

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL  
ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN  
ALPUKAT (*Persea americana* Mill) TERHADAP  
*Proteus mirabilis* ATCC 10975**



**Oleh:**

**Andreas Hiba Mayorga  
20144318 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL  
ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN  
ALPUKAT (*Persea americana* Mill) TERHADAP  
*Proteus mirabilis* ATCC 10975**

**SKRIPSI**

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



**Oleh:**

**Andreas Hiba Mayorga  
20144318 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill) TERHADAP *Proteus mirabilis* ATCC 10975

Oleh :

**Andreas Hiba Mayorga**  
**20144318 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 5 Juli 2018

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan,



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

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si

Penguji :

- 1 Drs. Edy Prasetya, M.Si.
- 2 Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
- 3 Dra Nony Puspawati, M.Si
- 4 Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

1.

2.

3.

4.

## HALAMAN PERSEMBAHAN

**“Serahkan segala kekuatiranmu kepada-Nya, sebab ia yang memelihara kamu”**

**1 Petrus 5:7**

**“Allah, Dialah yang mengikat pinggangku dengan keperkasaan dan membuat jalanku rata”**

**Mazmur 18:32**

**“Be strong and courageous. Do not fear or be in dread of them, it is the LORD your God who goes with you. He will not leave you or forsake you.**

**Ulangan 31:6**

*Skripsi ini kupersembahkan kepada:*

*Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria  
Bapa, Mama, adik tercinta yang telah  
mendukung dan mendoakanku.*

*Anak-anak Kost Texas, Ka Lia Aven, mba  
Gonxha, Pacar yang selalu memberikan  
dukungan dan motivasi.*

*Saudara dan saudari dari Ikatan Keluarga  
Sumba Surakarta yang sudah memberi  
semngat.*

*Teman - teman rakat dan teman-teman  
seperjuangan Fakultas Farmasi Universitas  
Setia Budhi Surakarta.*

*Almamater, Bangsa dan Negara.*

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, Mei 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "S, WI".

Andreas Hiba Mayorga

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan YME di sorga, karena atas berkat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill) TERHADAP *Proteus mirabilis* ATCC 10975**”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat sarjana farmasi dalam program farmasi dari Fakultas Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan berbagai pihak. Oleh sebab itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Vivin Nopiyanti S.Fam. M.Sc. Apt. selaku Dosen pembimbing utama dan Desi Purwaningsih, S.Pd.,M.Si, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, nasehat, ilmu dan motivasi selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
4. Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Segenap Dosen, Karyawan, dan Staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesaiannya skripsi ini.
6. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang dan membantu kelancaran dan selesaiannya skripsi ini.
7. Keluarga yang selalu memberikan doa, dukungan, dan semangat.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan oleh karena itu, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan oleh penulis. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, Mei 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "S. Hiba" or "S. Hiba Mayorga".

Andreas Hiba Mayorga

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Daun Alpukat .....	4
1. Klafifikasi tumbuhan .....	4
2. Morfologi tumbuhan.....	4
3. Khasiat tanaman .....	5
4. Kandungan kimia .....	5
4.1 Alkaloid .....	5
4.2 Saponin.....	5
4.3 Flavanoid. ....	6
B. Simplisia.....	6
1. Pengertian simplisia .....	6
2. Pengumpulan simplisia.....	6
3. Pemilihan simplisia .....	6
4. Pengeringan Simplisia.....	7
C. Penyarian.....	7
1. Ekstraksi .....	7
2. Maserasi.....	8
3. Fraksinasi.....	8
4. Pelarut.....	9
4.1 Etanol.....	9
4.2 Etil asetat.....	9
4.3 Air .....	9
4.4 n-heksana. ....	9

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	10
E. Infeksi Saluran Kemih.....	10
1. Definisi .....	10
2. Epidemiologi .....	11
3. Etiologi .....	11
F. <i>Proteus mirabilis</i> .....	12
1. Sistematika .....	12
2. Morfologi.....	12
3. Patogenesis .....	12
G. Antibakteri .....	13
1. Mekanisme antibakteri dapat dikelompokan dalam 4 kelompok utama. ....	13
1.1 Menghambat sintesis dinding sel mikroba.....	13
1.2 Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba. ....	13
1.3 Menghambat metabolisme sel mikroba. ....	13
1.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba.....	13
H. Uji Aktivitas Antibakteri.....	13
1. Metode difusi.....	14
2. Metode dilusi .....	14
3. Media.....	14
I. Antibiotik .....	15
1. Amoksisilin .....	15
J. Landasan Teori.....	15
K. Hipoteis .....	17
 BAB III METODE PENELITIAN.....	18
A. Populasi dan Sampel .....	18
B. Variabel Penelitian .....	18
1. Identifikasi variabel utama .....	18
2. Klasifikasi variabel utama .....	18
3. Defenisi operasional variabel utama .....	19
C. Bahan dan Alat.....	20
1. Bahan.....	20
1.1 Bahan sampel.....	20
1.2 Bakteri uji.....	20
1.3 Medium uji.....	20
1.4 Bahan kimia.....	20
2. Alat .....	20
D. Jalannya Penelitian.....	21
1. Identikaasi daun alpukat .....	21
2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun alpukat .....	21
3. Penetapan kadar lembab.....	21
4. Pembuatan ekstrak daun alpukat secara maserasi .....	21
5. Uji bebas etanol daun alpukat .....	22
6. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun alpukat .....	22
6.1 Identifikasi flavonoid.....	22

6.2 Identifikasi alkaloid .....	23
6.3 Identifikasi saponin.....	23
7. Fraksinasi.....	23
8. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	24
9. Pengujian identifikasi antibakteri .....	24
9.1 Metode goresan.....	24
10.1 Media SIM.....	25
10.2 Media KIA.....	25
10.3 Media LIA.....	25
10.4 Media Citrat.....	25
11. Pengujian antibakteri secara difusi .....	25
12. Pengujian antibakteri secara dilusi .....	26
13. Kromatografi Lapis Tipis .....	28
13.1 Identifikasi flavonoid .....	29
13.2 Identifikasi alkaloid .....	29
13.3 Identifikasi saponin.....	29
E. Jadwal Penelitian.....	30
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
<b>A. Hasil Penelitian .....</b>	<b>31</b>
1. Hasil identifikasi tanaman alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill).....	31
1.1 Determinasi tanaman.....	31
1.2 Deskripsi tanaman .....	31
2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun alpukat.....	32
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun alpukat .....	32
4. Hasil pembuatan ekstrak daun alpukat .....	32
5. Hasil uji bebas etanol daun alpukat .....	33
6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat.....	33
7. Hasil fraksinasi ekstrak daun alpukat .....	35
7.1 Fraksi <i>n</i> -heksan.....	36
7.2 Fraksi etil asetat.....	36
7.3 Fraksi air.....	37
8. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	37
9. Hasil identifikasi bakteri uji .....	37
9.1 Identifikasi bakteri secara goresan. ....	37
9.2 Identifikasi bakteri uji secara biokimia. ....	38
10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun alpukat.....	40
10.1 Hasil pengujian antibakteri secara difusi.....	41
10.2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi. ....	42
11. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	43
11.1. Hasil identifikasi flavonoid.....	43
11.2. Hasil identifikasi alkaloid. ....	44

BAB V PENUTUP.....	46
A. Kesimpulan .....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN.....	50

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun alpukat .....	22
Gambar 2. Skema diagram kerja pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun alpukat .....	24
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dengan metode difusi.....	27
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun alpukat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975. ....	28
Gambar 5. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl (Septyangsih 2010).....	34
Gambar 6. Reaksi uji mayer (Marliana dkk, 2005) .....	35
Gambar 7. Reaksi Uji Dragendorff.....	35
Gambar 8. Reaksi Hidrolisis Saponin dalam Air.....	35
Gambar 9. Hasil identifikasi bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 secara inokulasi.....	38
Gambar 10. Hasil identifikasi bakteri uji <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 .....	39
Gambar 11. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat daun alpukat pada fase diam silika gelGF <sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol (2:3) ...	44
Gambar 12. Hasil identifikasi alkaloid fraksi etil asetat daun alpukat pada fase diam silika gelGF <sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol (2:3)...	45
Gambar 13. Tanaman alpukat.....	51
Gambar 14. Daun alpukat .....	51
Gambar 15. Ekstrak kental daun alpukat .....	52
Gambar 16. Fraksinasi ekstrak daun alpukat .....	53
Gambar 17. Alat <i>moisture balance</i> .....	52
Gambar 18. Oven binder.....	53
Gambar 19. <i>Rotary evaporator</i> .....	53

Gambar 20. Autovortex .....	53
Gambar 21. Bebas etanol .....	54
Gambar 22. Flavonoid .....	54
Gambar 23. Alkaloid (reagen mayer) .....	54
Gambar 24. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 1) .....	55
Gambar 25. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 2) .....	55
Gambar 26. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 3) .....	56
Gambar 27. Pengenceran tabung fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975.....	57
Gambar 28. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 1) .....	57
Gambar 29. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 1) .....	58
Gambar 30. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 2) .....	58
Gambar 31. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 2) .....	59
Gambar 32. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 3) .....	59
Gambar 33. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (replikasi 3) .....	60

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun alpukat .....	32
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun alpukat .....	32
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun alpukat.....	33
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun alpukat .....	33
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat .....	33
Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi <i>n</i> -heksan .....	36
Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat daun alpukat.....	36
Tabel 8. Rendemen hasil fraksi air dari daun alpukat.....	37
Tabel 9. Identifikasi uji biokimia <i>Proteus mirabilis</i> .....	38
Tabel 10. Diameter zona hambat ujia aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun alpukat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 .....	41
Tabel 11. Homogeneous Subsets .....	41
Tabel 12. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun alpukat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi daun alpukat.....	50
Lampiran 2. Foto Tanaman Alpukat( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	50
Lampiran 3. Foto ekstrak, dan fraksi daun alpukat.....	52
Lampiran 4. Alat penelitian .....	53
Lampiran 5. Foto uji bebas etanol, dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat .....	54
Lampiran 6. Hasil uji antibakteri ekstrak, dan fraksi daun alpukat terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 secara difusi .....	55
Lampiran 7. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun alpukat terhadap <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 secara dilusi.....	57
Lampiran 8. Hasil uji KLT fraksi teraktif etil asetat dan perhitungan Rf .....	61
Lampiran 9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.....	63
Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.).....	63
Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksi <i>n</i> -heksan dari daun alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	63
Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.) .....	65
Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi air dari daun alpukat ( <i>Persea americana</i> Mill.).....	66
Lampiran 14. Pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi.....	68
Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media.....	69

## INTISARI

**ANDREAS HIBA M., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill) TERHADAP BAKTERI *Proteus mirabilis* ATCC 10975, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang dapat mengatasi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Bagian dari tanaman alpukat yang bisa digunakan sebagai obat adalah biji alpukat, daging alpukat, dan daun alpukat. Daun alpukat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanolik daun alpukat terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

Serbuk daun alpukat diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Pengujian terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 menggunakan metode difusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi teraktif kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi teraktif. Konsentrasi yang digunakan pada metode difusi adalah 41,67% dan pada metode dilusi menggunakan konsentrasi 20,83%; 10,41%; 5,20%; 2,6%; 1,3%; 0,65%; 0,32%; 0,16%; 0,08%; 0,04%.

Hasil penelitian menyatakan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol daun alpukat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 pada konsentrasi 41,67%. Rata-rata diameter hambat fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air adalah 19,11 mm; 27,11 mm; dan 20,28 mm. Fraksi yang paling aktif terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 adalah fraksi etil asetat dengan Konsentrasi Bunuh Minumum adalah 12,5%.

Kata kunci: daun alpukat, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air, antibakteri, *proteus mirabilis*.

## ABSTRACT

**ANDREAS HIBA M., 2018, ANTIBACTERIAL ACTIVITY ETHANOLIC EXTRACT,FRACTIONS TEST OF n-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FROM ALPUKAT LEAVES (*Persea americana Mill*) AGAINST *Proteus mirabilis* ATCC 10975, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Avocado plants are one of the plants that can overcome the infection caused by bacteria. Part of the avocado plants that can be used as medicines are avocado seeds, avocado meat, and avocado leaves. Avocado leaves contain alkaloids, flavonoids, and saponins. This study aims to test the antibacterial activity of *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of ethanolic extract of avocado leaf (*Persea americana Mill*) against *Proteus mirabilis* ATCC 10975 bacterium.

Avocado leaf powder was extracted by maseration method using 70% ethanol solvent. The extracts obtained were fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate and water solvents. Testing of *Proteus mirabilis* ATCC 10975 bacteria using diffusion method to find out the most active fraction then continued with dilution method to know Minimum Fill Concentration active fraction. The concentration used in the diffusion method was 41,67% and in the dilution method was used 20, 83% concentration 10,41%; 5,20%; 2,6%; 1,3%; 0,65%; 0,32%; 0,16%; 0,08%; 0,04%.

The results showed that the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, and water fraction of ethanol extract of avocado leaves had antibacterial activity against *Proteus mirabilis* ATCC 10975 at concentration 41,67%. Mean inhibitory diameter of *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction was 19,11 mm; 27,11 mm; and 20,80 mm. The most active fraction of *Proteus mirabilis* ATCC 10975 is an ethyl acetate fraction with a Minimum Kill Concentration of 12,5%.

**Keywords :** Alpukat leaves, *n*-heksan fraction, ethyl acetat fraction, and water fraction, antibacterial, *Proteus mirabilis*.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Pengobatan tradisional dengan menggunakan berbagai macam tumbuhan yang memiliki khasiat, obat merupakan pengobatan yang diakui masyarakat dunia. Kesadaran untuk kembali ke alam adalah untuk mencapai kesehatan yang optimal, dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma 2000).

Penggunaan obat tradisional merupakan suatu keyataan untuk mencapai kesembuhan atau pemeliharaan, dan peningkatan taraf kesehatan yang sudah diwariskan secara turun temurun, dan tidak bisa lagi dipisahkan dari kehidupan masyarakat tanpa dibuktikan secara ilmiah. Supaya peranan obat tradisional khususnya tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat dalam pelayanan kesehatan dapat lebih ditingkatkan, perlu didorong upaya pengenalan, penelitian pengujian, dan pengembangan khasiat serta keamanan suatu tanaman obat salah satu contohnya tanaman alpukat (*Persea americana* Mill)(Depkes 2000).

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah infeksi yang ditandai dengan pertumbuhan, dan perkembang biakan bakteri dalam saluran kemih, meliputi infeksi di parenkim ginjal sampai kandung kemih dengan jumlah bakteriuria yang bermakna. Bakteri yang dapat menyebabkan ISK (infeksi saluran kemih) adalah bakteri *Proteus mirabilis* (4,7%). *Proteus mirabilis* merupakan salah satu penyebab infeksi saluran kemih, bakteri ini sulit diobati, dan dapat berakibat fatal apabila tidak ditangani sehingga menyebabkan komplikasi antara lain pembentukan batu ginjal, vesika urinaria, bakterimia, dan sepsis (Mufida *et al* 2010). *Proteus mirabilis* sering ditemukan di tanah, dan di air serta merupakan flora normal pada saluran pencernaan manusia, dan mamalia (Mufida *et al* 2010). Perempuan muda lebih beresiko terkena dari pada laki-laki muda, akan tetapi pria dewasa lebih beresiko terkena dari pada wanita dewasa karena berhubungan dengan penyakit prostat (Kurniawan 2011).

Penyakit ISK merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia yang perlu mendapatkan perhatian yang cukup serius. Diperkirakan 8% anak wanita, dan 2% anak laki-laki pernah mengalami ISK pada masa kanak-kanaknya. Insidens ISK belum diketahui dengan pasti. Pada kasus ISK di negara Swedia melaporkan pada tahun 1999 didapatkan 2,2% pada anak laki-laki, dan 2,1% pada anak wanita pada usia 2 tahun, dan pada usia 6 tahun menjadi 2,5% pada anak laki-laki, dan 8,0% pada anak wanita. Sedangkan di Inggris utara insidens ISK pada anak usia 16 tahun adalah 3,6% pada anak laki-laki, dan 11,3% pada anak wanita.

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan kimia yaitu saponin, alkaloid, dan flavonoid. Lam dan Cushnie (2005) menyatakan jika senyawa flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antifungi, antiviral, dan antibakteri (Christianto *et. al* 2012). Bagian daun memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies bakteri antaranya *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Bacillus sp*, dan *Escherichia sp*. Bagian organ tanaman alpukat yang banyak dimanfaatkan adalah daunnya. Penelitian ini mengungkapkan bahwa daun alpukat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Ismiyati (2004).

Daun alpukat merupakan salah satu obat alternatif dari alam untuk menghambat bakteri *Proteus mirabilis*. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

## B. Perumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun alpukat (*Persea americana* Mill) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 ?
2. Manakah dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 ?

3. Berapa konsentrasi hambat minimum(KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) hasil fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975.
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling aktif dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975.
3. Untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) hasil fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan informasi bagi pembaca, dan masyarakat serta dapat menambah ilmu pengetahuan di bidang obat tradisional untuk digunakan dalam upaya pemanfaatan daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai obat tradisional terutama sebagai obat antibakteri. Bagi peneliti diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat ekstrak, dan fraksi daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai antibakteri terhadap *Proteus mirabilis*, dan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lanjutan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Daun Alpukat**

##### **1. Klasifikasi tumbuhan**

Sistematika tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophya
Subdivisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledonae
Ordo	:	Laurales
Famili	:	Lauraceae
Genus	:	persea
Species	:	<i>Persea americana</i> Mill (Andi 2013)

##### **2. Morfologi tumbuhan**

Tanaman alpukat berbentuk pohon berkayu yang tumbuh menahun. Ketinggian pohon antara 3 meter – 10 meter, berakar tunggang, berakar bulat, berwarna coklat kotor, bercabang banyak, dan ranting berambut halus. Daun tunggal, tebal seperti kulit, bertangkai dengan panjang 1,5 -5 cm, dan letak berdesakan diujung ranting. Helaian daun berbentuk jorong sampai bulat telur memanjang, ujung daun, dan pangkal runcing, tepi rata kadang-kadang agak menggulung keatas, bertulang menyirip, panjang 10 -20 cm, lebar 3 -10 cm, daun muda berwarna kemerahan, berambut rapat, serta daun tua berwarna hijau, dan gundul.

Perbungaan menjemuk, berkelamin dua, tersusun dari malai yang keluar dekat ujung ranting, berwarna kuning kehijaun. Buah berupa buni berbentuk bola atau bulat telur, dengan panjang 5 -20 cm, berwarna hijau atau berwarna hijau kekuningan, berbintik ungu, berbiji satu, daging buah lunak. Biji bulat seperti bola berdiameter 2,5 -5 cm, berwarna putih kemerahan (Dalimartha 2008).

### **3. Khasiat tanaman**

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak daun alpukat 50%, dan 100% terbukti cukup efektif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Selain sebagai antibakteri, daun alpukat bersifat sebagai antioksidan, analgetik, dan antiinflamasi (Fauzia dan Larasati 2008).

### **4. Kandungan kimia**

Kandungan kimia dari daun alpukat adalah alkaloid, flavanoid, dan saponin. Buah alpukat mengandung tanin sedangkan daunnya mempunyai aktivitas antibakteri yang terdapat di senyawa flavanoid. (Dalimartha 2008) :

**4.1 Alkaloid.**Senyawa alkaloid mempunyai mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu sel bakteri pada komponen penyusun peptidoglikan, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, dan menyebabkan kematian sel tersebut. Senyawa alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung unsur nitrogen akan beraksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri, dan DNA. Reaksi ini akan menyebabkan terjadinya perubahan struktur, dan susunan asam aminno, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada DNA sehingga akan mengalami kerusakan yang mendorong terjadinya lisis pada bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Nimah *et al* 2012).

Kelarutan alkaloid dalam bidang farmasi sangat penting terutama perbedaan kelarutan antara alkaloid bebas, dan garamnya yang terkait dengan isolasi dari bahan tumbuhan. Alkaloid bebas umumnya sedikit larut dalam air, tetapi alkaloid larut dalam pelarut organik contohnya etanol, sedangkan garamnya kebalikannya (Evans 2002).

**4.2 Saponin.**Saponin adalah glikosida triterpen, dan sterol, dan telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan (Harbonr 1987). Saponin dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik, dan digunakan dalam bidang kesehatan. Dikenal dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol, dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua saponin ini larut dalam air, dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995).

Saponin berkerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang menggangu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel, dan menyebabkan keluarnya sebagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, yaitu asam nukleat, dan nukleotida (Lenny 2006).

**4.3 Flavanoid.**Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid juga memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga pada umumnya larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, air, dan sebagainya. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Dewanti & Wahyudi 2011).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan, dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM 2014).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Proses pemanenan, dan preparasi simplisia merupakan proses yang menentukan mutu simplisia dalam berbagai artian, yaitu komposisi senyawa kandungan, kontaminasi, dan stabilitas bahan. Namun demikian simplisia sebagai produk olahan, variasi senyawa kandungan dapat diperkecil, diatur atau dikonstakan (Depkes RI 2000).

Pengumpulan bahan baku (kualitas bahan baku simplisia) sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.

### **3. Pemilihan simplisia**

Simplisia yang aman, dan berkhasiat adalah simplisia yang tidak mengandung bahaya kimia, mikrobiologis, dan bahaya fisik, serta mengandung

zat aktif yang tidak berkhasiat. Ciri simplisia yang baik adalah dalam kondisi kering (kadar air < 10%), untuk simplisia daun, bila diremas bergemerisik, dan berubah menjadi serpihan atau mudah dipatahkan, dan simplisia buah, dan rimpang (irisian) bila diremas mudah dipatahkan. Ciri lain simplisia yang baik adalah tidak berjamur, dan berbau khas menyerupai bahan segarnya (Herawati, Nuraida, Sumarto 2012).

#### **4. Pengeringan Simplisia**

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang, dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, dan memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan yaitu waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara, dan kelembaban bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004). Kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% karena dengan kadar lembab kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri, dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

### **C. Penyarian**

#### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya atau penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut air (Depkes 2000). Cairan penyari yang digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol, dan air. Penarikan zat pokok yang diinginkan larut. Metode ekstrasi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstrasi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstrasi (Tiwari *et al* 2011).

## 2. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes 2000).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman, dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

Maserasi juga dapat dilakukan dengan pengadukan secara sinambung (maserasi kinetik). Kelebihan dari metode ini yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang (Sarker, S.D., *et al* 2006).

## 3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang lain berdasarkan kepolaranya. Jumlah dan jenis senyawa yang setelah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk kedalam pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk kedalam pelarut non polar (Harborne 1987).

Fraksi bertingkat umumnya diawali pelarut kurang polar, dan dilanjutkan dengan pelarut lebih polar. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai

konstanta di elektrik pelarut. Empat tahapan fraksi bertingkat dengan menggunakan empat macam pelarut yaitu ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air.

#### 4. Pelarut

**4.1 Etanol.**Etanol merupakan pelarut yang serba guna, dapat menyatu dengan air dengan sebagian besar bahan organik yang bersifat cair, termasuk zat cair non polar seperti hidrokarbon alifatik (Anonim 2000). Ethyl alkohol atau etanol adalah salah satu turunan dari senyawa hidroksil atau gugus OH, dengan rumus kimia  $C_2H_5OH$ . Istilah umum yang sering dipakai untuk senyawa tersebut adalah alkohol. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, mudah menguap, mudah larut dalam air, berat molekul 46.1, titik didihnya  $78.3^{\circ}C$ , membeku pada suhu  $-117.3^{\circ}C$ , kerapatannya 0.789 pada suhu  $20^{\circ}C$ , nilai kalor 7077 kal/gram, panas latent penguapan 204 kal/gram, dan angka oktan 91-105 (Hambali.,*et al*2008).Etanol merupakan pelarut pengekstraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk semua senyawanya yang mempunyaiberat molekul rendah seperti alkaloid, flavanoid, dan saponin (Arifanti *et al* 2014).

**4.2 Etil asetat.**Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna bau khas seperti buah. Etil asetat larut dalam 15 bagian air, dapat tercampur dengan eter, etanol, dan klorofom. Etil asetat adalah pelarut semi polar, mudah terbakar, dan menguap, maka penyimpananya dalam wadah yang tertutup rapat serta terhindar dari panas. Etil asetat dapat digunakan sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavanoid, saponin, dan polifenol (putri *et al* 2013).

**4.3 Air.**Air dimanfaatkan sebagai penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, dan terbakar, tidak beracun serta alamiah. Air dapat melarutkan gula, garam, gom, pati, protein, enzim, lender, lilin, lemak peptida, minyak menguap, garam alkaloid, zat warna, dan asam organik. Air dapat melarutkan minyak menguap, glikosida, flavanoid tanin, gula, gom, pati protein, enzim, lilin, pektin, zat warna, dan asam organik.

**4.4 *n*-heksana.***n*-heksana termasuk golongan alkane  $C_nH_{2n+2}$ . Heksana merupakan cairan yang tidak berwarna memiliki titik didih  $60^{\circ}C$ , tidak larut

dalam air (non polar), dan memiliki rumus struktur  $C_6H_{14}$ . Pada umumnya heksana dimanfaatkan sebagai pelarut karena sifatnya yang inert, tidak bereaksi dengan komponen yang akan disintesis (Kastianti dan Amalia 2008). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti alkaloid, terpenoid, tri terpenoid, dan fenil propanoid (Tiwari *et al* 2011).

#### **D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Menurut Rohman (2007), Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1983. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas, dan elektroforesis. Pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik.

Prinsip KLT yaitu perpindahan analit pada fase diam karena pengaruh fase gerak. Proses ini biasa disebut elusi. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam, dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi, dan resolusinya (Gritter 1991). Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman 2007).

Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaanya lebih mudah, dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Demikian juga dengan peralatan yang digunakan, dalam kromatografi ini peralatan yang digunakan lebih sederhana.

#### **E. Infeksi Saluran Kemih**

##### **1. Definisi**

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah keadaan klinis akibat berkembang biaknya mikroorganisme yang menyebabkan inflamasi pada saluran kemih, dan menimbulkan bakteriuria ( $> 100.000$  colony forming units/ml). Infeksi saluran

kemih dibagi berdasarkan lokasinya yaitu infeksi saluran kemih atas, dan infeksi saluran kemih bawah (Hasibuan 2007).

## **2. Epidemiologi**

Infeksi saluran kemih, tergantung banyak faktor; seperti usia, gender, prevalensi bakteriuria, dan faktor predisposisi yang menyebabkan perubahan struktur saluran kemih termasuk ginjal. Pada wanita dengan usia lebih dari 65 tahun cenderung menderita ISK dibandingkan laki – laki. Infeksi Saluran Kemih berulang pada laki – laki jarang dilaporkan. Pervalensi ISK asimptomatik banyak ditemukan pada wanita. Pervalensi ISK asimptomatik pada laki – laki dan wanita menjadi 30% jika disertai faktor predisposisi seperti litiasis, obstruksi saluran kemih, penyakit ginjal polikistik, nekrosis papilar, diabetes pasca transplantasi ginjal, nefropati analgesik, penyakit *Sickle-cell*, senggama, kehamilan, dan peserta KB dengan tablet progesteron, Kateterisasi.

## **3. Etiologi**

Mikroorganisme yang paling sering menyebabkan Infeksi Saluran Kemih adalah mikroorganisme gram negatif seperti *Proteus mirabilis*. Pada neonatus prevalensi terjadinya ISK tiga kali lebih tinggi pada bayi prematur. Pada anak laki – laki yang tidak disirkumsisi juga memiliki resiko. Terjadinya Infeksi Saluran Kemih karena bakteri yang terdapat di preputium dapat menginfeksi secara ascending. Pada umumnya faktor host yang dapat menyebabkan kejadian Infeksi Saluran Kemih pada anak – anak yaitu kelamin wanita, abnormalitas dalam sistem imun, terdapat kelainan anatomi pada saluran kemih, dan aktivitas seksual. Pada anak tanpa kelainan anatomi saluran kemih namun terdapat kolonisasi pada periurethral memiliki resiko terjadinya Infeksi Saluran Kemih.

Infeksi Saluran Kemih akibat pemakaian kateter uretra biasanya disebabkan oleh kuman seperti *Proteus mirabilis*. Sering mikroorganisme penyebab ISK nasokomial diperoleh dari koloni kuman yang ada pada penderita, dan flora normal di perineum atau dari tangan petugas kesehatan sewaktu pemasangan kateter atau manipulasi pada sistem penampungan urin. Situasi seperti gangguan sistem imun, penggunaan steroid serta penggunaan antibiotika secara luas dapat merubah pola kuman akibat penggunaan kateter uretra.

## **F. *Proteus mirabilis***

### **1. Sistematika**

Klasifikasi dari bakteri *Proteus mirabilis* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Prokariota
Divisio	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Proteus</i>
Spesies	: <i>Proteus mirabilis</i> (Kurniawan 2011)

### **2. Morfologi**

Bakteri *Proteus mirabilis* tumbuh selama 24-48 jam pada media padat, kebanyakan sel seperti tongkat, panjang 1-3  $\mu\text{m}$ , dan lebar 0,4-0,6  $\mu\text{m}$ , walaupun pendek, dan gemuk bentuknya kokus biasa. Dalam kultur muda yang mengerumun di media padat, kebanyakan sel panjang, bengkok, dan seperti filamen, mencapai 10, 20, bahkan sampai panjang 80  $\mu\text{m}$ . Dalam kultur dewasa, organisme ini tidak memiliki pengaturan karakteristik (mereka mungkin terdistribusi tunggal, berpasangan atau rantai pendek). Akan tetapi, dalam kultur muda yang mengerumun, sel-sel filamen membentang, dan diatur konsentrasi seperti isobar dalam diagram angin puyuh. Kecuali untuk varian tidak berflagella, dan flagella yang melumpuhkan, semua jenis dalam kultur muda aktif bergerak dengan flagella peritrik. Flagella tersebut terdapat dalam banyak bentuk dibanding kebanyakan entero bakteri lain, normal, dan bentuk bergelombang kadang-kadang ditemukan bersama dalam organisme sama, dan bahkan dalam flagellum yang sama. Bentuk flagellum juga dipengaruhi pH media.

### **3. Patogenesis**

*Proteus* sp termasuk kuman patogen, menyebabkan infeksi saluran kemih atau kelainan bernalah seperti abses, infeksi luka, *Proteus* sp ditemukan sebagai penyebab diare pada anak-anak dan menimbulkan infeksi pada manusia. (Jawetz 1992).

## **G. Antibakteri**

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Sukandar dkk 2009).

### **1. Mekanisme antibakteri dapat dikelompokan dalam 4 kelompok utama.**

**1.1 Menghambat sintesis dinding sel mikroba.** Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Gunawan *et al* 2009).

**1.2 Mengganggu permeabilitas membran sel mikroba.** Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut, dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain (Gunawan *et al* 2009).

**1.3 Menghambat metabolisme sel mikroba.** Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Para Amino Benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Gunawan *et al* 2009).

**1.4 Menghambat sintesis protein sel mikroba.** Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA, dan tRNA. Antibakteri bekerja dalam menyebabkan kode pada mRNA yang salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal, dan fungsional bagi sel mikroba (Gunawan *et al* 2009).

## **H. Uji Aktivitas Antibakteri**

Penentuan kepekaan bakteri terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari 2 metode yakni dilusi dan difusi. Penting sekali menggunakan

metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba. Metode pengujian terhadap aktivitas antibakteri :

### **1. Metode difusi**

Metode difusi adalah suatu uji aktifitas dengan menggunakan sumur yang berliang renik atau suatu silinder tidak berasal yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pemberian padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang akan diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikroanya berdifusi pada lempeng agar *Mac-monkey*, agar yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidak zonanya hambatan pertumbuhan bakteri di sekelilingi cakram atau silinder yang berisi zat mikroba (Harminta 2004).

### **2. Metode dilusi**

Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan dalam dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri (Pratiwi 2008).

### **3. Media**

Media merupakan substrat yang digunakan untuk menumbuhkan, dan mengembangkan mikroba. Media yang belum digunakan untuk penelitian harus steril, artinya media tidak ditumbuhi mikroba lain. Mikroba dapat tumbuh, dan berkembang dengan baik dengan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan, dan perkembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba (Suriwiria 2005).

Terdapat tiga bentuk media antara lain media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, dan fermentasi. Media padat digunakan untuk mengamati bentuk atau morfologi

koloni serta mengisolasi biakan murni dari mikroba. Media setengah padat biasa digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroboba maupun kemampuan fermentasi (Pratiwi 2008).

## **I. Antibiotik**

### **1. Amoksisilin**

Amoksisilin merupakan turunan dari penisilin semi sintetik dan stabil dalam suasana asam lambung. Amoksisilin diabsorpsi dengan cepat, dan baik pada saluran pencernaan, tidak tergantung adanya makanan. Amoksisilin terutama diekskresikan dalam bentuk tidak berubah di dalam urin. Ekskresi Amoksisilin dihambat saat pemberian bersamaan dengan probenesid sehingga memperpanjang efek terapi. Amoksisilin aktif terhadap organisme gram positif, dan gram negatif.

Bakteri mempunyai enzim beta-laktamase yang memecah beta-laktam amoksisilin sehingga amoksisilin menjadi tidak aktif. Asam klavulanat mengikat, dan menghambat beta-laktamase bakteri yang menginaktifkan amoksisilin, sehingga amoksisilin dapat memiliki aktivitas pada spektrum lebih luas.

Amoksisilin menghambat sintesis dinding sel bakteri yaitu dengan mengikat satu atau lebih PBPs (penisilin-binding protein), yang kemudian menghambat langkah transpeptidasi akhir dari sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri, selanjutnya menghambat biosintesis dinding sel. Bakteri pada akhirnya lisis karena oleh aktivitas enzim autolitik dinding sel, sementara penyusunan dinding sel dihentikan atau dihambat (Lacy *et al* 2010). Dosis amoksisilin yang digunakan dalam praktek sebagai kontrol positif sebanyak 500 mg.

## **J. Landasan Teori**

Pengobatan tradisional merupakan pengobatan yang menggunakan berbagai macam tumbuhan yang memiliki khasiat obat yang diakui masyarakat dunia (Wijayakusuma 2000). Penggunaan obat tradisional merupakan suatu kenyataan untuk mencapai kesembuhan seseorang atau pemeliharaan, dan peningkatan taraf kesehatan yang sudah diwariskan secara turun temurun, dan

tidak dapat dipisahkan lagi dari kehidupan masnyarakat tampa dibuktikan secara ilmiah (Depkes 2000)

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah infeksi yang ditandai dengan pertumbuhan, dan perkembang biakan bakteri dalam saluran kemih, meliputi infeksi di parenkim ginjal sampai kandung kemih dengan jumlah bakteriuria yang bermakna. Bakteri yang dapat menyebabkan ISK (infeksi saluran kemih) adalah *Proteus mirabilis*. *Proteus mirabilis* ATCC 10975 adalah bakteri gram negatif, yang termasuk kuman patogen, bisa menyebabkan infeksi saluran kemih atau kelainan bernalah seperti abses, infeksi luka. *Proteus mirabilis* juga ditemukan sebagai penyebab diare pada anak-anak dan menimbulkan infeksi pada manusia.

Pengobatan untuk penderita ISK dapat dilakukan dengan dua terapi yaitu terapi farmakologi dan terapi non farmakologi. Terapi non farmakologi pada penderita ISK yaitu bisa dengan menggunakan daun alpukat yang di uji dulu aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang menyebabkan ISK, sedangkan terapi farmakologi pada penderita isk dengan menggunakan antibiotik. Amoksisilin merupakan antibiotik yang banyak digunakan sebagai terapi pada pasien ISK. (Mutschler, 1999; Setiabudy, 2007; Mycek, 2001).

Daun alpukat (*Persea americana* Mill) memeliki kandungan kimia yaitu saponin dan flvanoid. Lam dan Cushnie (2005 menyatakan jika senyawa flavanoid memiliki aktivitas sebagai antifungsi dan antibakteri. (Christianto *et al* 2012). Bagian daun pada tumbuhan alpukat memiliki aktivitas antibakteri, dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies bakteri yaitu *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *proteus sp*, *Bacillus sp*, dan *Escherichia sp* (Ismiyati 2014).

### **K. Hipoteis**

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun hipotesis dalam penelitian adalah :

Pertama, ekstrak etanol, fraksin-heksana, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana*, Mill) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

Ketiga, fraksi yang paling aktif yaitu etil asetat terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang diperoleh dari daerah Kodi, Sumba Barat Daya, NTT.

Sampel dalam penelitian ini adalah simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang diperoleh dari daerah Kodi, Sumba Barat Daya, NTT. Tanaman dipilih kualitas yang paling baik, yaitu segar, muda, tidak busuk, dan tidak ditumbuhi jamur.

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

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

Variabel utama dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun alpukat (*Persea americana* Mill).

Varibel utama kedua adalah uji aktivitas antibakteri hasil ekstrak, dan fraksi terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

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

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian adalah, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill).

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar, dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Proteus mirabilis* ATCC 10975, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi, media yang digunakan dalam penelitian, dan metode ekstrasi.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri yang dipengaruhi oleh fraksinasi daun alpukat yang dilihat dari pertumbuhan pada media uji.

### **3. Defenisi operasional variabel utama**

Pertama, daun alpukat adalah daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diambil dari daerah Kodi, Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT.

Kedua, serbuk daun alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah daun yang dikeringkan, kemudian diblender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak etanolik daun alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah hasil ekstraksi dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang dibuat dengan cara mengekstrak serbuk dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah lapisan *n*-heksana dari ekstrak etanolik yang difraksinasi dengan *n*-heksana menggunakan corong pisah, kemudian dikering anginkan sehingga didapat fraksi *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah lapisan etil asetat hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana dengan pelarut etil asetat dipartisi menggunakan corong pisah, kemudian dikering anginkan sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah lapisan air hasil fraksinasi dari residu etil asetat difraksinasi dengan menggunakan corong pisah kemudian dipekatkan dengan waterbath.

Ketujuh, *Proteus mirabilis* adalah bakteri *Proteus mirabilis* yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, metode dilusi dengan menentukan konsentrasi daya bunuh minimum (KBM) yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi sebagai berikut 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09%, 0,045. Kontrol negatif adalah ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan amoksisilin, dan kontrol positif adalah suspensi bakteri

Kesembilan, metode difusi adalah dengan menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji dari fraksi teraktif etil asetat yaitu dibuat beberapa

cakram menggunakan konsentrasi 50%. Kontrol negatif adalah DMSO 1% dan kontrol positif ada amoksisilin.

Metode difusi yaitu mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif adalah pelarut, dan kontrol positif adalah antibiotik. Metode dilusi adalah metode uji aktivitas antibakteri dengan membuat satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu kontrol positif adalah suspensi bakteri dalam media, kontrol negatif adalah konsentrasi ekstrak, dan fraksi daun alpukat, dan kontrol pembanding sebagai suspensi bakteri yang ditambah antibiotik dengan seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

**1.1 Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana* Mill.) segar yang diambil dari Sumba Barat Daya, NTT.

**1.2 Bakteri uji.** Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Proteus mirabilis* yang dibiakan.

**1.3 Medium uji.** Medium uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Mac-monkey Agar*.

**1.4 Bahan Kimia.** Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut *n*-heksana, etil aseatat, aquadest, dan etanol.

### 2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisa yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg, dan daya muat maksimum 100 gram, inkas, ose platina, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, neraca analitik, pipet volume (10 ml; 15 ml; 0,5 ml), siring, pinset, inkubator, kain flannel, kapas, corong kaca, boor prop, mikropipet, kapas lidi steril, autoclave, kertas saring, oven binder, lampu spiritus dan detektor sinar UV 254 nm.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Identifikasi daun alpukat**

Tahapan pertama penelitian ini adalah melakukan identifikasi daun alpukat (*Persea americana*Mill) yang berkaitan dengan morfologi daun alpukat yang dilakukan di bagian Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Identifikasi ini bertujuan untuk mencocokan ciri makroskopis dan mikroskopis, selain itu juga berfungsi untuk mencocokan ciri morfologi yang ada pada daun alpukat (*Persea americana*Mill).

### **2. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk daun alpukat**

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

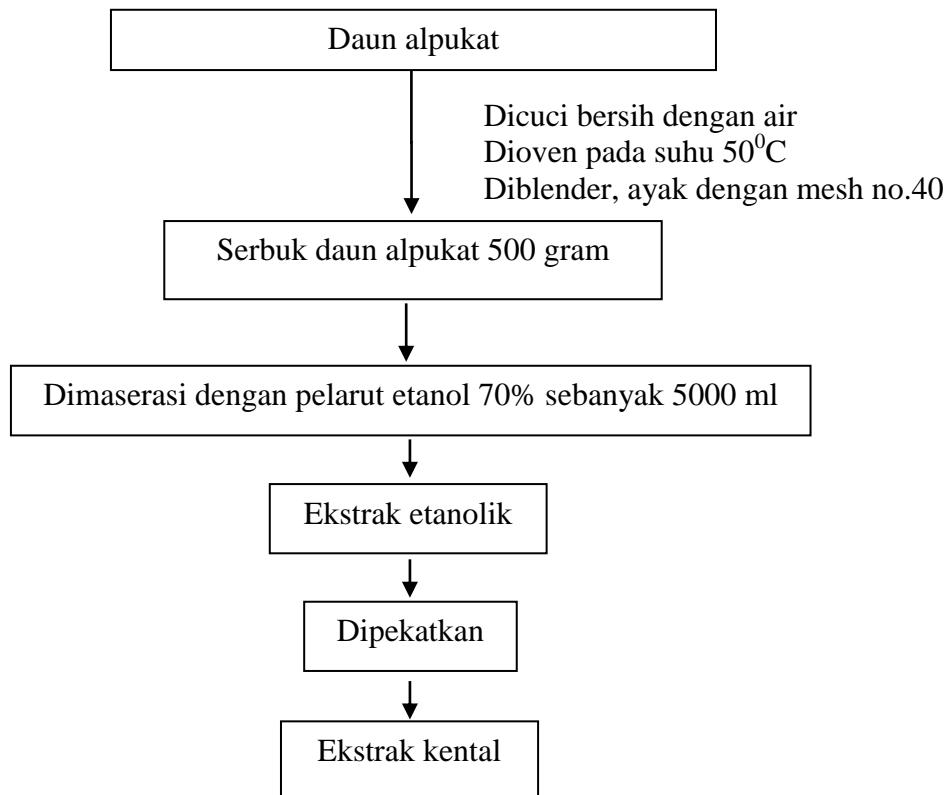
### **3. Penetapan kadar lembab**

Penetapan kadar kelembaban serbuk daun alpukat pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Penetapan kadar kelembaban serbuk daun alpukat dilakukan dengan menggunakan alat moisture balance. Cara penggunaan moisture balance yaitu pertama nyalakan moisture balance, setelah itu distandardkan sampai nol. Setelah itu kita masukan serbuk daun alpukat sebanyak 2 gram didalam wadah di dalam moisture balance, setelah itu kita tutup moisture balance, dan kita tunggu sampai ada bunyi alat sebagai tanda, suhunya 100°C- 110°C, waktu 5-15 menit. Angka yang muncul dalam satuan persen pada alat moisture balance dicatat sebagai kadar kelembaban. Diulangi sampai tiga kali. Setelah mendapatkan hasilnya kita rata-rata untuk mendapatkan kadar lembabnya.

### **4. Pembuatan ekstrak daun alpukat secara maserasi**

Serbuk daun alpukat ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dimasukan ke dalam wadah atau bejana, bersama dengan cairan penyari yang telah ditetapkan yaitu etanol 70%, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang, selama 5 hari. Pengocokan memungkinkan pelarut segari mengalir berulang-ulang, masuk

ke seluruh permukaan dari serbuk simplisia yang sudah halus (Ansel 1989). Maserasi dilakukan pada suhu kamar dalam waktu selama 5 hari sampai bahan yang larut molar (Voigh, 1995). Dapat dilihat pada skema gambar 1



**Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun alpukat**

## 5. Uji bebas etanol daun alpukat

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

## 6. Pengujian kandungan kimia ekstrak daun alpukat

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak daun alpukat, dan juga fraksi teraktif yang ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill).

**6.1 Identifikasi flavonoid.**Ekstrak sebanyak  $\pm 0,5$  g dicampurkan dengan aquadestilata. Setelah itu, didihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat

ditambahkan 0,5 mg bubuk Mg, dan ditambahkan 1 ml HCl pekat, dan amil alkohol. Dicampur dan dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil akohol (Alamsyah 2014).

**6.2 Identifikasi alkaloid.**Ekstrak sebanyak  $\pm$  0,5 g dilarutkan dengan aquadestilata. Setelah itu ditambahkan 1 ml HCl 2 N. Dibuat dalam 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan reagen Mayer terbentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan. Tabung 2 ditambahkan reagen dragendorff terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga (Alamsyah 2014).

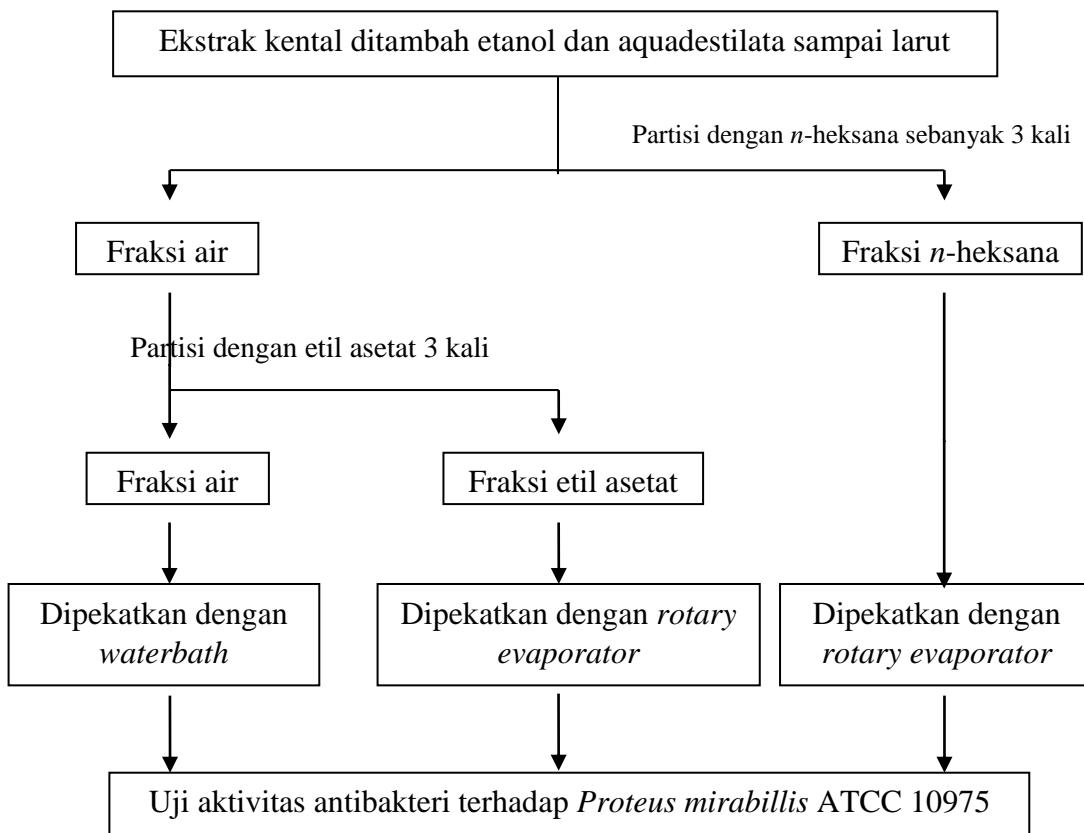
**6.3 Identifikasi saponin.**Ekstrak sebanyak  $\pm$  0,5 g ditambahkan aquadestilata, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil, dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang menandakan adanya kandungan saponin (Ramyashree *et al* 2012).

## 7. Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun alpukat dibuat dengan cara ditimbang dari ekstrak kental hasil maserasi. Ekstrak kental yang sudah ditimbang dilarutkan dengan etanol, dan aquadestilata kemudian dipisahkan di corong pisah dengan ditambahkan *n*-heksana, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disebut sebagai fraksi *n*-heksana.

Residu dari fraksinasi *n*-heksana dipisahkan di corong pisah dengan ditambahkan etil asetat, dipartisi sebanyak tiga kali. Hasil fraksinasi yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian ditimbang, dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

Residu dari fraksi etil asetat dipekatkan dengan cara dibiarkan menguap pada suhu kamar, karena masih terdapat kandungan air yang cukup banyak maka dipekatkan kembali menggunakan waterbath suhu  $\pm$  50°C lalu ditimbang, dan disebut sebagai fraksi air. Skema pembuatan fraksinasi daun alpukat (*Persea americana* Mill) dapat dilihat di bawah.



Gambar 2. Skema diagram kerja pembuatan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun alpukat

## 8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Mengambil biakan bakteri *Proteus mirabilis* beberapa ose dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan BHI steril dihomogenkan. Bakteri tersebut distandardkan dengan Larutan Standart Mc Farland 0.5. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antibakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

## 9. Pengujian identifikasi antibakteri

**9.1 Metode goresan.** Bakteri diambil satu ose secara aseptis, kemudian dibuat goresan pada permukaan media *Mac-monkey agar*. Balikkan petri disk yang dibungkus kembali yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sesudah diinkubasi akan tampak koloni-koloni bakteri. Ciri koloni bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 hasil positif warna koloni sedang hingga besar, berwarna merahmuda dan swarming pada media MCA (Misnadiarly & Djajaningrat H 2014).

## 10. Uji biokimia

**10.1 Media SIM.** Biakan diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas bakteri. Sulfida positif bila media berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Ehrlich. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

**10.2 Media KIA.** Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dengan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat, dan sulfida. Pengamatan dilakukan pada bagian lereng, dan dasar media, adanya gas, dan sulfide. Hasil pada bagian lereng, dan dasar dapat berwarna merah yang berarti basa (ditulis K), atau kuning yang berarti suasananya asam (ditulis A), terbentuk gas ditandai dengan pecahnya media (ditulis G+), sulfide positif terbentuk warna hitam pada media (ditulis S+).

**10.3 Media LIA.** 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 deaminasi lisin, dan sulfida. Pengamatan dilakukan pada lereng dan dasar media serta adanya sulfida. Hasil pada bagian lereng, dan dasar dapat berwarna merah coklat (ditulis R), berwarna ungu yang berarti suasananya basa (ditulis K) atau berwarna kuning yang berarti suasananya asam (ditulis A), terbentuk warna hitam pada media berarti sulfida positif (S+).

**10.4 Media Citrat.** Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrate sebagai sumber karbon tunggal. Uji positif bila media berwarna biru.

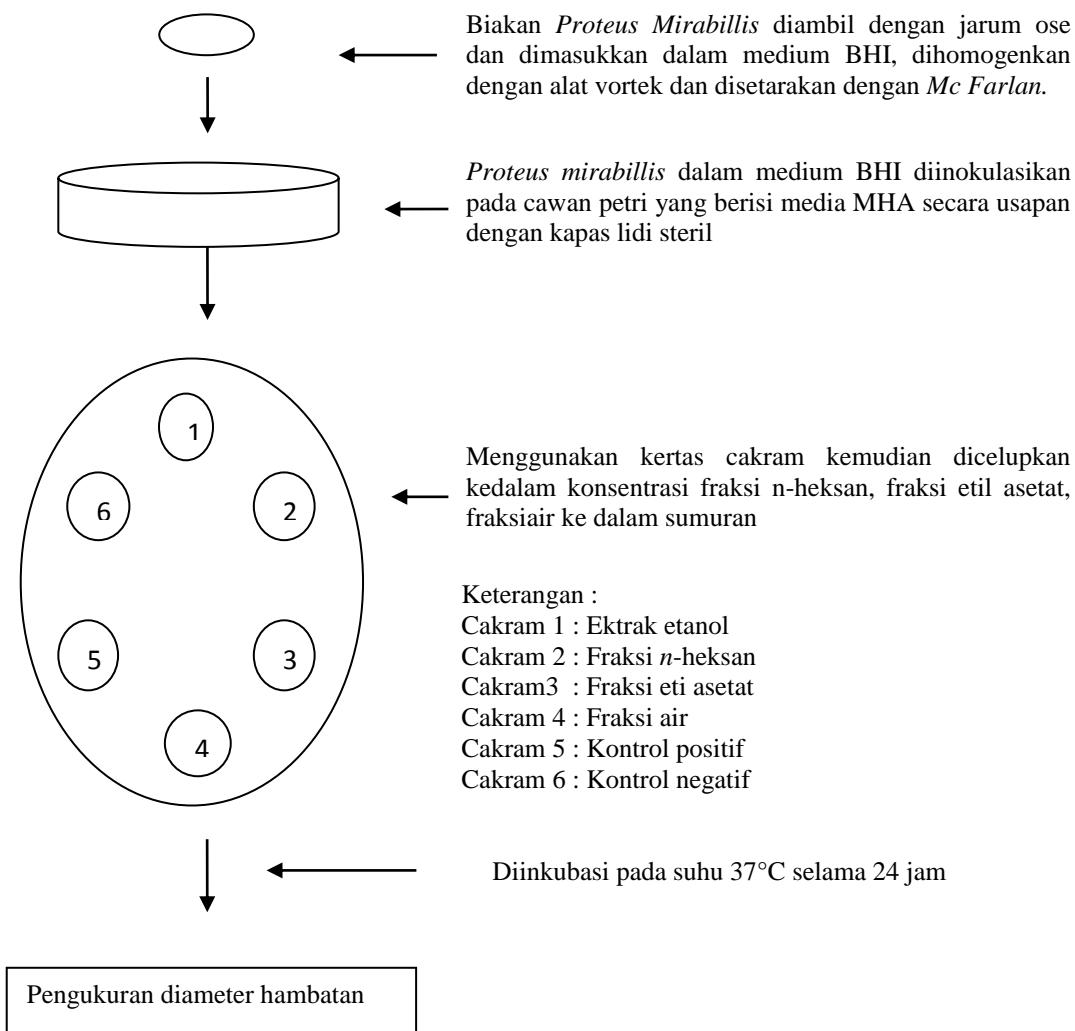
## 11. Pengujian antibakteri secara difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Metode difusi menggunakan cawan petri steril yang telah diisi dengan media MHA sebanyak 50 ml. Secara aseptis pada cawan petri

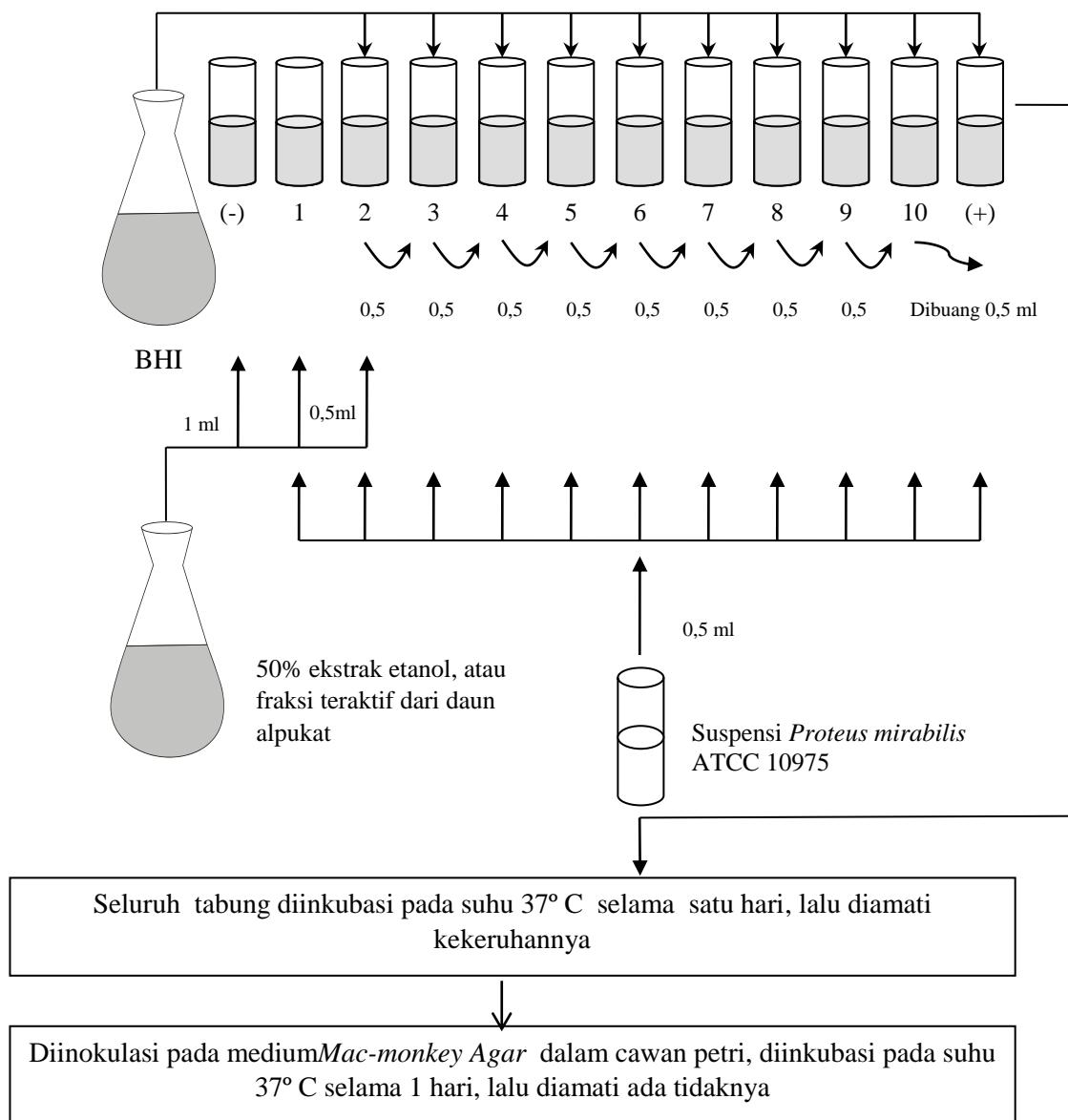
digoresi suspensi bakteri menggunakan lidi steril, kemudian digunakan kertas cakram sebanyak 6 untuk uji difusi. Kemudian kertas cakram direndam fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksan, fraksi air, ekstrak etanol, kontrol positif adalah amoksisilin, dan kontrol negatif adalah DMSO 1%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar kertas cakram yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia daun alpukat memiliki daya hambat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975(Bonang & Koeswardono 1982).

## **12. Pengujian antibakteri secara dilusi**

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode dilusi menggunakan 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yang dibuat adalah 50%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 1%. Secara aseptis dari larutan stok tersebut dibuat deret konsentrasi di bawahnya yaitu kontrol (-); 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%; 0,045, dan kontrol (+). Media BHI dimasukkan 0,5 ml pada tiap tabung kecuali tabung 1. Secara aseptis, masukkan 1 ml larutan stok yang akan diuji pada tabung 1, kemudian pada tabung 2, dan 3 dimasukkan 0,5 ml larutan stok, kemudian dari tabung 3 dipipet 0,5 ml, dan dimasukkan ke dalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tambahkan 0,5 ml biakan bakteri dari tabung 2 sampai tabung 12. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Bakteri yang sudah digoreskan pada media selektif diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 24-48 jam. Diamati ada atau tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media selektif *Mac-monkey Agar* yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.



**Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode difusi.**



**Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan hasil fraksinasi daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975.**

### 13. Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip KLT yaitu perpindahan analit pada fase diam kerena pengaruh fase gerak. Proses ini biasa disebut dilusi. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam, dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya (Gritter 1991). Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh

kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau Karen pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman 2007).

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk menguji fraksi aktif dalam ekstrak etanol daun alpukat. Ekstrak atau fraksi aktif dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan di atas lempeng kromatografi, setelah totolan kering, lempeng KLT dimasukkan dalam bejana yang sudah jenuh oleh fase gerak yang sesuai. Pengembangan dilakukan sampai jarak tertentu, kemudian dilakukan deteksi di bawah sinar UV 254 nm, dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi ditentukan harga R<sub>f</sub> dan penampakan warnanya.

**13.1 Identifikasi flavonoid.** Sejumlah 0,5 g serbuk daun alpukat ditambah 10 ml air panas kemudian didihkan selama 15 menit, dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B, pada tabung reaksi dimasukkan 5 ml larutan, serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol: asam klorida (1:1) dan pelarut memisah. Reaksi positif dibuktikan adanya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amylalkohol (Anonim 1995).

**13.2 Identifikasi alkaloid.** Senyawa alkaloid diidentifikasi menggunakan KLT yaitu fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF<sub>254</sub>, dan fase geraknya yaitu CHCl<sub>3</sub> : etanol (96 : 4). Kemudian dideteksi di bawah sinar UV<sub>254</sub> sehingga akan memberikan warna coklat kehitaman dan UV<sub>366</sub> berwarna hijau. Pereaksi semprot yang digunakan yaitu dragendorf (Budiman *et al* 2010). Fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, dan fase gerak yang digunakan etil asetat : methanol : air (90:9:1) dengan pereaksi semprot Drangendrof. Senyawa alkaloid akan terlihat bercak berwarna jingga sampai merah tua setelah disemprot dengan pereaksi Drangendrof (Harborne 1987)

**13.3 Identifikasi saponin.** Identifikasi saponin menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF<sub>254</sub>, dan fase geraknya yaitu kloroform : metanol : aquades (13:7:2). Kemudian dideteksi di bawah sinar UV<sub>254</sub> sehingga akan memberikan warna gelap dan, UV<sub>366</sub> berwarna hijau. Lempeng juga disemprotkan dengan pereaksi LB (*Libeerman Bourchat*), dan dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit untuk memperjelas warna noda

yang terbentuk cicin merah sampai coklat menunjukkan adanya saponin (Suharto *et al* 2012).

## E. Jadwal Penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Hasil identifikasi tanaman alpukat (*Persea americana* Mill)**

**1.1 Determinasi tanaman.** Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman alpukat terhadap kepustakaan, dan dibuktikan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Hasil determinasi daun alpukat berdasarkan Steenis : FLORA : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-8b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b. Golongan 8.109b-119b-120b-128b-129b-135b-136b-139b-140b-142b-143b-146b-154b-155b-156b-162b-163a-164b-165a. familia 52. Lauraceae. 1a-2a. Persea *Persea americana* Mill.

**1.2 Deskripsi tanaman.** Deskripsi tanaman alpukat sebagai berikut : Pohon tinggi 3-10 m, akar tunggang. Batang bulat, percabangan monopodial, berkayu. Daun tunggal, tersebar, bertangkai, berjejal-jelal pada ujung ranting, bulat telur memanjang atau elips, ujung runcing, pangkal runcing, tepi rata, seperti kulit, waktu muda berambut rapat, kemudian gundul, panjang 10,1-14,7 cm, lebar 5,2-5,7 cm, permukaan atas hijau tua, mengkilap, permukaan bawah hijau muda. Bunga aktinomorf, berkelamin dua, dalam malai yang bertangkai dan berbunga banyak, terdapat dekat ujung ranting. Tenda bunga garis tengah 1-1,5 cm, putih kuning, berbau enak, berambut, dengan tabung pendek dan enam taju yang terbentang, 3 taju terluar kecil, benang sari 12 dalam 4 lingkaran, 3 terdalam direduksi menjadi staminodia. Ruang sari 4. Staminodia orange atau coklat. Buah bentuk bola atau buah peer, panjang 5-20 cm, hijau atau hijau kuning. Biji bentuk bola, coklat, garis tengah 2,5-5 cm.

Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) Gambar dapat dilihat pada lampiran 1.

## 2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun alpukat

Daun alpukat diambil secara acak di daerah kodi Kabupaten Sumba Barat Daya, Nusa Tenggara Timur pada bulan oktober 2017. Daun alpukat yang telah dikumpulkan dibersihkan, dicuci, dan dikeringkan. Pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta mencegah timbulnya jamur, dan mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan, dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Hasil presentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada table 1. Daun alpukat sebanyak 4000 gram bobot basah kemudian dikeringkan, dan didapat bobot kering 1000 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah 25%. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 10.

**Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun alpukat**

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
4000	1000	25

## 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun alpukat

Penetapan susut pengeringan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan alat *moisture balance*. Hasil penetapannya tercantum pada tabel di bawah ini:

**Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun alpukat**

No	Bobot serbuk (gram)	Susut pengeringan(%)
1	2,00	4,5
2	2,00	4,5
3	2,00	4,0
<b>Rata- rata</b>		4,34

Hasil penetapan susut pengeringan daun alpukat didapatkan rata-rata sebesar 4,34 %. Susut pengeringan memenuhi syarat di mana susut pengeringan serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%, karena dengan susut pengeringan kurang dari 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al.* 2008).

## 4. Hasil pembuatan ekstrak daun alpukat

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi, maserasi adalah cara ekstrasi yang paling sederhana. Keuntungan cara penyari dengan maserasi adalah cara penggerjaan, dan peralatan yang digunakan

sederhana, dan mudah diusahakan. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga komponen yang tidak tahan panas seperti flavonoid tetap ada di dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun alpukat dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun alpukat**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	60	12

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun alpukat yang diperoleh adalah 12%, dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 11.

### 5. Hasil uji bebas etanol daun alpukat

Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun alpukat**

Hasil	Pustaka
Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Kurniawati 2015)

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester. Tujuan dilakukan uji bebas etanol pada ekstrak daun alpukat adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan pada tahap penelitian selanjutnya yaitu pada pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 sebab etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

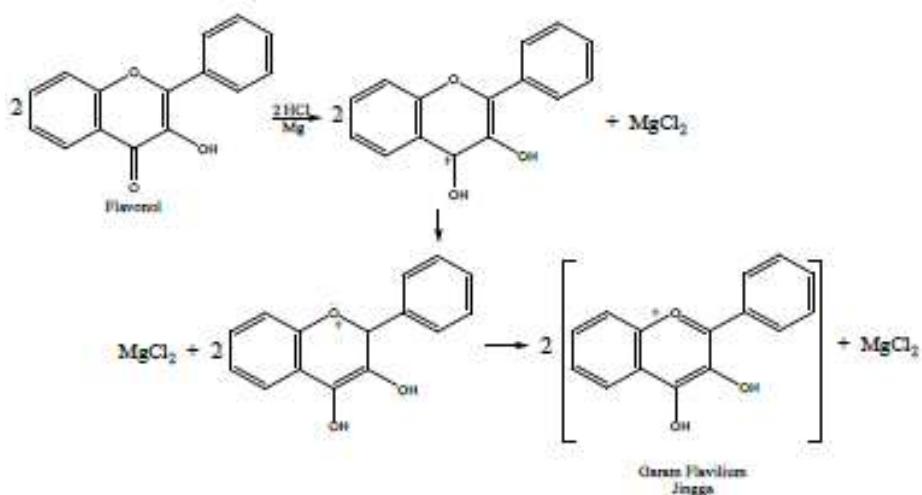
### 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat

Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat**

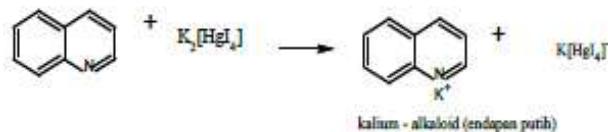
Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Flavonoid	Warna kuning pada lapisan amil alkohol.	Reaksi positif ditandai dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Alkaloid	Tabung 1 → Endapan putih kekuningan (Reagen Mayers). Tabung 2 → Endapan merah kecoklatan (Reagen Dragendorff)	Terbentuk endapan menggumpal warna putih kekuningan pada reagen Mayer dan terbentuk endapan berwarna merah sampai jingga kecoklatan pada reagen Dragendorff (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	(+)
Saponin	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang.	Terbentuk busa yang stabil + 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang (Ramyashree <i>et al.</i> 2012).	(+)

Tujuan penambahan serbuk magnesium, dan HCL pada pengujian flavonoid adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Pemanasan dilakukan karena sebagian besar golongan flavonoid dapat larut dalam air panas. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatis dengan gugus hidroksi lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar. Adapun reaksi-reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCL, dan serbuk Mg dapat dilihat pada gambar 5



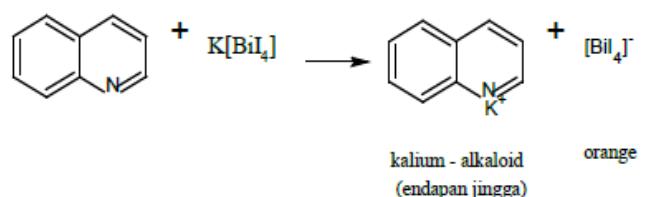
**Gambar 5. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl (Septyangsih 2010).**

Prinsip dari uji alkaloid adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Sangi dkk., 2008) . Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K<sup>+</sup> dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukan pada gambar 6.



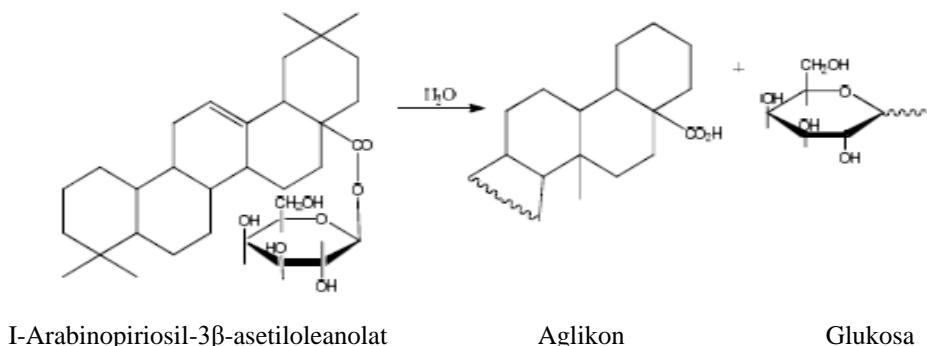
**Gambar 6. Reaksi uji mayer (Marliana dkk, 2005)**

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning (jingga). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada uji alkaloid dengan reaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  yang merupakan ion logam. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 7.



**Gambar 7. Reaksi Uji Dragendorff**

Timbulnya buih pada pengujian saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa, dan senyawa lainnya. Reaksi yang terjadi saat uji saponin ditunjukkan pada Gambar 8.



**Gambar 8. Reaksi Hidrolisis Saponin dalam Air**

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat dilihat pada lampiran 5.

## 7. Hasil fraksinasi ekstrak daun alpukat

Penyarian awal yang dilakukan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol 70 % menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik

non polar, semi polar maupun polar, kemudian dilanjutkan fraksinasi. Senyawa non polar akan terekstrasi dalam pelarut *n*-heksan, senyawa semi polar akan terekstrasi dalam pelarut etil asetat sehingga akan mudah memperkirakan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

**7.1 Fraksi *n*-heksan.** Hasil sediaan ekstrak maserasi yang telah didapatkan ditimbang kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut non polar (*n*-heksan), diekstraksi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 ml, kemudian fraksi *n*-heksan yang didapat diuapkan, dan dipekatkan. Residu yang didapat dilakukan fraksinasi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Rendemen hasil fraksinasi fraksi *n*-heksan dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
10,00	1,13	11,3
10,00	1,12	11,2
10,00	1,13	11,3
<b>Rata-rata</b>		<b>11,2</b>

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksinasi fraksi *n*-heksan serbuk daun alpukat didapat persentase rata-rata yaitu 11,2%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan serbuk daun alpukat dapat dilihat pada lampiran 12.

**7.2 Fraksi etil asetat.** Residu ekstrak *n*-heksan dilanjutkan dengan perlakuan fraksinasi dengan pelarut semi polar (ethyl asetat). Residu dari ekstrak *n*-heksan diekstrasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing sebanyak 75 ml. fraksi ini diuapkan, dan residu yang didapat dilakukan pemekatan.

**Tabel 7. Rendemen hasil fraksinasi etil asetat daun alpukat**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
10,00	1,98	19,8
10,00	1,97	19,7
10,00	1,98	19,8
<b>Rata-rata</b>		<b>19,8</b>

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksinasi fraksi etil asetat serbuk daun alpukat didapat prosentase rata-rata yaitu 19,8%. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun alpukat dapat dilihat pada lampiran 13.

**7.3 Fraksi air.** Residu dari ekstrak etil asetat dilanjutkan dengan pemekatan sehingga didapat ekstrak kental. Etanol 70% merupakan pelarut serbaguna yang dapat melarutkan senyawa-senyawa polar, semi polar, dan non polar. Rendemen fraksi air hasil fraksinasi daun alpukat dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Rendemen hasil fraksi air dari daun alpukat**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10,00	2,78	27,8
10,00	2,78	27,8
10,00	2,77	27,7
<b>Rata-rata</b>		<b>27,8</b>

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan prosentase rendemen fraksi air didapat prosentase rata-rata yaitu 27,8%. Perhitungan rendemen fraksi air daun alpukat dapat dilihat pada lampiran 14.

## 8. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dalam biakan murni diambil masing-masing satu ose, dan kemudian dimasukan ke dalam tabung yang telah diisi 10 mL media BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Suspensi yang telah diencerkan dibandingkan dengan larutan standar Mc Farland 0,5 sampai didapat kekeruhan yang sama. Pembuatan suspense bertujuan untuk standarisasi atau pengendalian jumlah bakteri.

## 9. Hasil identifikasi bakteri uji

**9.1 Identifikasi bakteri secara goresan.** Identifikasi bakteri uji *Proteus mirabilis* ATCC 10975, biakan *Proteus mirabilis* diinokulasi pada media *Macconkey Agar* (MCA), dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Penampakan koloni yang terjadi yaitu berwara koloni sedang hingga besar, berwarna merah muda dan *swarming* pada media MCA. Hasil identifikasi bakteri uji dengan media selektif ini sesuai dengan pustaka (Misnadiarly & Djajaningrat H 2014).



**Gambar 9.**Hasil identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara inokulasi

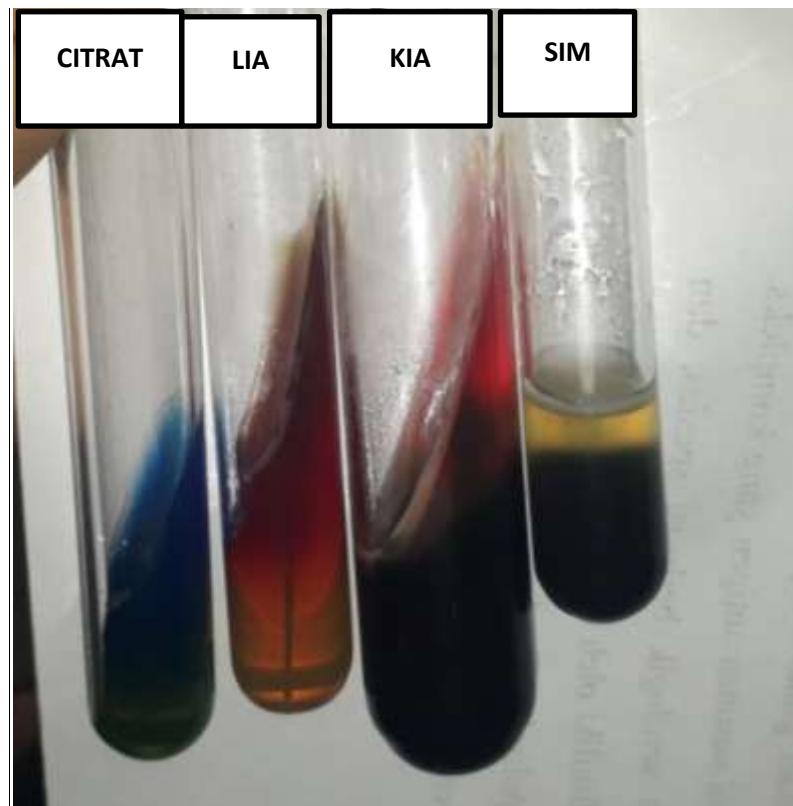
**9.2 Identifikasi bakteri uji secara biokimia.**Hasil identifikasi bakteri uji *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9.Identifikasi uji biokimia *Proteus mirabilis***

Pengujian	Hasil	Pustaka (WHO 2003)
KIA	K / AS(+)	K / A S(+)
SIM	++	++
LIA	R / A S(-)	R / A S(-)
Citrat	+	+

Keterangan :

SIM : <i>Sulfida Indol Agar</i>	K : merah (pada media KIA)
KIA : <i>Kliger Iron Agar</i>	A : terbentuk warna kuning
LIA : <i>Lysine Iron Agar</i>	R : terbentuk warna merahcoklat (pada media LIA)
	S(+) : terbentuk warna hitam



Gambar 10. Hasil identifikasi bakteri uji *Proteus mirabilis* ATCC 10975

Hasil pengujian pada media *Klinger Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi glukosa, ada tidaknya gas dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan media KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/A S<sup>+</sup>. Pada media KIA tegak berubah warna merah dari merah menjadi kuning (A), dan bagian miring warna tetap merah (K) karena bakteri menghasilkan asam karena dapat memfermentasi glukosa, dan tidak menfermentasi laktosa. Hasil S<sup>+</sup> artinya H<sub>2</sub>S positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam pada media (Harti 2015). Hal ini dikarenakan bakteri dapat mendesulfurasi asam amino, dan methion yang akan menghasilkan H<sub>2</sub>S. H<sub>2</sub>S akan bereaksi dengan Fe<sup>++</sup> yang terdapat pada media sehingga terbentuk warna hitam media. Medium KIA mengandung 1% laktosa, 0.1% glukosa, dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam.

Medium *Lysin Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin, dan sulfide. Pengujian dengan LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukan hasil R/A S+. Hasil R/A artinya pada lereng berwarna merah coklat, dan dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin (Lindquist 2010). Hasil S- artinya H<sub>2</sub>S negatif ditunjukan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA kerana bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino, dan methion yang akan menghasilkan H<sub>2</sub>S. H<sub>2</sub>S akan bereaksi dengan Fe<sup>++</sup> yang terdapat pada media sehingga tidak terlihat warna hitam pada media (Volk & Wheller 1988).

Hasil pengujian pada media *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil yang didapat adalah +++, yang artinya bakteri tersebut mampu membentuk S yang diikat sebagai ferri sulfida, dan dapat memproduksi hidrogen sulfida yang akan terlihat warna hitam. Indol negatif karena tidak terbentuk cicin warna merah merah setelah ditambah reagen Erlich. Pada permukaan biakan tidak terbentuk lapisan cicin berwarna merah, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptohan sebagai sumber karbon (Cowan 2004), dan motilitas positif artinya terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasi, yang berarti bahwa bakteri *Proteus mirabilis* memiliki flagel (Burn *et al.* 2004).

Hasil pengujian pada media *citrat* untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan medium citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukan hasil positif ditandai dengan adanya warna biru pada media citrat. Hal ini karena *Proteus mirabilis* mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon maka menyebabkan suasana menjadi basa sehingga menyebabkan peningkatan pH media di atas 7,6 karena adanya ammonia yang dihasilkan yang berasal dari monoammonium phosphate yang terdapat pada media (Sardiani *et al.*, 2015). Hasil uji identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dapat dilihat pada lampiran 6.

## 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri daun alpukat

**10.1 Hasil pengujian antibakteri secara difusi.** Hasil dari ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun alpukat dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50% dengan pembanding kontrol positif adalah amoksisilin 50%, dan kontrol negatif pelarut DMSO 1% untuk mengetahui fraksi paling aktif dengan melihat luas diameter daya hambat masing-masing fraksi.

Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi kemudian diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan milimeter. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram menandakan bahwa kandungan kimia daun alpukat memiliki daya hambat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Hasil diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 11.

**Tabel 10. Diameter zona hambat ujia aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975**

Kandungan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata(mm)
		I	II	III	
Ekstrak	41,67%	16,67	10,67	20,67	16
<i>n</i> -heksan	41,67%	22,67	15	19,67	19,11
Etil Asetat	41,67%	25	27,67	28,67	27,11
Air	41,67%	19,5	20,34	21	20,28
Kontrol positif (+)	+	32,57	31,34	33	32,30
Kontrol negatif (-)	-	0	0	0	0

**Keterangan**

+ : kontrol positif (antibiotik amoksisilin)

- : kontrol negatif (DMSO 1%)

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun alpukat daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara difusi dapat dilihat pada lampiran 7.

Dari tabel 10 dapat dilihat pada fraksi etil asetat memiliki daya hambat lebih efektif terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dibandingkan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan air.

**Tabel 11.Homogeneous Subsets**

DIAMETER					
		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD(a)	Ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> - heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	3	16,33		
	Ekstrak etanol 50%		3	16,33	
	Fraksi air 50%		3	20,00	20,00
	Fraksi <i>n</i> - heksan 50%		3	21,00	21,00
	fraksi etil asetat 50%		3	27,33	27,33
	Amoksisilin	3			32,33

Sig.		,598	,216	,539
------	--	------	------	------

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak, dan fraksi daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dapat di lihat dengan aplikasi SSPS. Dari tabel 11 dapat dilihat pada fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975, walaupun kontrol positif yaitu amoksisilin lebih bagus dari pada fraksi etil asetat. Karena kedua diameter daya hambat dari fraksi etil asetat dan amoksisilin berada dalam 1 subsets sehingga tidak beda signifikan.

**10.2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.** Hasil fraksi etil asetat daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 20,83%; 10,41%; 5,20%; 2,6%; 1,3%; 0,65%; 0,32%; 0,16%; 0,008%; 0,004% dengan kontrol positif berupa bakteri uji dalam media BHI, dan kontrol negatif berupa fraksi etil asetat. Hasil gambar uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 8. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 tidak bisa dilihat dari kejernihannya karena ditutupi oleh kekeruhan dari bagian fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dapat dilihat dari pengujian fraksi terhadap bakteri uji pada tabung kemudian diinokulasikan pada *Mac-Conkey Agar* (MCA) dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 pada media MCA.

**Tabel 12. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975**

No.	Konsentrasi (% b/v)	Fraksi Etil Asetat		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	25	-	-	-
3	12,5	-	-	-
4	6,25	-	-	-
5	3,12	+	+	+
6	1,56	+	+	+
7	0,78	+	+	+
8	0,39	+	+	+

9	0,19	+	+	+
10	0,09	+	+	+
11	0,045	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri  
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri  
 Kontrol (-) : Larutan stok (fraksi)  
 Kontrol (+) : Suspensi bakteri  
 Tabung no. 2-11 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 11 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dilakukan tiga kali pengulangan dengan konsentrasi fraksi yang dipakai yaitu 20,83%; 10,41%; 5,20%; 2,6%; 1,3 %; 0,65%; 0.32%; 0,16%; 0,08%; 0,004%. Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 adalah 5,2%. Hasil uji dilusi menunjukkan bahwa konsentrasi 5,2% tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada replikasi pertama, kedua, dan ketiga. Pertumbuhan bakteri ditemukan pada konsentrasi 5,2% pada replikasi pertama, kedua, dan ketiga sehingga dapat disimpulkan Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat adalah 6,25%.

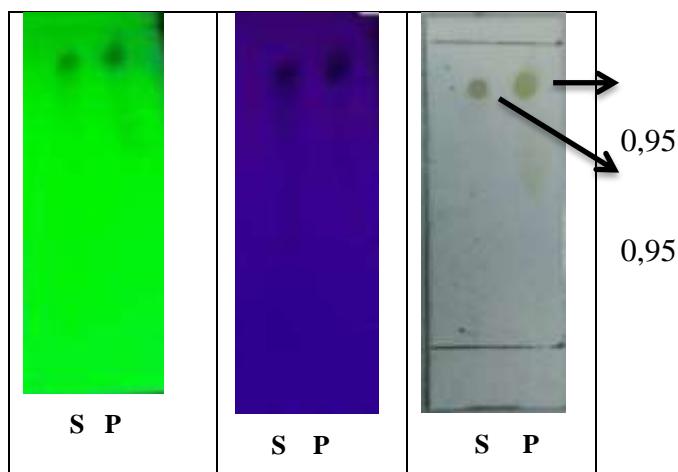
## 11. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat.

**11.1. Hasil identifikasi flavonoid.** Uji kandungan kimia golongan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform: etil asetat (6:4) dengan pereaksi semprot amoniak.

golongan senyawa flavonoid

UV <sub>254</sub>	UV <sub>366</sub>	Sitroborat
-------------------	-------------------	------------



**Gambar 11.** Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat daun alpukat pada fase diam silika gelGF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol (2:3)

**Keterangan :**

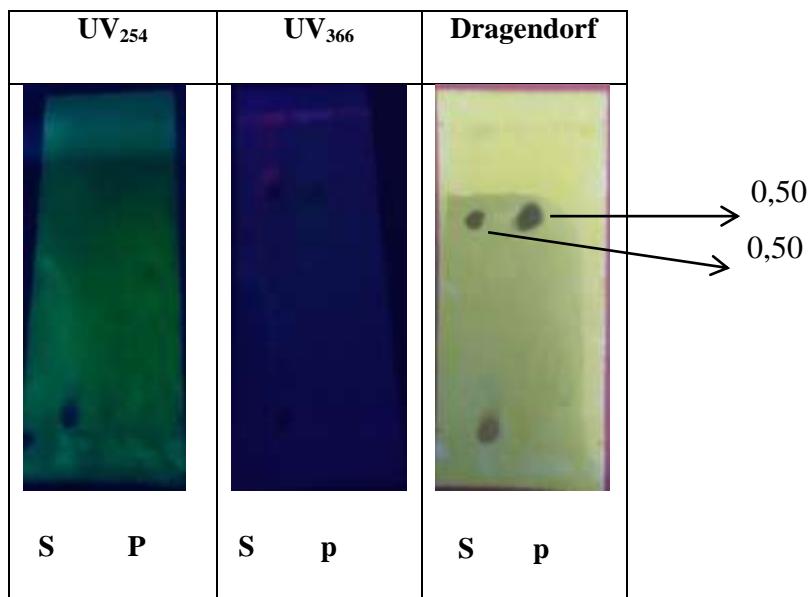
S : Sampel

P : kuersetin

Hasil identifikasi menunjukkan bercak senyawa flavonoid pada UV<sub>254</sub> memberikan peredaman, dan berwarna ungu gelap pada UV<sub>366</sub>. Nilai Rf bercak adalah 0,95 yang sama sama dengan pembanding kuersetin dengan nilai Rf 0,95 sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun alpukat positif mengandung flavonoid dari bercak pada lempeng KLT yang dilihat pada UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub> pereaksi semprot dan nilai Rf yang hampir sama dengan pembanding kuersetin.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid yang dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya. Terdenaturasinya protein dinding sel *Proteus mirabilis* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel, dan menyebabkan terganggunya proses metabolisme enzim serta penyerapan nutrisi (Parnoto *et al.* 2012). Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk kompleks protein yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Julianatina 2008).

**11.2. Hasil identifikasi alkaloid.** Uji kandungan kimia golongan alkaloid menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, dan fase geraknya yaitu kloroform:etanol (6:4) dengan pereaksi semprot yang digunakan adalah dragendorf.



**Gambar 12. Hasil identifikasi alkaloid fraksi etil asetat daun alpukat pada fase diam silika gelGF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform:metanol (2:3)**

**Keterangan :**

S : Sampel

P : Standar (rutin)

Hasil identifikasi menunjukkan bercak senyawa alkaloid pada UV<sub>254</sub> memberikan warna coklat kehitaman, dan berwarna hijau pada UV<sub>366</sub>. Setelah lempeng disemprot dengan pereaksi dragendorf terdapat bercak berwarna jingga yang dapat dilihat secara langsung. Bercak berwarna jingga ini menandakan adanya senyawa golongan alkaloid pada daun alpukat (Budiman *et al.* 2010). Harga R<sub>f</sub> yang didapatkan setelah dihitung adalah 0,50. Berdasarkan Harborne (1987) nilai R<sub>f</sub> 0,50 masuk dalam kisaran 12 alkaloid yang paling umum yaitu 0,07 - 0,62 sehingga dapat dinyatakan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun alpukat positif mengandung alkaloid dari bercak pada lempeng KLT yang dilihat pada UV<sub>254</sub>, dan pereaksi semprot. Menurut Utami (2013) Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri atau jamur maka bakteri tersebut akan rusak atau lisis.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun alpukat merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975

Ketiga, konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 adalah 5,20%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif yang lain selain *Proteus mirabilis* ATCC 10975, seperti *Salmonella*, *Escherichia Coli*, dan *Shigella*.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan yang dapat dikonsumsi, dan diaplikasikan dalam masyarakat, seperti membuat seidan tablet, kapsul, dan salep.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam farmakologi dengan menggunakan hewan uji seperti mecit terhadap fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) pada Infeksi saluran kemih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi S. 2014. Daya hambat ekstrak daun alpukat (*Persea americana*, Mill). Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis*. Surabaya: Universitas Hang Tuah
- Andy Chandra, Hie Maria Inggrid, Verawati “ Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat.” Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Katolik Parahyangan, 2013.
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, 1, 3, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makana Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Arifianti L., Oktaria R.D. and kusumawati I., 2014, Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi , *E-Journal Planta Husada*, 2 (1), 3-6
- Christianto CW, Nurwati D, Istiati. 2012. *Effect of The Antibacterial of AvocadoSeed Extract (Persea americana Mill) to Growth of Streptococcus Mutans*. *Media Oral Biology Dental Journal*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- [Depertemen Kesehatan RI]. 2000. *Invertaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Depertemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dalimarta S. 2008, *Atlas Tumbuhan Obat di Indonesia*. Jilid 5 Jakarta: Pustaka Bunda.
- Dewanti, S.and M.T Wahyudi. 2011. Antibacteri activity of bay leafinfuse (*folia Syzgium polyan thum* Wight) to *Escherichia coli* in-vitr. *J. Med. Planta*. 1 (4) :78-81
- Ditjen POM, Depkes RI, 2000,Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11,16.
- Evans WC. 2002. *Trease and Evans Pharmacognosy* Ed 15. Univesity of Nottingham UK: 334.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*, PT. Citra Aditya Bakti, Jakarta.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat (Farmakognosi)*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 13.

- Gunawan, I. W. A., 2009, Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* L)Sebagai Antibakteri *Salmonella thphimurium*, Skripsi , Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Denpasar.
- Harborne. JB. 1987, *Metode Fitokimia penentun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Pandmawinata k. Soediro I. Penerjemah. Niksolihim S, editor. Bandung: ITB
- Harminta RM. 2004. *Analisa Hayat*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia
- Hasibuan H. 2007. Pola Kuman Pada Urin Penderita Yang Menggunakan Kateter Uretra di Ruang Perawatan Intensif dan Bangsal bedah. Medan. Medan : Sub Dapertemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Herawati, D, Nuraida, L. , Sumarto, 2012, *Cara Produksi Simplisia yang Baik*, 10-11, Seafast Center IPB, Bogor.
- Hudiana. 2011. Efek Diuertik infusian Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wisata [KTI]. Yogyakarta: Politeknik Kesehatan Bhakti Setia.
- Hasibuan H.2007. *Pola Kuman Pada Urin Penderita Yang Menggunakan Kateter Uretra Di Ruang Perawatan Intensif Dan Bangsal Bedah*. Medan. Medan : Sub Departemen Bedah Urologi Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Ismiyati N. Trilestari. 2014. Pengembangan formulasi Masker Ekstrak Air Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* untuk Pengobatan jerawat. Yogyakarta: Poltekkes Bhakti Setya Indonesia.
- Katno, Kusumadewi AW, Sutjipto. 2008. Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadar tanin daun jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.). *JurnalTumbuhanObatIndonesia* 1: 38-46.
- Kumalasari,I. J. 2011. Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi Kulit dan Bongol Nanas (*Ananas sativus*). Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang.
- Kurniawan, A., 2011, *Proteus mirabilis*, (online), (<http://www.scribd.com/doc/49762885/proteus-mirabilis>, diakses tanggal 18 Agustus 2011).
- Lacy, F. G *et al.*, 2010. Drug Information Handbook. Edition 18. Lexi-comp.America.

- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoida , Fenil Propanioda, Alkaloid*, Medan: USU Repository.
- Marliana SD, Suryanti V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis Kromatografi Lapis Tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi* 3:26-31.
- Misnadiarly, Djajaningrat H. 2014. *Mikrobiologiuntuk klinik dan Laboratorium*. Jakarta: Rineka Cipta hlm 46
- Mufida, D.C., 2010. *Identifikasi Protein Hemagglutinin Pili Proteus P*. Jurnal Kesehatan Masyarakat Vol.7 No.2
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Snyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7(2) : 361-367
- Nimah S, Farid W, Trianto A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal jurusan Perikanan*. 1 (2).
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Oraganik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, Penerjemah; Sutomo T, editor. Bandung:ITB
- Rukmana HR. 1997. *Alpukat*. Yogyakarta : Kanisius hlm 17.
- Sarker, Satyajit D., Zahid Latif, & Alexander I. Gray (Ed). (2006). *Natural Products Isolation*. Totowa : Humana Press
- Sastrohamidjojo H. 1991. *Minyak atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada UniversityPress. hlm 13-14
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas sinar sinanti.
- Sumarno. 2000. *Kromatografi Teori Dasar*. Yogyakarta: bagian Kimia Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Tiwari P. Bimlesh K. Mandeep K., Gurpreet K., Harleen K 2011. *Skrinning Fitokimia dan Ekstrasi*. *Internationale Pharmaceutica Selencia*. 1 (1). Departemen Farmasi Ilmu Sekolah. Indah Ilmi Farmasi. Phagwara, punjab.
- Wijayakusuma M. 2000. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Pustaka Kartini

## Lampiran1. Determinasi daun alpukat


**SETIA BUDI**  
**UPT- LABORATORIUM**

No : 257/DET/UPT-LAB/10/III/2018  
 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Andreas Hiba M  
 NIM : 20144318 A  
 Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **APOKAT / *Persea americana* Mill.**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 15b. Golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163a – 164b – 165a. familia 52. Lauraceae. 1a – 2a. *Persea americana* Mill.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 3 – 10m.  
 Akar : Tunggang.  
 Batang : Bulat, percabangan monopodial, berkayu.  
 Daun : Daun tunggal, tersebar, bertangkai, berjejel-jejel pada ujung ranting, bulat tehr memanjang atau elips, ujung runcing, pangkal runcing, tepi rata, seperti kulit, waktu muda berambut rapat, kemudian gundul, panjang 10,1 – 14,7cm, lebar 5,2– 5,7cm, permukaan atas hijau tua, mengkilat, permukaan bawah hijau muda.  
 Bunga : Bunga aktinomorf, berkelamin 2, dalam malai yang bertangkai dan berbunga banyak, terdapat di dekat ujung ranting. Tenda bunga garis tengah 1 – 1,5 cm, putih kuning, berbau enak, berambut, dengan tabung pendek dan 6 taju yang terbentang. 3 taju terluar kecil, benang sari 12 dalam 4 lingkaran, 3 terdalam direduksi menjadi staminodia. Ruangsari 4. Staminodia oranye atau coklat.  
 Buah : Buni bentuk bola atau buah peer, panjang 5 – 20 cm, hijau atau hijau kuning.  
 Biji : Bentuk bola, coklat, garis tengah 2,5 – 5 cm.  
 Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): FLORA, PT PradnyaParamita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 10 Maret 2018

Determination


  
 Martinah Wijosoendjojo, SU

Jl. Let.Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-452548, Fax.0271-853375  
 Homepage : [www.setiabudi.ac.id](http://www.setiabudi.ac.id) e-mail : [info@setiabudi.ac.id](mailto:info@setiabudi.ac.id)

**Lampiran 2.Foto Tanaman Alpukat(*Persea americana* Mill.)**



**Gambar 13.Tanaman alpukat**



**Gambar 14.Daun alpukat**

**Lampiran 3.Foto ekstrak dan fraksi daun alpukat****Gambar 15. Ekstrak kental daun alpukat**

**Gambar 16. Fraksinasi ekstrak daun alpukat**

**Lampiran 4. Alat penelitian**



**Gambar 17. Alat *moisture balance***



**Gambar 18. Oven binder**



**Gambar 19. *Rotary evaporator***



**Gambar 20. *Autovortex***

**Lampiran 5. Foto uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia ekstrak daun alpukat**



**Gambar 21.Bebas etanol  
(reagen mayer)**



**Gambar 22.Flavonoid**



**Gambar 23.Alkaloid**



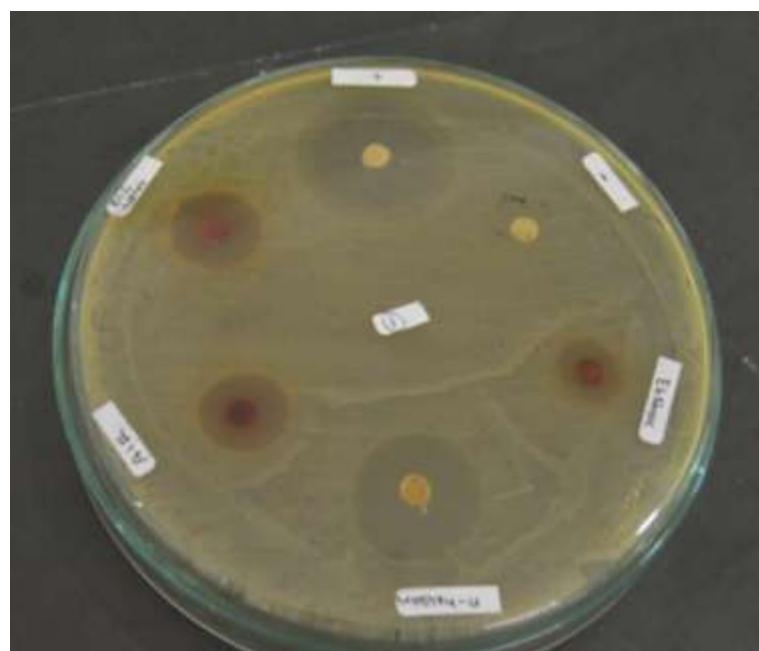
**Alkaloid**



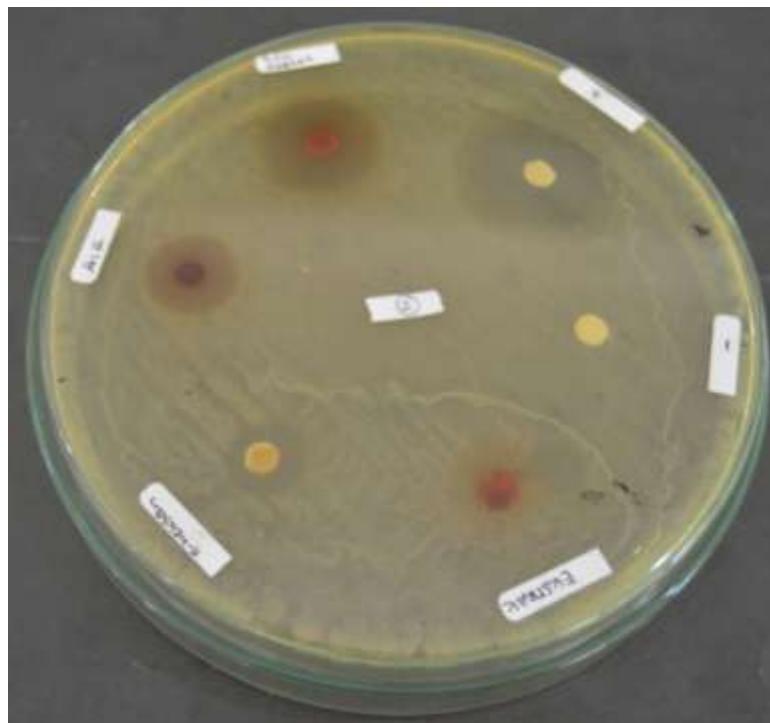
(reagen Drandrendrof)

## Saponin

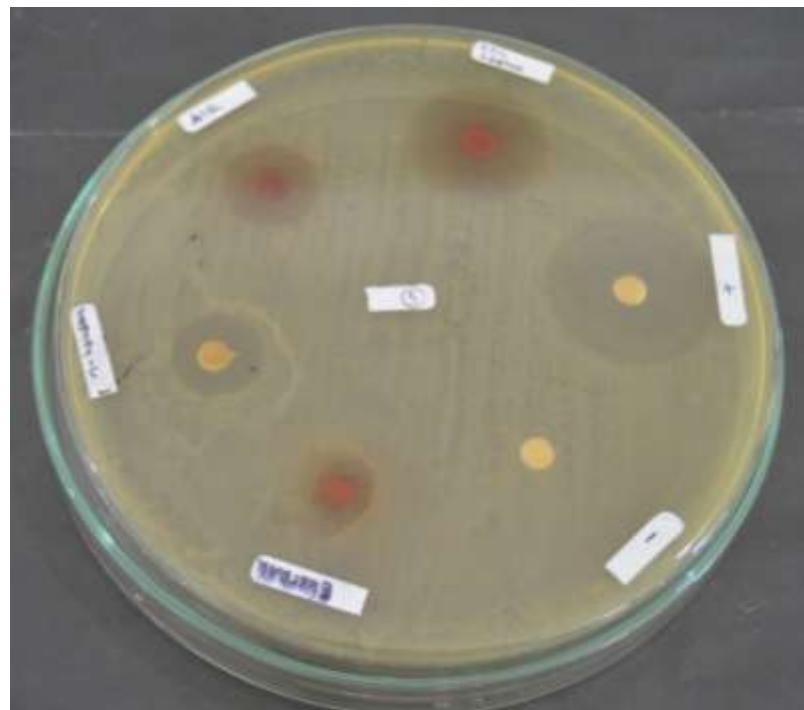
## Lampiran 6. Hasil uji antibakteri ekstrak dan fraksi daun alpukatterhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara difusi



Gambar 24. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 1)

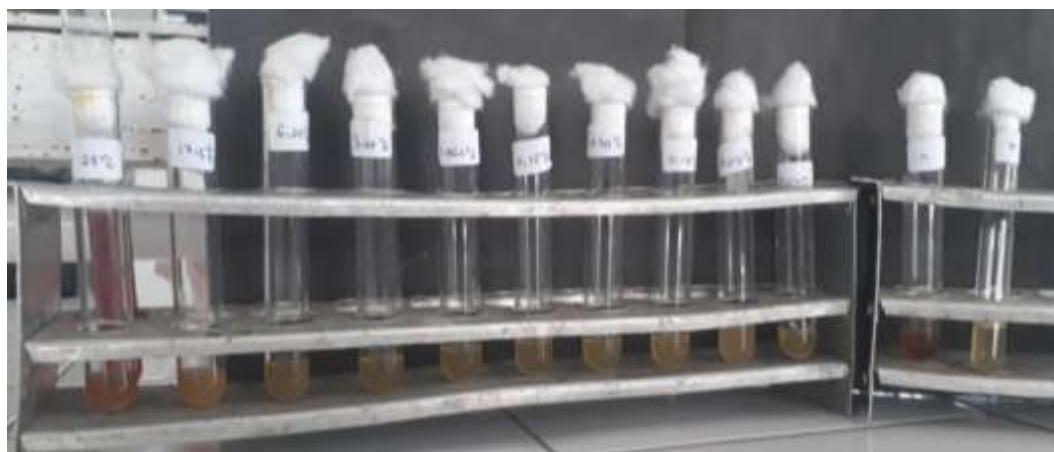


Gambar 25. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 2)

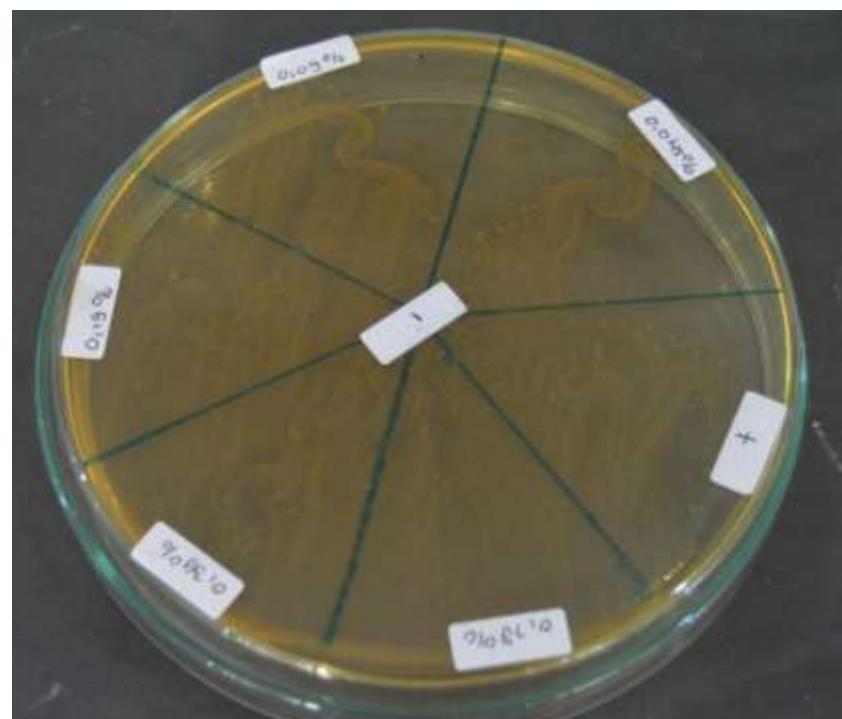


Gambar 26.Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi (replikasi 3)

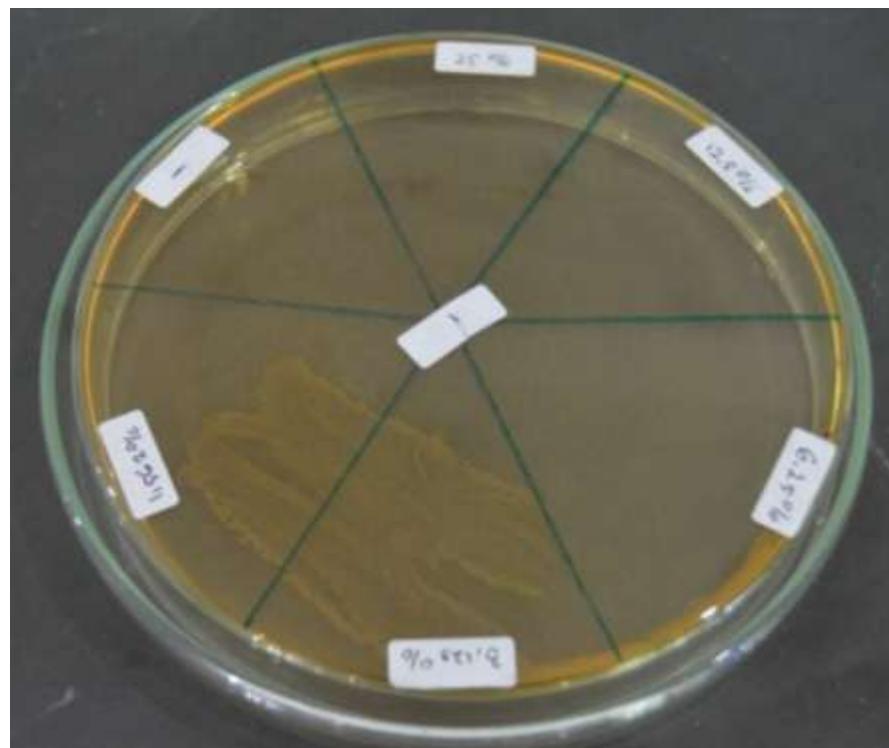
**Lampiran 7. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun alpukat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 secara dilusi**



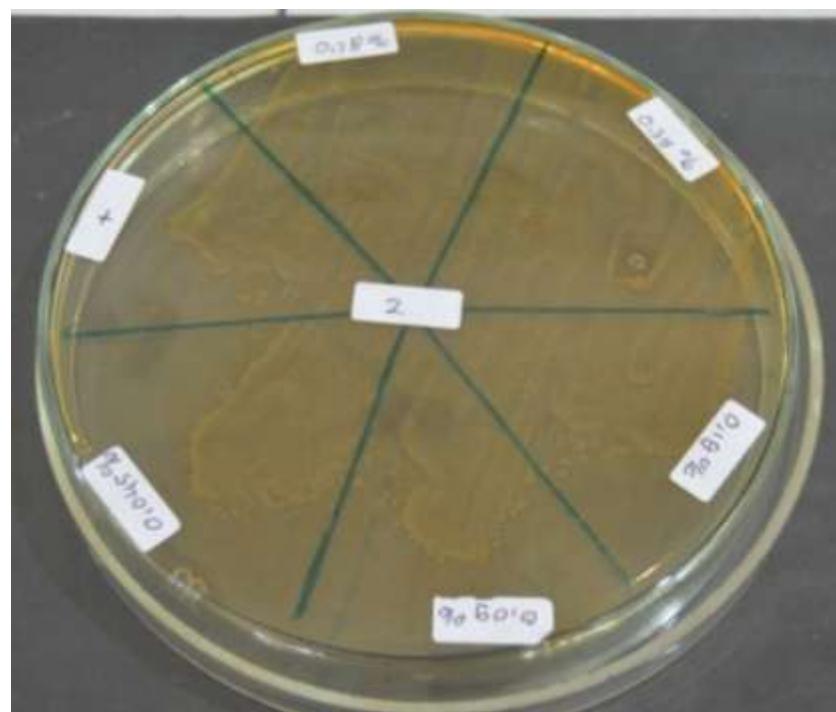
**Gambar 27.Pengenceran tabung fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975**



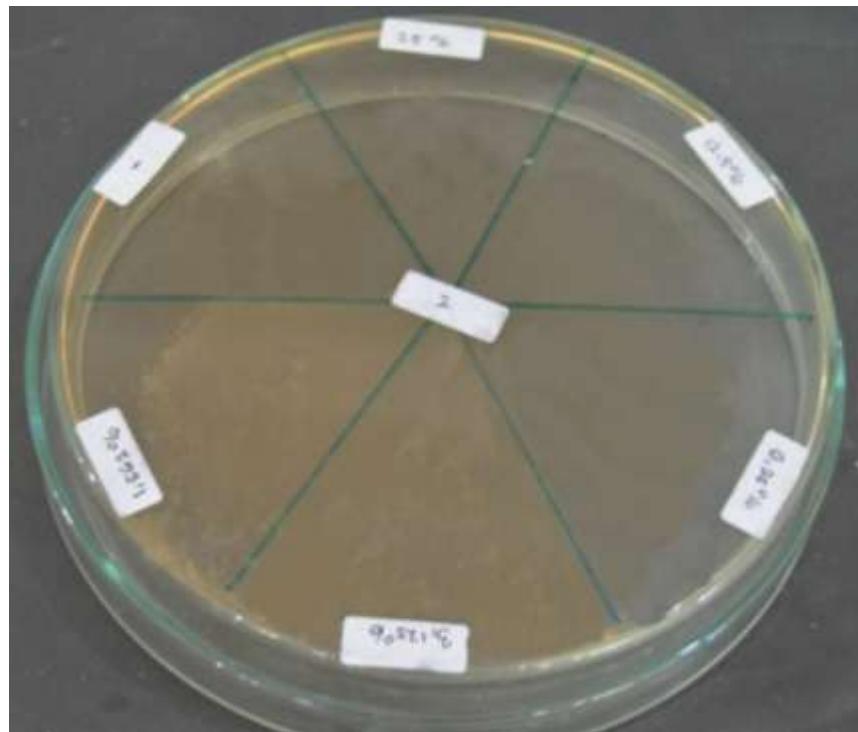
**Gambar 28.Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 1)**



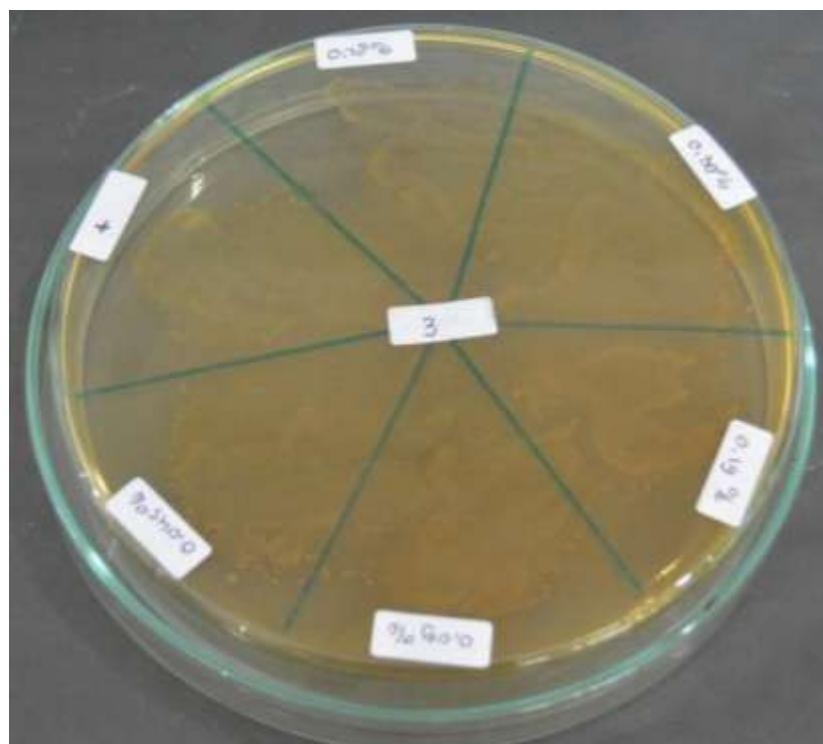
Gambar 29. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 1)



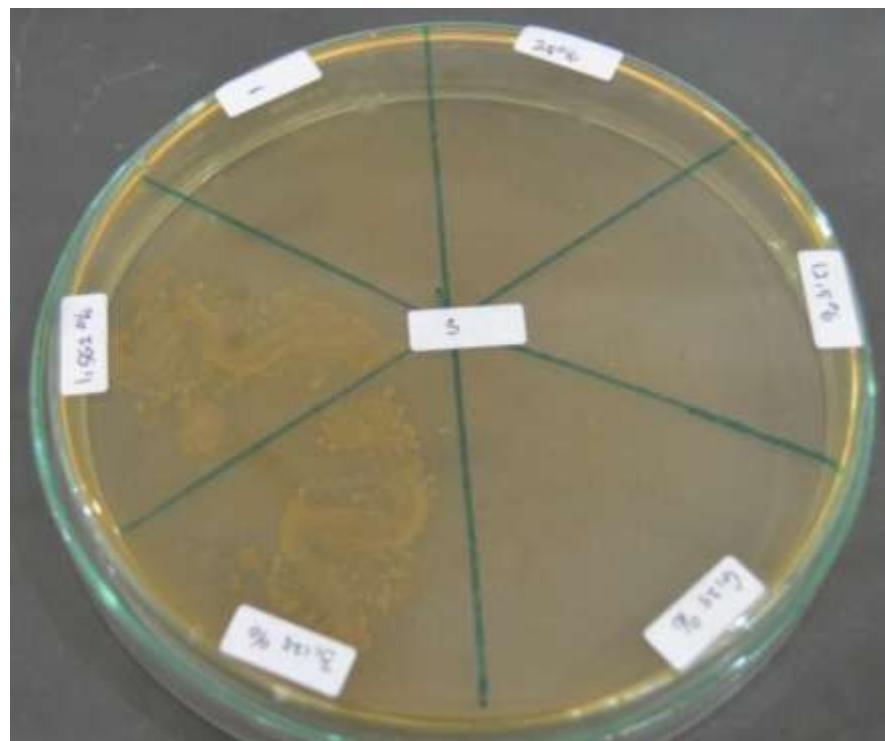
Gambar 30. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 2)



Gambar 31. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 2)



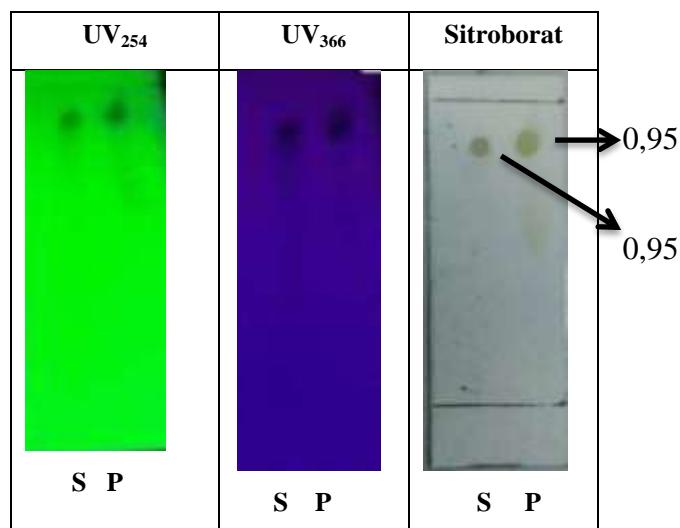
Gambar 32. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 3)



Gambar 33. Inolulasi fraksi etil asetat terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (replikasi 3)

### Lampiran 8. Hasil uji KLT fraksi teraktif etil asetat dan perhitungan Rf

1. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) golongan senyawa flavonoid

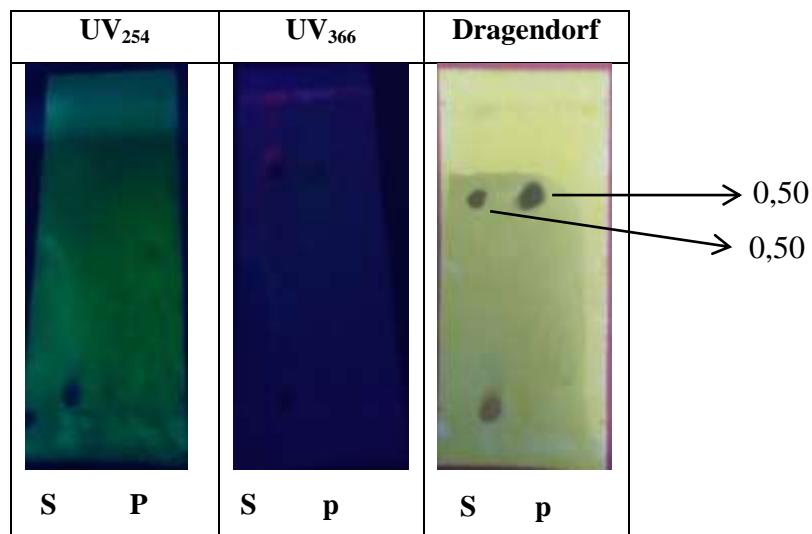


Keterangan:

S : Sampel

P : Standar

2. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) golongan senyawa alkaloid



### Perhitungan Rf

$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari awal totolan}}{\text{jarak elusi}}$$

#### a. Flavonoid

$$Rf \text{ quersetin} = \frac{6,3}{6,6} = 0,95$$

$$Rf \text{ sampel} = \frac{6,3}{6,6} = 0,95$$

#### b. Alkaloid

$$Rf \text{ quersetin} = \frac{6,3}{6,5} = 0,50$$

$$Rf \text{ sampel} = \frac{3,3}{6,5} = 0,50$$

**Lampiran 9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah**

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
5000	1760	35,20

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah:

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

$$\% \text{ bobot kering} = \frac{1000 \text{ (g)}}{4000 \text{ (g)}} \times 100\% = 25\%$$

Maka persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 25 %.

**Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.)**

Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun alpukat

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
500	60	12

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

$$= \frac{12 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 12\%$$

**Lampiran 11. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.)**

Rendemen hasil fraksinasi *n*-heksan daun alpukat

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10,00	1,13	11,3
10,00	1,12	11,2
10,00	1,13	11,3
Percentase rendemen rata-rata		11,2

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{1,13 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,3 \%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,12 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,2 \%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,13 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 11,3\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 11,12%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan:

$x$  = persentase

$\bar{x}$  = rata-rata persentase

$n$  = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah  $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$ ,  $\bar{x}$  adalah data yang dicurigai.

$x$	$\bar{x}$	$d =  x - \bar{x} $	$d^2$
11,3		0,1	0,01
11,2		0	0
11,3	11,2	0,1	0,01
$\Sigma = 0,01$			

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{0,01}{3-1}}$$

$$\text{SD} = 0,07$$

$$2\text{SD} = 0,14$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{11,3+11,3}{2} = 11,3$$

Data ditolak apabila  $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$ , yang dicurigai  $|11,2 - 11,3| = 0,1 < 2\text{SD}$  maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi  $n$ -heksan dari daun alpukat adalah

$$\frac{11,3+11,2+11,3}{3} = 11,2 \% \text{ b/b}$$

**Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.)**

**Rendemen hasil fraksinasi etil asetat daun alpukat**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10,00	1,98	19,8
10,00	1,97	19,7
10,00	1,98	19,8
Percentase rendemen rata-rata		19,8

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{1,98 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 19,8\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{1,97 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 19,7\%$$

$$\% \text{ Rendemen III} = \frac{1,98 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 19,8\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 19,7%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan:

$x$  = persentase

$\bar{x}$  = rata-rata persentase

$n$  = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah  $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$ ,  $\bar{x}$  adalah data yang dicurigai.

$x$	$\bar{x}$	$d =  x - \bar{x} $	$d^2$
19,8		0	0
19,7	19,8	0,1	0,01
19,8		0	0
$\Sigma = 0,01$			

$$SD = \sqrt{\frac{0,01}{3-1}}$$

$$SD = 0,07$$

$$2SD = 0,14$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{19,8+19,8}{2} = 19,8$$

Data ditolak apabila  $|x - \bar{x}| > 2 SD$ , yang dicurigai  $|19,8 - 19,7| = 0,1 < 2SD$  maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat dari daun alpukat adalah

$$\frac{19,8 + 19,7 + 19,8}{3} = 19,8\% \text{ b/b}$$

**Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi air dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.)**

**Rendemen hasil fraksinasi air daun alpukat**

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (% b/b)
10,00	2,78	27,8
10,00	2,78	27,8
10,00	2,77	27,7
Percentase rendemen rata-rata		27,8

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

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{2,78 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 27,8\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{2,78 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 27,8\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{2,77 \text{ g}}{10,00 \text{ g}} \times 100\% = 27,7\%$$

Dari ketiga data persentase rendemen di atas, terdapat data yang dicurigai yaitu 27,8%.

Analisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Keterangan:

$x$  = persentase

$\bar{x}$  = rata-rata persentase

$n$  = banyaknya perlakuan

SD = Standar Deviasi

Kriteria penolakan Standar Deviasi adalah  $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$ ,  $\bar{x}$  adalah data yang dicurigai.

$x$	$\bar{x}$	$d =  x - \bar{x} $	$d^2$
27,8		0	0
27,8	27,8	0	0
27,7		0,1	0,01
$\Sigma = 0,01$			

$$SD = \sqrt{\frac{0,01}{3-1}}$$

$$SD = 0,07$$

$$2SD = 0,14$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{27,8 + 27,8}{2} = 27,8$$

Data ditolak apabila  $|x - \bar{x}| > 2 \text{ SD}$ , yang dicurigai  $|27,8 - 27,7| = 0,1 < 2\text{SD}$  maka data diterima.

Persentase rata-rata rendemen fraksi air dari daun alpukat adalah

$$\frac{27,8 + 27,8 + 27,7}{3} = 27,8 \text{ % b/b}$$

## Lampiran 14. Pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi

### Pembuatan stok difusi

Ekstrak dan fraksi daun alpukat

Pembuatan konsentrasi 25%

Ditimbang 1 gram ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam vial, kemudian tambahkan DMSO 1% ad 3 mL

### Pembuatan stok dilusi

No	Konsentrasi (%)	V1 (mL)	C1 (%)	V2 (mL)	C2 (%)	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 mL larutan stok
2	50	-	-	-	-	0,5 mL larutan stok
3	25	0,5	50	1	25	0,5 mL lar. stok + BHI ad 1mL
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 mL tabung 3 + BHI ad 1 mL
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 mL tabung 4 + BHI ad 1 mL
6	3,12	0,5	6,25	1	3,12	0,5 mL tabung 5 + BHI ad 1 mL
7	1,56	0,5	3,12	1	1,56	0,5 mL tabung 6 + BHI ad 1 mL
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 mL tabung 7 + BHI ad 1 mL
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 mL tabung 8 + BHI ad 1 mL
10	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 mL tabung 9 + BHI ad 1 mL
11	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 mL tabung 10 + BHI ad 1 mL

Keterangan :

Tabung 1 = Kontrol (-)

Tabung 3 = Konsentrasi 25%

$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$V1 \cdot 50\% = 1 \cdot 25\%$

$$V1 = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V1 = 0,5$$

Tabung 11 dengan konsentrasi 0,09% dipipet 0,5 mL dari tabung 10 ditambah BHI sampai 1 mL, lalu dihomogenkan dan dibuang 0,5 mL.

Tabung 12 = kontrol (+) suspensi bakteri 0,5 mL + BHI 0,5 mL

Tabung 2 – 11 ditambah suspensi bakteri 0,5 mL

### Lampiran 15. Formulaasi dan pembuatan media

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

Infus dari otak sapi	200,0 gram
Infus dari hati sapi	250,0 gram
Protease peptone	10,0 gram
Dektrosa	2,0 gram
NaCl	5,0 gram
Dinatrium fosfat	5,0 gram
Aquadestilata ad	1000,0 mL
pH	7,4

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sebanyak 1000 mL dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

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

Beef, dehydrated infusion from	300,0 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar-agar	17,0 gram
Aquade tilata ad	1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

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

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

pH  $7,3 \pm 0,1$

Aquadestilata ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Meat extract 3,0 gram

Yeast extract 3,0 gram

Peptone from casein 15,0 gram

Peptone from meat 5,0 gram

Lactose 10,0 gram

D(+) glucose 1,0 gram

Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram

Sodium chloride 5,0 gram

Sodium thiosulfate 0,5 gram

Phenol red 0,024 gram

Agar-agar 12,0 gram

pH  $7,4 \pm 0,1$

Aquadestilata ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

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

Peptone from meat 5,0 gram

Yeast extract 3,0 gram

D(+) glucose 1,0 gram

L-lysine monohydrochloride 10,0 gram

Sodium thiosulfate 0,04 gram

Ammonium iron (III) citrate 0,5 gram

Bromocresol purple 0,02 gram

Agar-agar 12,5 gram

pH 6,7 ± 0,1

Aquadestilata ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

#### 6. Formulasi dan pembuatan Citrat

Ammonium dihydrogen phosphate 1,0 gram

di-potassium hydrogen phosphate 1,0 gram

Sodium chloride 5,0 gram

Sodium citrate 2,0 gram

Magnesium sulfate 0,2 gram

Bromothymol blue 0,08 gram

Agar-agar 12,0 gram

pH 6,9 ± 0,1

Aquadestilata ad 1000 mL

Semua bahan dilarutkan dalam aquadestilata sampai 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

#### 7. Formulasi dan pembuatan media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA)

Pepton (pancreatic digest of gelatin) 17 gram

Proteose peptone (meat and casein) 3 gram

Lactose monohydrate 10 gram

Bile salts 1,5 gram

Sodium chloride 5 gram

Neutral red 0,03 gram

Crystal Vioelet 0,001 gram

Agar 13,5 gram

Cara pembuatan :

1. Ditimbang bahan media MCA 45,3 gram
2. Dimasukan ke dalam erlemenyer kemudian ditambah akuadest sampai volume 1 literl
3. Dipanaskan medium sampai larut sempurna dengan menggunakan *hot plate*, biarkan mendidih selama 3 menit. Perlakuan pemanasan harus disertai agitasi (pengadukan)
4. Dibagikan dalam tabung reaksi secara aseptis, tiap tabung sebanyak 10 ml.  
Sumbatlah mulut tabung dengan kapas sampai rapat

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	15	3,00	1,464	1	5
DIAMETER	15	23,40	6,749	11	33

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Ekstrak etanol, fraksi n- heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	DIAMETER
N		15	15
Normal Parameters(a,b)	Mean	3,00	23,40
	Std. Deviation	1,464	6,749
Most Extreme Differences	Absolute	,153	,172
	Positive	,153	,172
	Negative	-,153	-,152
Kolmogorov-Smirnov Z		,592	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)		,875	,765

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

## Oneway

### Descriptives

#### DIAMETER

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ekstrak etanol 50%	3	16,33	5,033	2,906	3,83	28,84	11	21
Fraksi n-heksan 50%	3	21,00	6,557	3,786	4,71	37,29	15	28
fraksi etil asetat 50%	3	27,33	2,082	1,202	22,16	32,50	25	29
Fraksi air 50%	3	20,00	1,000	,577	17,52	22,48	19	21
amoksisilin	3	32,33	1,155	,667	29,46	35,20	31	33
Total	15	23,40	6,749	1,742	19,66	27,14	11	33

### Test of Homogeneity of Variances

#### DIAMETER

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,596	4	10	,101

#### ANOVA

#### DIAMETER

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	487,600	4	121,900	8,127	,003
Within Groups	150,000	10	15,000		
Total	637,600	14			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIAMETER

		(I) Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	(J) Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	Fraksi etil asetat 50%	-4,67	3,162	,598	-15,07	5,74
		Fraksi air 50%	Fraksi etil asetat 50%	-11,00(*)	3,162	,037	-21,41	-,59
		Amoksisilin	Fraksi air 50%	-3,67	3,162	,773	-14,07	6,74
		Fraksi etil asetat 50%	Amoksisilin	-16,00(*)	3,162	,003	-26,41	-5,59
	Fraksi n-heksan 50%	Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	4,67	3,162	,598	-5,74	15,07
		fraksi etil asetat 50%	Fraksi etil asetat 50%	-6,33	3,162	,330	-16,74	4,07
		Fraksi air 50%	Fraksi air 50%	1,00	3,162	,997	-9,41	11,41
		Amoksisilin	Amoksisilin	-11,33(*)	3,162	,032	-21,74	-,93
	fraksi etil asetat 50%	Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	11,00(*)	3,162	,037	,59	21,41
		Fraksi etil asetat 50%	Fraksi etil asetat 50%	6,33	3,162	,330	-4,07	16,74
		Fraksi air 50%	Fraksi air 50%	7,33	3,162	,216	-3,07	17,74
		Amoksisilin	Amoksisilin	-5,00	3,162	,539	-15,41	5,41
	Fraksi air 50%	Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	3,67	3,162	,773	-6,74	14,07
		Fraksi etil asetat 50%	Fraksi etil asetat 50%	-1,00	3,162	,997	-11,41	9,41
		Amoksisilin	Amoksisilin	-7,33	3,162	,216	-17,74	3,07
		Ekstrak etanol 50%	Amoksisilin	-12,33(*)	3,162	,019	-22,74	-1,93
	amoksisilin	Ekstrak etanol 50%	Ekstrak etanol 50%	16,00(*)	3,162	,003	5,59	26,41

Bonferroni	Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	11,33(*)	3,162	,032	,93	21,74
		fraksi etil asetat 50%	5,00	3,162	,539	-5,41	15,41
		Fraksi air 50%	12,33(*)	3,162	,019	1,93	22,74
		Fraksi n-heksan 50%	-4,67	3,162	1,000	-15,99	6,66
		fraksi etil asetat 50%	-11,00	3,162	,059	-22,33	,33
	Fraksi n-heksan 50%	Fraksi air 50%	-3,67	3,162	1,000	-14,99	7,66
		Amoksisilin	-16,00(*)	3,162	,005	-27,33	-4,67
		Ekstrak etanol 50%	4,67	3,162	1,000	-6,66	15,99
		fraksi etil asetat 50%	-6,33	3,162	,730	-17,66	4,99
		Fraksi air 50%	1,00	3,162	1,000	-10,33	12,33
Fraksi air 50%	fraksi etil asetat 50%	Amoksisilin	-11,33(*)	3,162	,050	-22,66	-,01
		Ekstrak etanol 50%	11,00	3,162	,059	-,33	22,33
		Fraksi n-heksan 50%	6,33	3,162	,730	-4,99	17,66
		Fraksi air 50%	7,33	3,162	,428	-3,99	18,66
		Amoksisilin	-5,00	3,162	1,000	-16,33	6,33
	amoksisilin	Ekstrak etanol 50%	3,67	3,162	1,000	-7,66	14,99
		Fraksi n-heksan 50%	-1,00	3,162	1,000	-12,33	10,33
		fraksi etil asetat 50%	-7,33	3,162	,428	-18,66	3,99
		Amoksisilin	-12,33(*)	3,162	,030	-23,66	-1,01
		Ekstrak etanol 50%	16,00(*)	3,162	,005	4,67	27,33

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

## Homogeneous Subsets

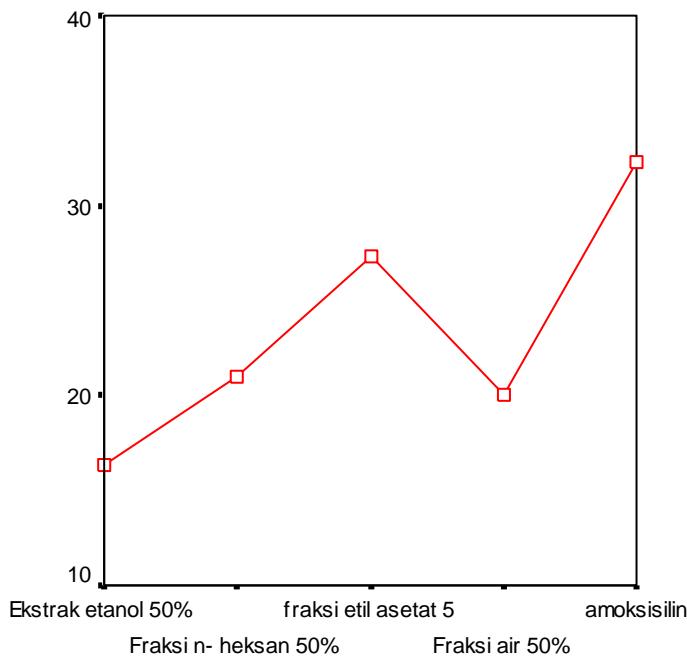
### DIAMETER

	Ekstrak etanol, fraksi n- heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD(a)	Ekstrak etanol 50%	3	16,33		
	Fraksi air 50%	3	20,00	20,00	
	Fraksi n- heksan 50%	3	21,00	21,00	
	fraksi etil asetat 50%	3		27,33	27,33
	amoksisilin	3			32,33
	Sig.		,598	,216	,539

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

## Means Plots



Ekstrak etanol, fraksi n- heksan, fraksi etil asetat,