agar* pada seri konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% , dan kontrol positif menunjukkan hasil positif jika media berwarna dan adanya kilat logam yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

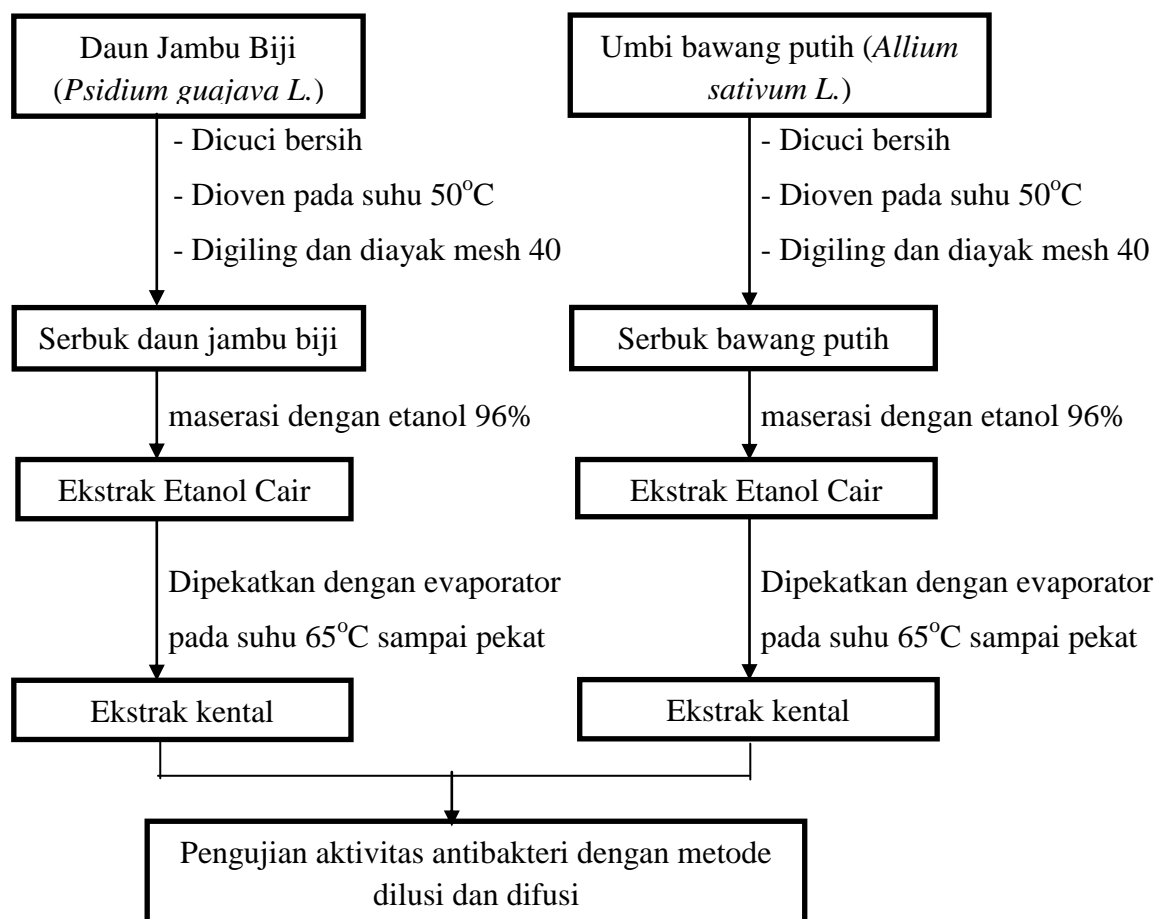
### **E. Analisa Hasil**

Data hasil penelitian diperoleh adanya diameter daerah hambat pada pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukan dengan adanya zona jernih disekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter daerah hambat dari masing-masing sumuran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan

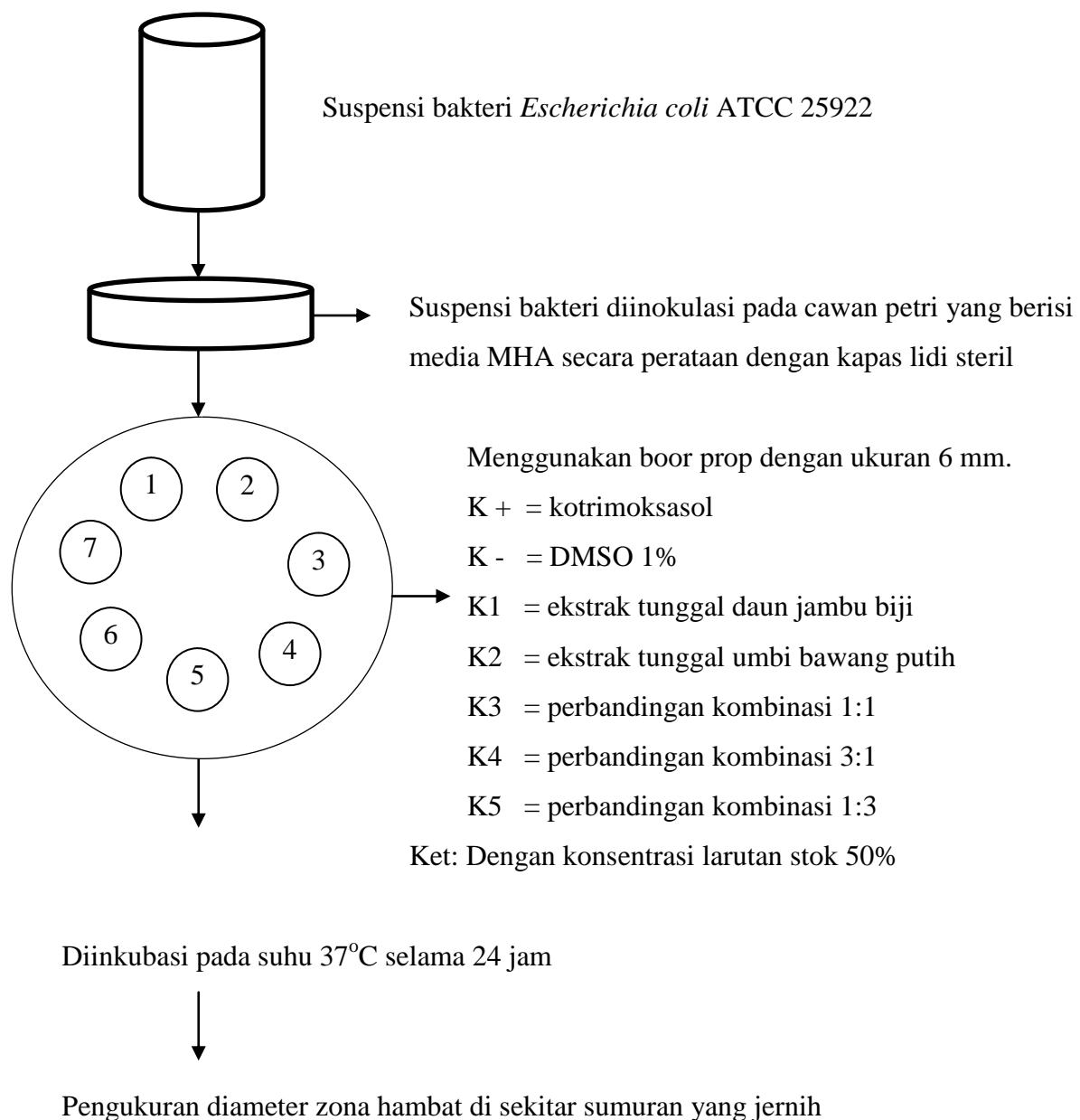


*Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan.

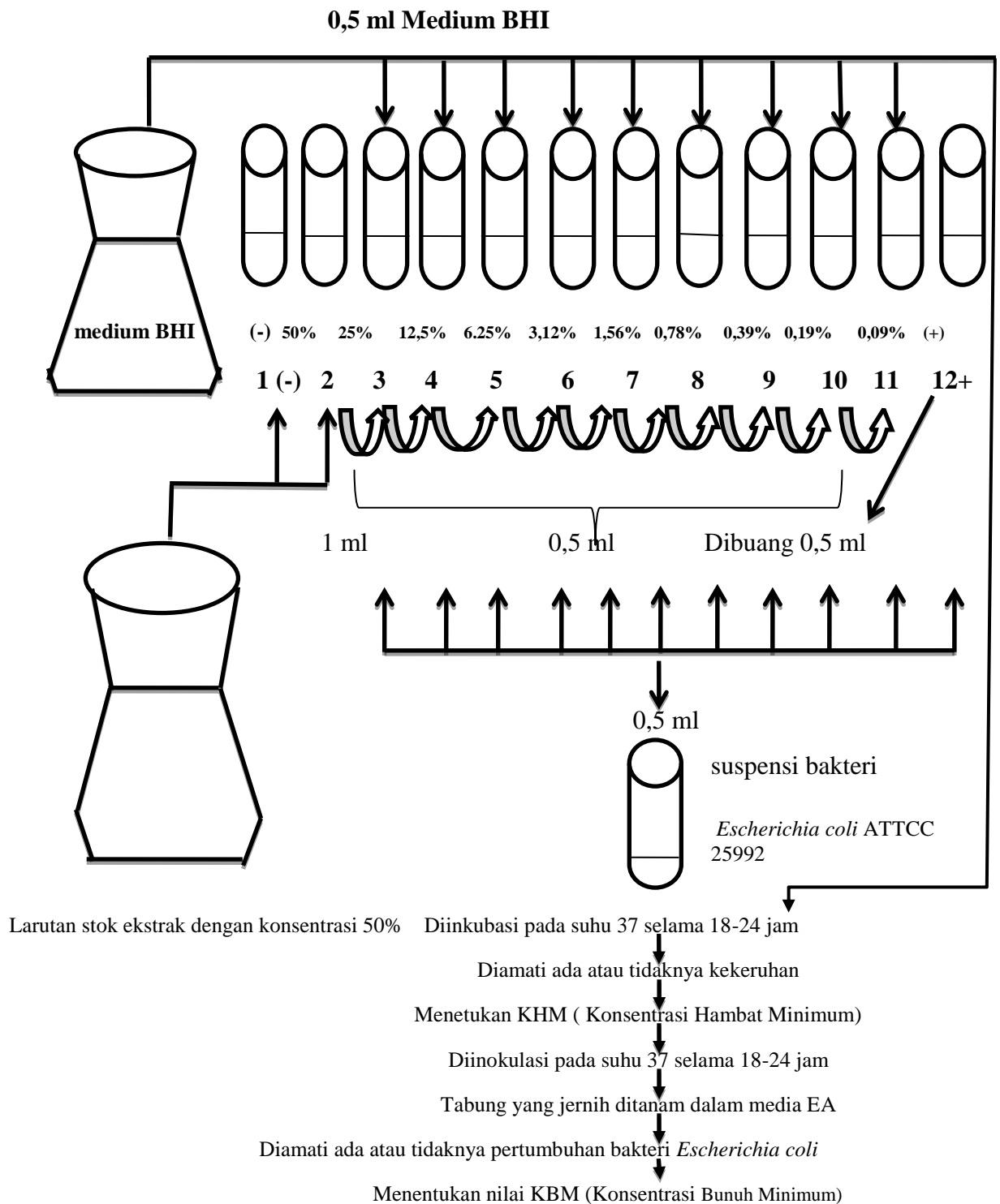
#### F. Skema penelitian



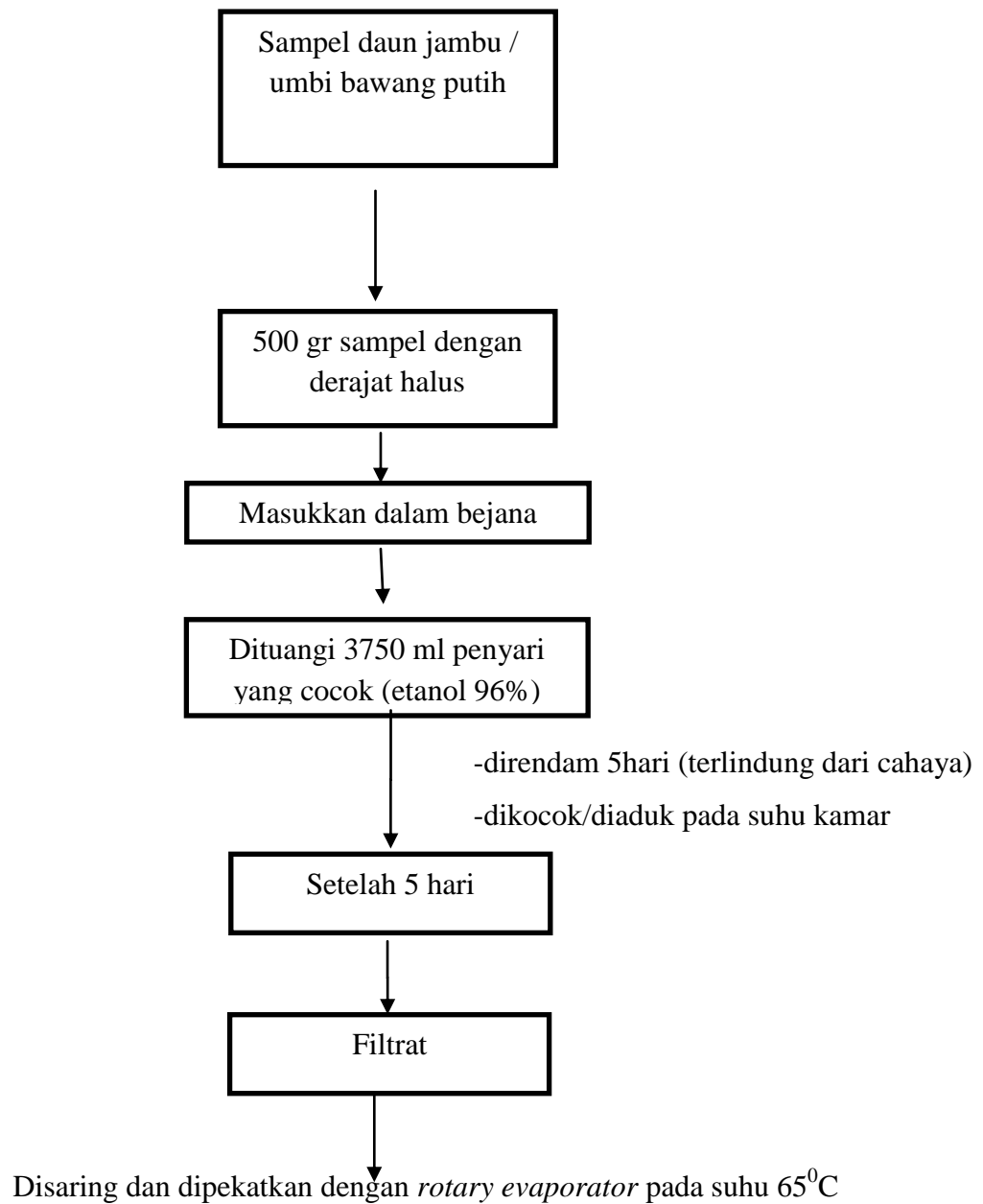
Gambar 6. Skema jalannya penelitian.



**Gambar 7. Skema pengujian antibakteri dengan metode difusi terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922**



**Gambar 8.** Skema uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L) secara dilusi



**Gambar 9. Skema jalannya maserasi**

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Identifikasi tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih

Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengambilan dan pengumpulan bahan. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih yang telah diidentifikasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

##### 2. Hasil pembuatan serbuk tanaman daun jambu biji dan umbi bawang putih

2.1 Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah

	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (b/b)
Daun jambu biji	8.000,00	2.150,00	26,87%
bawang putih	2.000,00	350,00	17,50%

Berdasarkan hasil pengeringan daun jambu biji diperoleh rendemen 26% b/b dan umbi bawang putih diperoleh rendemen 17,5% b/b. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada lampiran 9.

##### 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan bawang putih

Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih dilakukan dengan penggunaan alat *moisture balance*. Hasil penetapan susut

pengeringan serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

**Tabel 2.** Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji menggunakan alat *moisture balance*

	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Susut kering( %)
<b>Serbuk daun jambu biji</b>	2,00	1,83	8,50
	2,00	1,83	8,40
	2,00	1,83	8,40
<b>Rata-rata ± SD</b>	8,43% ± 0,05		

**Tabel 3.** Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang putih menggunakan alat *moisture balance*

	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Susut kering (%)
<b>Serbuk umbi bawang putih</b>	2,00	1,83	8,45
	2,00	1,83	8,50
	2,00	1,83	8,40
<b>Rata-rata ± SD</b>	8,45% ± 0,05		

Berdasarkan tabel 2 penetapan susut pengeringan yang dilakukan 3 kali replikasi dengan alat *moisture balance*, didapatkan rata-rata prosentase susut pengeringan serbuk daun jambu biji 8,43% dan serbuk umbi bawang putih 8,45%. Penetapan susut pengeringan tidak boleh lebih dari 10%, karena jika susut pengeringan lebih dari 10% menunjukkan bahwa kadar air dalam serbuk terlalu tinggi, yang dapat menurunkan kualitas simplisia. Susut pengeringan kurang dari 10% dapat mencegah pertumbuhan jamur maupun bakteri sehingga bahan lebih stabil dalam penyimpanan (Katno *et al.*2008). Berdasarkan dari penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih dapat disimpulkan bahwa serbuk daun jambu biji dan serbuk umbi bawang putih memenuhi syarat karena tidak melebihi dari 10% . Perhitungan penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 10.

#### **4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih**

Serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih masing-masing diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan etanol 96%. Maserasi dilakukan menggunakan etanol karena merupakan pelarut pengeskraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa

(Veronita F *et al.* 2017). Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 65<sup>0</sup> C. Perhitungan kombinasi serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih dengan perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 dapat dilihat pada lampiran 11 dan hasil pembuatan ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel 4. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada lampiran 12.

**Tabel 4. Rendemen ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih**

	Berat serbuk (gram)	Berat wadah kosong (gram)	Berat wadah & ekstrak (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (b/b)
<b>Daun JB</b>	500,00	148,05	256,17	108,12	21,62
<b>Umbi BP</b>	350,00	141,71	196,87	55,16	15,76

**Keterangan :**

**JB: Jambu biji**

**BP: Bawang putih**

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

Ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih dilakukan tes bebas etanol dengan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen asam sulfat dan asam asetat. Hasil uji bebas etanol ekstrak dapat dilihat pada tabel 5.

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

Prosedur	Bahan uji	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4conc</sub> +CH <sub>3</sub> COOH, dipanaskan	Ekstrak daun jambu biji, ekstrak umbi bawang putih	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol (DepKes RI 1987)

Hasil uji bebas etanol pada tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih sudah terbebas dari pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak tercium bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol bertujuan untuk membuktikan bahwa masing-masing ekstrak tersebut sudah tidak mengandung etanol yang memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mengganggu aktivitas dari masing-masing ekstrak.

## 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih.

Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung

dalam daun jambu biji dan umbi bawang putih. Hasil identifikasi secara kualitatif dengan reaksi warna terhadap serbuk dan ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan bawang**

Kandungan Kimia	Hasil				Pustaka	Interpretasi	Data
	A		B			A	B
<b>Flavonoid</b>	Merah lapisan alkohol	pada amil	Merah lapisan alkohol	pada amil	Warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	(+)	(+)
<b>Saponin</b>	Terbentuk tetap	buih	Terbentuk tetap	buih	Terbentuk warna buih tetap selama 30 menit setelah penetesan HCl 2N (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	(+)	(+)
<b>Tannin</b>	Cokelat kehijauan		Biru kehitaman		Terjadi perubahan warna cokelat kehijauan/ biru kehitaman (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	(+)	(+)
<b>Alkaloid</b>	HCl + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorff endapan merah samapi jingga		HCl + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorff endapan merah sampai jingga		HCl + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorff endapan merah sampai jingga (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	(+)	(+)

**Keterangan : A : Ekstrak daun jambu biji**

**B : Ekstrak umbi bawang putih**

**(+) : Positif mengandung golongan senyawa**

**(-) : Negatif, tidak mengandung golongan senyawa**

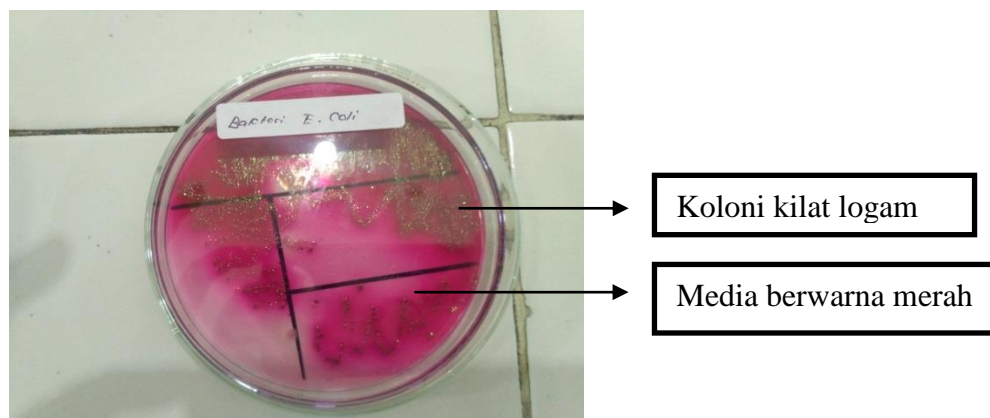
Hasil identifikasi kandungan kimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin dan alkaloid. Gambar hasil identifikasi senyawa ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih dapat dilihat pada lampiran 5, dan penjelasan hasil dapat dilihat pada lampiran 18.



## B. Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

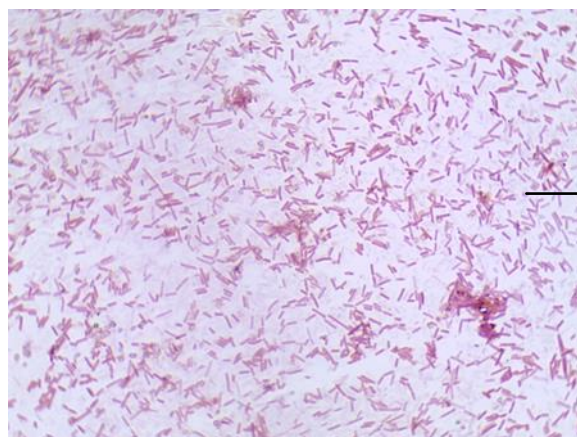
### 1. Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

**2.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara makroskopis.** *Escherichia coli* dapat memecahkan karbohidrat dengan membentuk asam dan gas, tidak menyebabkan hemolisa pada lempeng agar dari darah. *Agar Mc Conkey* menunjukkan produksi asam sebagai penggunaan laktosa dari medium. Pada biakan *Endo Agar* akan membentuk koloni berwarna merah dengan kilap logam yang permanen (Volk & Wheller, 1988). Gambar hasil isolasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada gambar 10.



**Gambar 10.** Hasil identifikasi koloni *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media *Endo Agar*

**2.2 Hasil Identifikasi Mikroskopis Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram.** Pewarnaan gram dilakukan untuk meyakinkan bahwa bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan gram negatif ditandai dengan sel bakteri yang berwarna merah, berbentuk batang dengan koloni yang menyebar hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif. Gambar hasil identifikasi morfologi dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 11.



Sel bakteri berwarna merah dan berbentuk batang

**Gambar 11.** Hasil identifikasi *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan pewarnaan Gram

**2.3 Hasil Identifikasi Fisiologi secara Biokimia.** Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara untuk mengidentifikasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya. Bakteri ditanam dalam media *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Klinger Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Simmon Citrat* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada tabel 7 dan foto hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 6.

**Tabel 7.** Hasil identifikasi biokimia pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Pegujian	Hasil	Pustaka	Interpretasi data
SIM	-++	-++	Sesuai
KIA	A/AG S(-)	A/AG S(-)	Sesuai
LIA	K/K S(-)	K/K S(-)	Sesuai
Citrat	-	-	Sesuai

**Keterangan :**

<b>SIM : Sulfide Indol Motility</b>	<b>(+) : Reaksi positif</b>	<b>K : Alkali (merah atau ungu)</b>
<b>KIA : Klinger Iron Agar</b>	<b>(-) : Reaksi negatif</b>	<b>S : Sulfida (hitam)</b>
<b>LIA : Lysine Iron Agar</b>	<b>A : Acid (kuning)</b>	<b>G : Gas</b>

Identifikasi pada media SIM (*Sulfida Indol Motility*) dilakukan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media SIM menunjukkan hasil (-++). Sulfida negatif artinya bakteri tersebut tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Indol positif, setelah dilakukan penambahan *Erhlich A* dan *B* terbentuk warna merah muda pada permukaan yang artinya bakteri *Escherichia coli* membentuk indol dari tryptophan sebagai sumber karbon.

Tryptophan merupakan suatu ezim asam amino esensial yang dapat mengalami reaksi oksidasi dalam kegiatan enzimatik bakteri. Uji motilitas positif menunjukkan ada pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, artinya bakteri tersebut memiliki flagel yang ditunjukkan dengan adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi pada media SIM.

Identifikasi pada medium KIA (Klinger's Iron Agar) dilakukan untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Medium KIA mengandung laktosa 1% dan glukosa 1% dan fenol merah sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Medium KIA juga mengandung sodium thiosulfat yaitu substrat untuk menghasilkan  $H_2S$ . Pengujian bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media KIA menunjukkan hasil A/AG S(-). A/A (asam/asam) pada lereng dan dasar media berwarna kuning artinya bakteri tersebut memfermentasi glukosa dan dasar media berwarna kuning artinya bakteri tersebut memfermentasi glukosa dan laktosa karena bakteri tersebut merubah indikator fenol merah menjadi kuning, G positif artinya terbentuknya gas yang ditandai dengan terangkat atau pecahan pada media. Sulfida negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media berarti bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino methion yang akan menghasilkan  $H_2S$ , sehingga  $H_2S$  akan bereaksi dengan  $Fe^{++}$  yang terdapat pada media.

Identifikasi pada medium LIA (*Lysine Iron Agar*) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media LIA menunjukkan hasil K/K S(-). K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu yang menunjukkan bakteri tidak mendeaminasi lisin, tetapi mendeakarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu), S negatif artinya uji  $H_2S$  negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino methion yang akan menghasilkan  $H_2S$ , sehingga  $H_2S$  akan bereaksi dengan  $Fe^{++}$  yang terdapat pada media (Volk dan Wheller 1988).

Identifikasi pada media *Simmons Citrate* untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media *Simmons Citrate* menunjukkan hasil negatif. Warna media tidak berubah atau tetap hijau, menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Medium *Simmons Citrate* terdapat indikator BTB (Bromo Thymol Blue) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan sitrat menyebabkan suasana basa dan asam akan dihilangkan dari medium biakan sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (menambah indikator BTB).

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri secara biokimia dapat disimpulkan bahwa benar bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli*. Hasil identifikasi bakteri secara biokimia dapat dilihat pada lampiran 6.

## **2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih serta kombinasi 1:1, 1:3, atau 3:1, secara difusi**

Uji pendahuluan antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) serta kombinasi keduanya dengan variasi kombinasi 1:1, 1:3 atau 3:1 terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode difusi. Tujuan dilakukan uji pendahuluan dengan metode difusi yaitu untuk melihat terbentuk atau tidaknya daerah jernih disekitar sumuran pada media *Muller Hinton Agar* (MHA), hal tersebut dianggap sebagai ukuran hambatan larutan uji terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 untuk kemudian dibandingkan dengan diameter daerah hambat antara kombinasi ekstrak dengan variasi 1:1, 1:3, dan 3:1. Masing-masing ekstrak dibuat dalam konsentrasi yang sama yaitu 50% ekstrak dalam pelarut DMSO 1%. Variasi kombinasi ekstrak yang memiliki diameter daerah hambat paling besar, akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara difusi bersama dengan ekstrak tunggal daun jambu biji dan umbi bawang putih. Hasil metode difusi dapat dilihat pada tabel 8 dan gambar hasil uji dapat dilihat pada lampiran 8.

**Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan bawang putih dengan metode difusi**

Bahan uji	Diameter daerah hambat (mm) Replikasi			Rata-rata $\pm$ SD
	1	2	3	
Kontrol (-)	0	0	0	0 $\pm$ 0
Kontrol (+)	30,00	28,50	29,30	28,27
Daun Jambu	21,10	20,60	20,70	20,80
Bawang Putih	10,40	10,70	8,78	9,96
Kombinasi 1:1	22,10	24,80	21,72	22,87
Kombinasi 1:3	20,60	21,20	20,94	20,91
Kombinasi 3:1	20,74	20,60	19,80	20,38

**Keterangan**

Kontrol (-) : DMSO 1%

Kontrol (+) : kotrimoxazol

Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih serta kombinasi kedua dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya daerah hambat disekitar sumuran. Kemampuan masing-masing ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diketahui dengan mengukur diameter daerah hambat yang terlihat disekitar sumuran. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji menurut penelitian Harizon *et al.* 2015 yang memiliki aktivitas antibakteri adalah golongan flavonoid terutama jenis senyawa quersetin. Diduga dalam penelitian ini penyebab efek sinergisme yang dihasilkan oleh kombinasi ekstrak daun jambu biji dan ekstrak umbi bawang putih adalah adanya senyawa yang memiliki mekanisme kerja yang sama sehingga ketika kedua ekstrak dikombinasi menghasilkan hasil yang lebih baik dibandingkan ekstrak tunggalnya.

Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, menghambat fungsi dari sitoplasma dan mengganggu metabolisme energi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Sari *et al.* 2010). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jhon senyawa turunan flavonoid yang terkandung dalam jambu biji adalah quersetin. Quersetin merupakan senyawa golongan flavonoid jenis flavonol dan flavon, senyawa ini banyak terdapat pada tanaman

famili Myrtaceae dan Solanaceae. Quersetin memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol dengan mekanisme mengkoagulasi protein dengan menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel (Katzung 2004). Tanin merupakan senyawa tanin yang bersifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substansi, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri (Minasari *et al.* 2016). Tanin merupakan senyawa yang bersifat polar dan memiliki kemampuan dapat berikatan dengan protein melalui jembatan hidrogen pada dinding sel (Maryati *et al.* 2008). Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel (Nuria *et al.* 2009). Menurut Kurniawan dan Aryana (2015) mekanisme alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Senyawa antibakteri dapat berspektrum luas dan berspektrum sempit, berspektrum luas artinya efektif terhadap bakteri yang bersifat gram positif dan gram negatif, sedangkan senyawa antibakteri berspektrum sempit hanya efektif untuk bakteri yang bersifat gram positif atau gram negatif saja (Jamaludin 2005). Dari hasil penelitian yang diperoleh, senyawa antibiotik, senyawa antibakteri pada ekstrak daun jambu biji berspektrum luas, karena selain mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, yaitu *Aeromonas hydrophila*, juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, yaitu *Escherichia coli* (Ajizah 2004).

Hasil analisis statistik data diameter daerah hambat (luas) ekstrak terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dinyatakan terdistribusi normal atau mewakili populasi dengan nilai signifikan ( $0,063 > 0,05$ ) dan homogen dengan nilai signifikan ( $0,154 > 0,005$ ). Hasil statistik menggunakan uji non-parametric terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikan ( $0,00 < 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar masing-masing ekstrak. Dari tabel Deskriptif dapat dilihat nilai

mean dari masing-masing ekstrak. Nilai mean tertinggi ada pada ekstrak 1:1 dengan nilai mean 22,87 mm yang menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi 1:1 memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dibanding dengan ekstrak tunggal daun jambu biji, ekstrak tunggal umbi bawang putih, kombinasi 1:3, kombinasi 3:1 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil statistik dapat dilihat pada lampiran 17.

### **3. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih dalam perbandingan 1:1 secara dilusi**

Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih dalam perbandingan 1:1 terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode dilusi. Pengujian dengan menggunakan metode dilusi atau dengan menggunakan seri pengenceran pada larutan uji dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi terendah dari suatu antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang mampu membunuh bakteri. Perhitungan konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 15.

Pengujian aktivitas ekstrak antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan seri konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Kontrol negatif yang digunakan yaitu ekstrak dan kontrol positif yang digunakan yaitu bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Suspensi bakteri yang digunakan diencerkan dalam medium BHI. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil yang didapatkan tidak dapat dilihat karena ditutupi oleh kekeruhan yang berasal dari ekstrak yang berwarna hijau sehingga mempersulit pengamatan. Hal tersebut dapat diatasi dengan melakukan inokulasi pada semua tabung dalam cawan petri pada media *Endo Agar* sehingga diketahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri.

Inokulasi pada media *Endo Agar* pada seri konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% , dan kontrol positif

menunjukkan hasil positif jika media berwarna dan adanya kilat logam yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Tabel 9. Hasil inokulasi ekstrak tunggal daun jambu biji dan bawang putih serta kombinasi 1:1**

Konsentrasi	HASIL INOKULASI								
	Tunggal JB			Tunggal BP			Kombinasi 1:1		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<b>K(-)</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>50%</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>25%</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>12,5%</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<b>6,25%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>3,12%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>1,56%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>0,78%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>0,39%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>0,19%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>0,90%</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>K(+)</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Keterangan :**

**(-)** :tidak ditumbuhi bakteri

**(+)** :ditumbuhi bakteri

**K(-)** :ekstrak etanol

**K(+)** :suspensi bakteri

**JB** :jambu biji

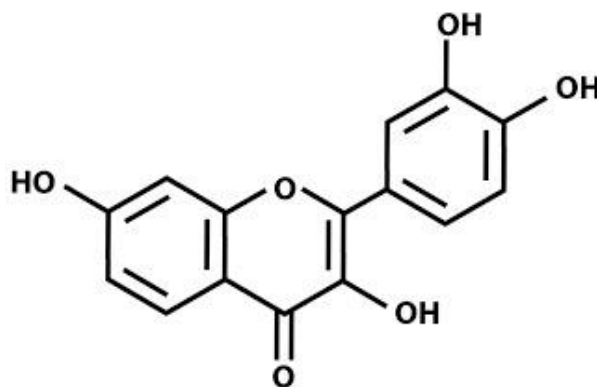
**BP** :bawang putih

Hasil inokulasi pada tabel 9 menunjukkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari masing-masing ekstrak. Inokulasi pada ekstrak tunggal daun jambu biji dan umbi bawang putih pada konsentrasi 25% dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 12,5% sedangkan kombinasi dengan perbandingan 1:1 konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dalam media *Endo Agar* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun jambu biji, umbi bawang putih dan kombinasi 1:1 berturut-turut adalah 25% dan 12,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi 1:1 memiliki aktivitas antibakteri paling efektif dengan nilai KBM 12,5%. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 6,25% merupakan kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri ditandai dengan tidak tumbuhnya kuman pada medium padat (Nuraina 2015).



Ekstrak kombinasi 1:1 memiliki aktivitas yang lebih baik karena terjadi peningkatan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25992 di banding dengan ekstrak tunggal daun jambu biji dan umbi bawang putih memiliki nilai KBM 25%. Setelah dikombinasikan dengan perbandingan satu bagian daun jambu biji dan satu bagian umbi bawang putih terjadi peningkatan aktivitas bakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan nilai KBM 12,5%. Peningkatan aktivitas antibakteri pada ekstrak kombinasi 1:1 diduga karena kandungan bahan aktif yang berpotensi sebagai antibakteri saling memperkuat khasiatnya sehingga lebih efektif dibanding ekstrak tunggal daun jambu biji dan umbi bawang putih.

Kemampuan aktivitas antibakteri daun jambu biji diduga karena adanya kandungan senyawa Quersetin merupakan senyawa golongan flavonoid jenis flavonol dan flavon, senyawa ini banyak terdapat pada tanaman famili Myrtaceae dan Solanaceae. Quersetin memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol dengan mekanisme mengkoagulasi protein dengan menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel (Katzung 2004).



**Gambar 12. Struktur Quersetin**

**Sumber : Hidetoshi Arima & Gen-ichi DANNO 2014**

Senyawa pada umbi bawang putih yang diduga juga memiliki aktivitas antibakteri salah satunya adalah Allicin (Gydian *et al.* 2017). Allicin terbentuk dari senyawa organosulfur utama dalam bawang putih yaitu *gamma-glutamyl-S-allyl-cystein* dan *S-allyl-L-cysteins sulfoxide* (allin) melalui reaksi enzimatis dengan bantuan enzim alinase (Santhosha *et al.*, 2013). Sebagai antibakteri Allicin bekerja dengan mengubah fitur dari protein, lipid dan polysakarida pada selaput

sel bakteri (Xiaonan *et al.*, 2011). Senyawa-senyawa tersebut dapat mereduksi sistein dalam tubuh mikroba sehingga mengganggu ikatan disulfide dalam proteinnya (Hernawan dan Setyawan, 2003). Ekstrak etanol bawang putih mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti tannin, alkaloid dan saponin.. Tanin dapat mengerutkan membran sel atau dinding sel yang mengganggu permeabilitas sel bakteri. Alkaloid dapat mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel tidak dapat terbentuk sempurna. Saponin dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya membran sel (Lingga & Rustama 2005). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, menghambat fungsi dari sitoplasma dan mengganggu metabolisme energi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Sari *et al.* 2010).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi 1:1 memiliki aktivitas menghambat paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 ditunjukkan dengan diameter daerah hambat 25,48 mm.
2. Kombinasi 1:1 memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif dengan nilai KBM 12,5%.

#### **B. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih:

1. Untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang paling efektif dengan cara membandingkan beberapa metode ekstraksi dan dengan bakteri lain.
2. Perlu dilakukan kajian mengenai senyawa yang berperan sebagai antibakteri dalam ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih yang dapat saling berinteraksi jika dikombinasikan.
3. Perlu dilakukan uji *checkerboard* untuk mengetahui aktivitas antibakteri sinergis atau antagonis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbott *et al.* 2009. Einstein@Home search for periodic gravitation waves in early S5 LIGO data. *Physical Review D*, 80 (4).
- Agedah C, Bawo DD, Nyananyo B. 2010. Identification of antimicrobial properties of cashew *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae). *J Appl Sci Environ. Manage* 14:25-7.
- Ajizah A. 2004. sensitivitas *Salmonella thypi* terhaap ekstrak *psidium guajava* L. *Bioscientiae* 1(1)8-11.
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermis*, *Journal Of Research* 3:69-87
- Anonim. 1989. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia 605-608, 618-619.
- Antika W, Gustina I, Irdawati. 2014. Uji daya hambat ekstrak daun bunga tanjung (*Mimuspos elengi* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* [Skripsi]. Padang: Program Studi Pendidikan Biologi Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan (STIKIP) PGRI.
- Ayepola OO, Ishola RO. 2009. Ealuation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* (Linn.). *American-Eurasian Network for Scientific Information*. 3: 1-3.
- Bonang G, Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik*, PT. Gramedia, Jakarta.
- Cahyono B. 2010. *Sukses Budi Daya Jambu Biji di Pekarangan dan Perkebunan*. Andi, Yogyakarta.
- Chabi Sika K. *et al.* 2013. Indegenous knowledge and traditional management of cashew (*Anacardium occidentale* L.) genetic resources in Benin. *J. Exp. Biol Agric Sci*. 1(5):375-382
- Ciesla WP, Guerrant RL. 2003 . *Infectious Diarrhea*. In: Wilson WR, Drew WL, Henry NK, *et al.*, ed.

- Dahake P, Vishal J, dan Arun J. 2009. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. IJCRGG. (1/4): 856-858.
- Dalimartha Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: Trobus Agriwidya.
- Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Perpustakaan Nasional RI
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Mediaka. Hlm.80-81.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materi Medika Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: DepKes RI. Hlm.11
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: DepKes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: DepKes RI. Hlm 4-11, 25-26.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jakarta: DepKes RI. Jilid I, 111-112.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1999. *Good Laboratory Pratices*. Jakarta: DepKes RI.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2007. *Materi Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: DepKes RI. Hlm X.
- Devi FA. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) Dan Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale L.) Terhadap Escherichia Coli ATCC 25922* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Djamaluddin, Muhiir, *et al.* 2005. Analisis zat gizi dan biaya sisa makanan pada pasien dengan makanan biasa. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*. Vol 1. 108-112.
- Ditjen POM, Depkes RI, 2000, *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 9-11-16.
- Ganiswara SE., 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Bagian Farmakologi. Universitas Indonesia

- Gillespie SH, Bamford KB. 2008. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Edisi Ketiga. Astikawati R., Safitri A. Editor. Jakarta: Erlangga
- Gunawan D dan Mulyani S, 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm. 664-714.
- Hapsoh dan Hasanah, Y., 2011. *Budidaya Tanaman Obat dan Rempah*. USU Press. Medan.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S. Penerjemah: Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemah dari: *Phytochemical Methods*.
- Harmita. 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Herbie T. (2015). *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: Octopus Publishing House
- Ismail, M., et al (2012). *Antibacterial Actyvity of Leaves Extract of Guava (Psidium guajava L.)*. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 3:1 2.
- Jawetz E. Melbick JL. Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi ke-16. Gerard Bonang, penerjemah; Jakarta: EGC. Hlm 239,241-243. Terjemahan dari: *Review of Medical Mikrobiology*
- Jawetz, Z., Melnick & Adelberg, E.A. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika.
- Katno, Pramono S. 2008. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Katzung, BG. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi XIII. Buku 3. *Translation of Basic and Clinical Pharmacology Eight Edition* Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Kementrian RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Kementrian Kesehatan RI.
- Kementrian RI. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Kementrian Kesehatan RI. Hlm. 106-107
- Kirana Raharja. 2003. *Obat-obat penting dan Efek Samping*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Kurniawan, Betta, Wayan Ferly Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *J Majority*; 4(4).
- Kusumaningsih A. 2010. *Beberapa Bakteri Patogenik Penyebab Foodborne Disease Pada Bahan Pangan Asal Ternak*. *Wartazoa* 20:103-111
- Magdarina. 2010. *Morbiditas dan Mortalitas Diare pada Balita di Indonesia Tahun 2000-2007*
- Maksum R. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: penerbit buku kedokteran EGC. Hlm: 125-129
- Marek R. Lenka G. Jiri D. 2007. *Quaternary Protoberberine Alkaloids Phytochemistry* 68: 150-175.
- Maryati, Ratna SF, Triastuti R. 2007. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 8(7):13-14.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Melliawati R. 2009. *Escherichia coli dalam kehidupan manusia*. *Biotrends/Vol.4/No.1/Th.2009*
- Muttaqin, Arif & Sari, Kumala. 2011. *Gangguan Gastrointestinal: Aplikasi Asuhan Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: Salemba Medika
- Naim R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Fkh dan Sekolah Pascasarjana. IPB.
- Nuria MC, Faizatun, Sumantri. 2009. uji antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella thypi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 5:26-27.
- Obtrando. 2010. "Anacardium occidentale, L\_Jambu Mete". Dari buku ppot2. <http://obtrando.files.wordpress.com/2010/09/anacardium-occidentale-dari-bukuppot2.pdf>
- Omojasola, P. F dan S. Awe. 2004. "The Antibacterial Activity of The Leaf Extract of *Anacardium occidentale* and *Gyssypium hirsutum* Against Some Selected Microorganisme", *Bioscience Research Communication*, Vol. 16, No.1: 25-28.


- Paramitha GW, Mutiara Soprima, Budi Hariyanto 2010. Perilaku Ibu Pengguna Botol Susu Dengan Kejadian Diare Pada Balita. *Meteri Kesehatan* 14:46-50.
- Permatasari D, Pitopang R, Anam S, Ivan. 2015. *Uji daya hambat ekstrak batang tumbuhan Harrisonia Perforata Merr. Terhadap pertumbuhan bakteri Shigella Dysentriae*. Biocelebes 9:1-7.
- Pramono Gatot. 2007. *Aplikasi Component Display Theory dalam Multimedia dan Web Pemberlajaran*. Departemen Pendidikan Nasional Pusat Teknologi Informasi dan Komunikasi Pendidikan.
- Prastowo EA. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Pratiwi, Syvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. Hlm. 188.
- Prihatman, K., 2000, Jambu Mete, *Tentang Budidaya Pertanian*, Sistem Informasi Managemen Pembangunan di Perdesaan, BAPPENAS.
- Priyanto, A., dan Lestari, S., 2009. *Endoskopi Gastrointestinal*, 86, Salemba Medika, Jakarta.
- Priya P. 2014. Antioxidant and antibacterial properties of manilkara zapota (L.) royen flower. *International journal of pharmaceutical and clinical research* 2014.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Padwamita penerjemah. Bandung: penerbit ITB. Hlm 191-218. Terjemahan dari *Organic Ingredients Plant High Level*.
- Rostinawati T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa L.) terhadap Escherichia coli, Salmonella thypi, dan Staphylococcus aureus dengan metode difusi agar [penelitian mandiri]. Jatinagor: Fakultas Farmasi Universitas Pajajaran.
- Sarson MRR, Jane Wuisan, Henoch Awaloei.2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Echerichia coli*. *Journal e-Biomedik* 2:1-3.



- Songer. Post KW. 2005. *Veterinary Microbiology Bacterial & Fungal Agent of Animal Disease*. New York
- Sukandar Elin Y., dkk,. 2013. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta: ISFI penerbitan. Hlm. 741-743.
- Sulistiyawati, Dewi dan Sri Mulyati. 2009. “Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap *Candida albicans*”, Biomedika, Vol. 2, No.1:47-50.
- Suraatmaja, Sudaryat. 2007. *Kapita Selekta Gastroenterologi*. Sagung Seto, Jakarta.
- Supriadi *et al.* 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Suriawiria U. 1986. Pengantar Biologi Umum. Bandung: Angkasa. Hlm 65.
- Syamsuni HA. 2007. *Ilmu Resep*. Elviana E, Syarief RW, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Tjay dan Raharja. 2002. *Obat-obat Penting* . Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Volk WA dan Wheeler MF. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga. Hal 331-335.
- WHO. 2005. *The Treatment of Diarrhoea: a Manual for Physicians and Other Senior Health Workers, 4<sup>th</sup> rev.*, World Health Organization, Geneva.
- Widiaty, W, 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Untuk Mencegah Serangan Jamur *Saprolegnia sp* Pada Telur Ikan Patin [skripsi]. Jatinagor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjajaran.

$\mathcal{L}$  $\mathcal{A}$  $\mathcal{M}$  $\mathcal{P}$  $I$  $\mathcal{R}$  $\mathcal{A}$  $\mathcal{N}$

## Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan



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

---

Nomor : 69/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Cindy Phalosa  
NIM : 20144185A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

**HASIL DETERMINASI TUMBUHAN**


Nama Sampel : *Psidium guajava* L.  
Familia : Myrtaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34b-333b-334b-335a-336b-345b-346b-348b-349a-350b-351a-352a **84. Myrtaceae**  
1a-2b-3a-4a **2. Psidium**  
1a-2a ***Psidium guajava* L.**

**Deskripsi Tumbuhan :**  
Habitat: perdu atau pohon, menahun, tegak, tinggi 3-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor hingga kuning kotor. Batang : bulat, berkayu keras dan padat, bercabang banyak, arah tumbuh cabang condong ke atas, coklat muda atau coklat keabu-abuan, kulit batang mengelupas. Daun : tunggal, berhadapan, bulat panjang atau bulat oval atau jorong, panjang 5-15 cm, lebar 3-6 cm, ujung tumpul atau runcing, pangkal membulat, tepi rata, daging daun seperti perkamen, mengkilat atau kusam, agak berambut ketika muda dan gundul ketika dewasa, hijau tua pada permukaan atas dan hijau muda pada permukaan bawah, pertulangan menyirip; tangkai daun silindris, tidak menebal pada bagian pangkalnya, panjang 3-7 mm. Bunga: majemuk, 1-3 bunga, di ketiak daun; kelopak berbagi 2-5 cuping, panjang cuping kelopak 7-10 mm, tepi kelopak sebelum mekar berlekatan menjadi bentuk cawan, hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 1.5-2 cm, putih; benangsari berjumlah banyak, berwarna putih; bakal buah tenggelam, 4-5 ruangan; bakal biji banyak. Buah : buni, bulat atau bulat lonjong atau seperti buah pir, panjang 5-8.5 cm, daging buah putih atau merah, masih muda kulitnya berwarna hijau setelah tua berwarna kuning muda mengkilap. Biji : banyak, berbelah dua, keras, putih.


Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi



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

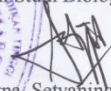
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan




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

Mengetahui

Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

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

Nama Pemesan : Cindy Phalosa  
NIM : 20144185A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

**HASIL DETERMINASI TUMBUHAN**

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

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1968) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-  
802a803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822b-824b-  
825b-826b-829b-830b-831b-832b-833b-834a-835a-836a-837c-851a-852b-853b-854a-855c-856b-857a-  
858a-859c-860b-872b-874b-875b-876b-877c-916b-920b-921b-922b-923b-924a 218. Amaryllidaceae  
1a-2b-3a-4a 1. Allium  
1a-2a-3b Allium sativum L.

**Deskripsi Tumbuhan :**

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

Surakarta, 26 Maret 2018

Kepala Lab/Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.



**Lampiran 2. Foto daun jambu biji dan umbi bawang putih**



**Foto daun jambu biji**



**Foto umbi bawang putih**

**Lampiran 3. Foto serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih**



**Foto serbuk daun jambu biji**



**Foto serbuk umbi bawang putih**

**Lampiran 4. Ekstrak kental daun jambu biji dan umbi bawang putih**



**Ekstrak kental daun jambu biji**



**Ekstrak kental umbi bawang putih**

**Lampiran 5. Foto hasil uji kandungan senyawa daun jambu biji dan umbi bawang putih dengan metode kimia**



**Flavonoid**

(warna merah pada lapisan alkohol)



**Flavonoid**

(warna merah pada lapisan alkohol)



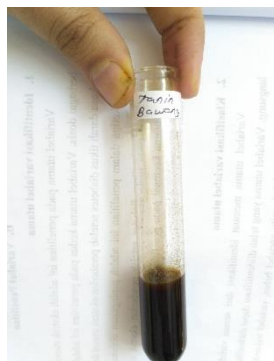
**Alkaloid**

(HCl + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorff endapan merah sampai jingga)



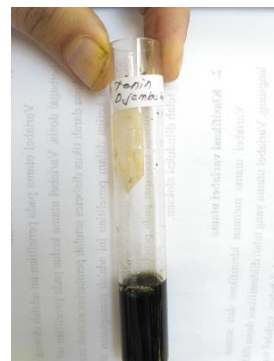
**Alkaloid**

(HCl + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorff endapan merah sampai jingga)



**Tannin**

(Biru kehitaman)



**Tannin**

(Cokelat kehijauan)





Saponin  
(Terbentuk buih tetap)



Saponin  
(Terbentuk buih tetap)

**Lampiran 6. Foto alat evaporator, moisture balance, dan oven.**



**A. Moisture balance**



**C. Oven**



**B. Evaporator**

**Lampiran 7. Foto autoclav, inkas, penggiling simplisia dan inkubator**



**A. Autoclave**



**C. Inkas**

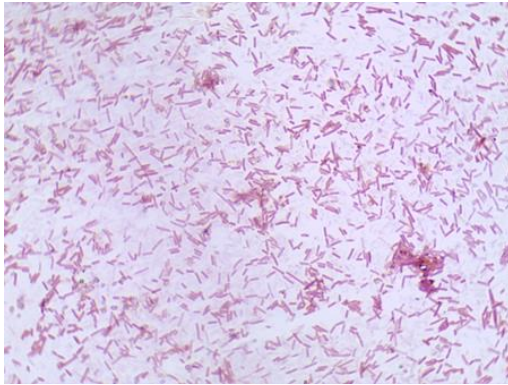


**B. Inkubator**



**D. Alat penggiling simplisia**

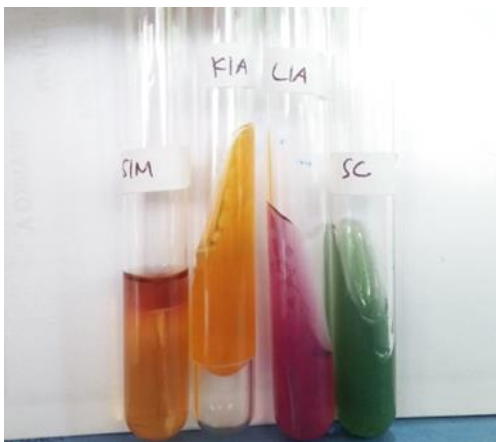
**Lampiran 8. Foto hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia**



**Identifikasi Mikroskopis**

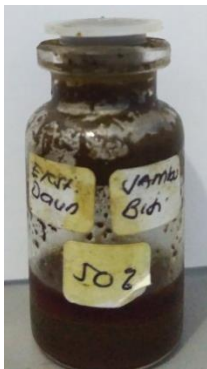


**Identifikasi Makroskopis**



**Identifikasi Biokimia**

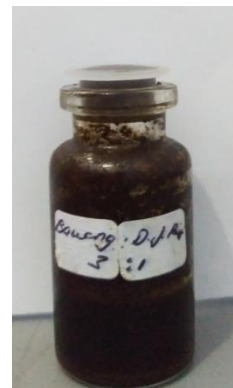
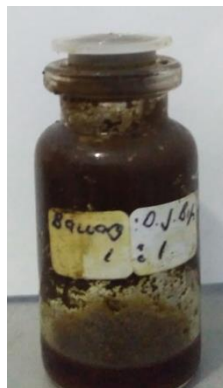
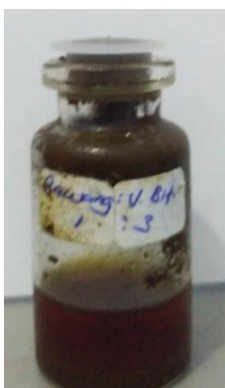
**Lampiran 9. Foto larutan stok untuk uji difusi**



**Foto lar. stok ekstrak ekstrak jambu biji**



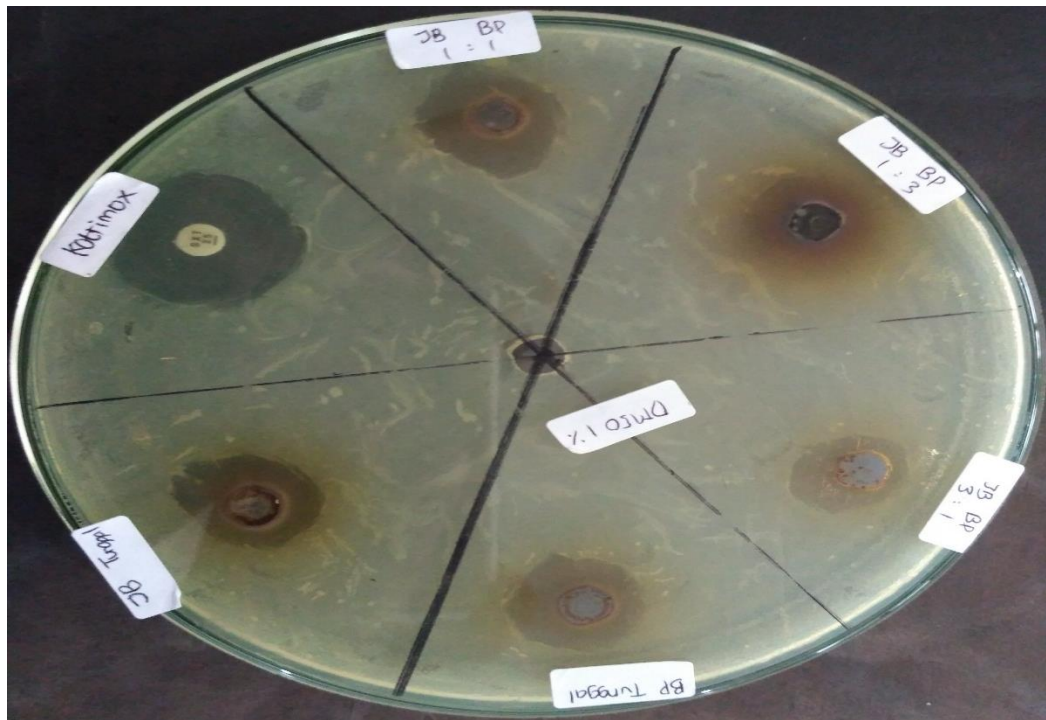
**Foto lar. stok umbi bawang putih**



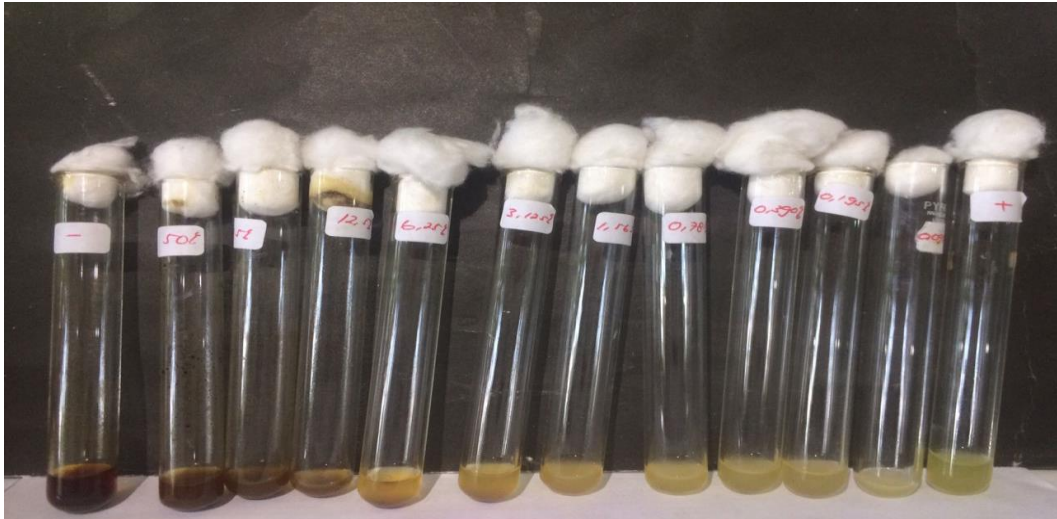
**Foto larutan stok kombinasi ekstrak daun jambu biji dan umbi bawang putih**



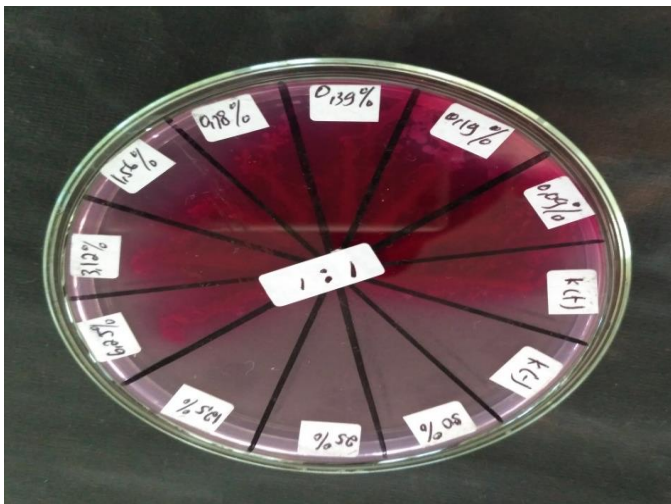
**Lampiran 10. Foto hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi**



**Lampiran 11. Foto hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi 1:1 dilusi dengan perbandingan 1:1**

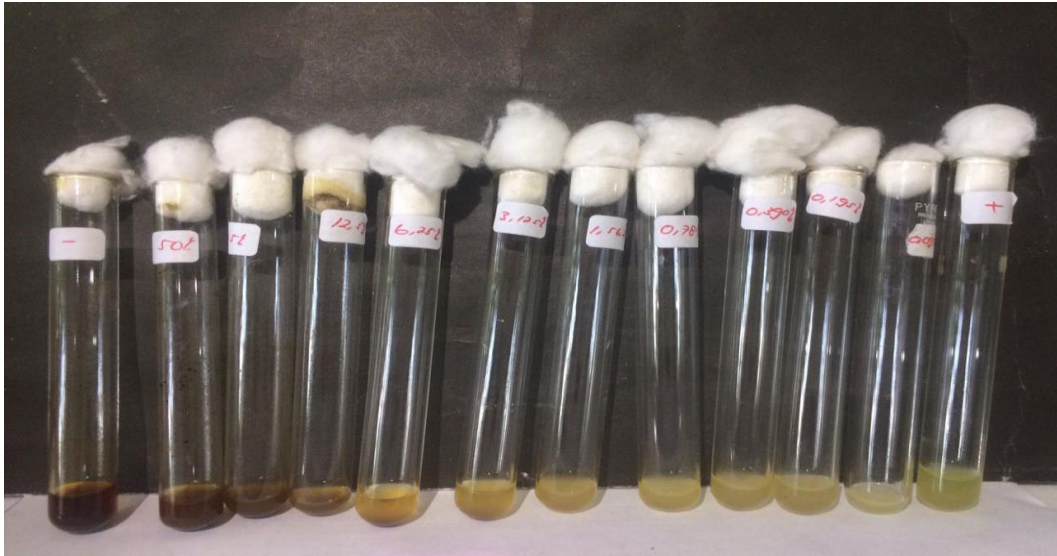


**Foto aktivitas antibakteri ekstrak kombinasi dengan perbandingan 1:1**

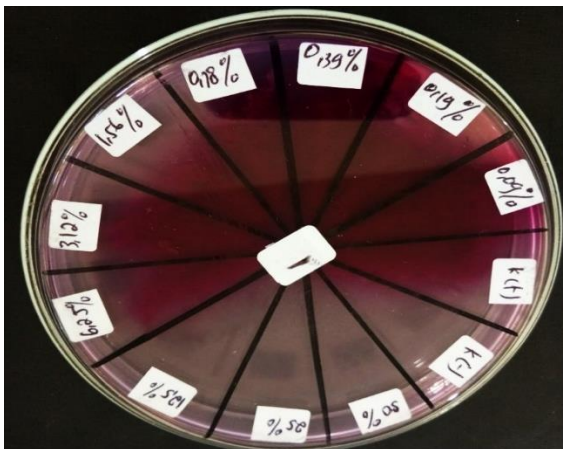


**Hasil inokulasi dilusi ekstrak kombinasi dengan perbandingan 1:1**

**Lampiran 12. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal daun jambu biji secara dilusi**



**Foto aktivitas antibakteri ekstrak tunggal daun jambu biji**



**Foto inokulasi ekstrak tunggal daun jambu biji**



**Lampiran 13. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak tunggal umbi bawang putih secara dilusi**



**Foto hasil aktivitas antibakteri ekstrak tunggal dumber bawang putih**



**Foto inokulasi ekstrak tunggal umbi bawang putih**

**Lampiran 14. Perhitungan presentase bobot basah terhadap bobot kering serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih**

Bobot basah (gram)		Bobot kering (gram)		Rendemen b/b %	
Daun JB	Umbi BP	Daun JB	Umbi BP	Daun JB	Umbi BP
8000,00	2000,00	2150,00	350,00	26,87	17,50

Perhitungan bobot basah terhadap bobot kering sebagai berikut:

Rendemen b/b% = bobot kering / bobot basah X 100%

Rendemen daun jambu biji b/b % =  $2150,00 / 8000,00 \times 100\% = 26,87\%$

Rendemen umbi bawang p b/b % =  $350,00 / 2000,00 \times 100\% = 17,50\%$

**Lampiran 15. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji dan umbi bawang putih**

**Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu biji**

	<b>Bobot awal (gram)</b>	<b>Bobot akhir (gram)</b>	<b>Susut kering( %)</b>
<b>Serbuk daun jambu bii</b>	2,00	1,83	8,50
	2,00	1,83	8,40
	2,00	1,83	8,40
<b>Rata-rata ± SD</b>			8,43% ± 0,05

**Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bawang putih**

	<b>Bobot awal (gram)</b>	<b>Bobot akhir (gram)</b>	<b>Susut kering( %)</b>
<b>Serbuk umbi bawang putih</b>	2,00	1,83	8,45
	2,00	1,83	8,50
	2,00	1,83	8,40
<b>Rata-rata ± SD</b>			8,45% ± 0,05

**Lampiran 16. Perhitungan kadar rendemen ekstrak etanol daun jambu biji dan umbi bawang putih**

	<b>Berat serbuk (gram)</b>	<b>Berat wadah kosong(gram)</b>	<b>Berat wadah &amp; ekstrak(gram)</b>	<b>Berat ekstrak (gram)</b>	<b>Rendemen (b/b)</b>
<b>Daun Jb</b>	500,00	148,05	256,17	108,12	21,62
<b>Bawang P</b>	350,00	141,71	196,87	55,16	15,76

a. % rendemen daun jambu biji =  $108,12 / 500,00 = 21,62\%$

b. % rendemen umbi bawang putih =  $55,16 / 350,00 = 15,76\%$

**Lampiran 17. Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi konsentrasi 50%**

1. Pembuatan konsentrasi 50%  
 $50\% = 50 \text{ gr} / 100 \text{ ml}$   
 $= 0,5 \text{ gr} / \text{ml}$
2. Konsentrasi 25% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5\% \cdot 50\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 25\%$
3. Konsentrasi 12,5% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 25\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 12,5\%$
4. Konsentrasi 6,25% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 12,5\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 6,25\%$
5. Konsentrasi 3,12% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 6,25\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 3,12\%$
6. Konsentrasi 1,56% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 3,12\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 1,56\%$
7. Konsentrasi 0,78% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 1,56\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 0,78\%$
8. Konsentrasi 0,39% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 0,78\% = 1 \cdot C_2$   
 $C_2 = 0,39\%$
9. Konsentrasi 0,19% =  $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$   
 $0,5 \cdot 0,39\% = C_2$   
 $C_2 = 0,19\%$

$$10. \text{ Konsentrasi } 0,09\% = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,5 \cdot 0,19\% = C2$$

$$C2 = 0,09\%$$

## Lampiran 18. Formulasi dan pembuatan media

### A. Formulasi pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain Infusion	12,5 gram
Heart Infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
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 dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998)

### B. Formulasi pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef Extract	2 gram
Acid Hydrolysate of Casein	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar	17 gram
Aquadest	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 dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998)

### C. Formulasi pembuatan *Endo Agar* (EA)

Peptone	10 gram
Lactose	10 gram
Di-potassium phosphate	3,5 gram
Sodium sulphite	2,5 gram
Agar	10 gram
Aquadest	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 dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998)

### Lampiran 19. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal-Wallis Test

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kombinasi
N		18
Normal Parameters <sup>a, b</sup>	Mean	3.5000
	Std. Deviation	1.75734
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.580
Asymp. Sig. (2-tailed)		.890

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### Test of Homogeneity of Variances

Luas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.287	5	12	.018

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
luas	18	20.6989	5.89409	8.78	30.00
kombinasi	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00



## Kruskal-Wallis Test

Ranks

	kombin asi	N	Mean Rank
luas	1.00	3	8.33
	2.00	3	2.00
	3.00	3	14.00
	4.00	3	9.33
	5.00	3	6.33
	6.00	3	17.00
	Total	18	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Luas
Chi-Square	15.238
df	5
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
kombinasi

Luas

	kombin asi	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls <sup>a</sup>	2.00	3	9.9600			
	5.00	3		20.3800		
	1.00	3		20.8000		
	4.00	3		20.9133		
	3.00	3			22.8733	
	6.00	3				29.2667
	Sig.		1.000	.754	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

