

**OPTIMASI FRAKSI BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh:

LUCIANA DEWI KHABIBAH

1713206018

**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARYA PUTRA
BANGSA TULUNGAGUNG**

2021

**OPTIMASI FRAKSI BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
SECARA *IN VITRO*
SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

LUCIANA DEWI KHABIBAH

1713206018

**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARYA PUTRA
BANGSA TULUNGAGUNG
2021**

**OPTIMASI FRAKSI BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

LUCIANA DEWI KHABIBAH

1713206018

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Apt. Choirul Huda, M.Farm.
NIDN. 07.26.03.85.02

Apt. Amalia Eka P, M.Farm.
NIDN 07.28.12.92.01

**OPTIMASI FRAKSI BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

LUCIANA DEWI KHABIBAH

1713206018

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 27 Juli 2021

Ketua Penguji	: Apt. Choirul Huda, M.Farm.	()
Anggota Penguji	: 1. Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm.	()
	2. Apt. Alfian Syarifuddin, M.Farm.	()
	3. Fatimah M.Biotech	()

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

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

Tulungagung, Juli 2021

Luciana Dewi Khabibah

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena dengan rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan proposal tentang “**Optimasi Fraksi Biji Ketumbar (*Coriandrum Sativum L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara *In Vitro***” dengan baik meskipun banyak kekurangan didalamnya.

Penyelesaian proposal ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk melakukan tugas akhir untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada program Sarjana Farmasi STIKes Kaya Putra Bangsa Tulungagung. Penulis menyadari bahwa selama masa perkuliahan hingga penelitian dan penyusunan proposal ini telah memperoleh bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak apt. Choirul Huda., M.Farm yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan proposal penelitian ini.
2. Ibu apt. Amalia Eka P., M.Farm yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan proposal penelitian ini.
3. Kepada Ayah dan Ibu tercinta yang telah membuat penulis hingga tahap ini, terimakasih atas doa dan dukungan baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian ini.
4. Kepada teman-teman S1 Farmasi Angkatan 2017 yang selalu Bersama baik suka maupun duka selama 4 tahun ini telah membantu memberikan masukan hingga proposal penelitian ini terselesaikan. Khusus Tim Departemen Bahan Alam terimakasih telah memberikan semangat dan dukungan.
5. Kepada sahabatku tercinta Roisatul, Sinta, Natasha, Jihan, dan teman-teman lainnya yang tidak disebutkan satu-satu yang memberikan doa dan dukungan dan semangat kepada penulis.
6. Kepada Pandi Iskandar Tumvila terimakasih telah membantu serta mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan doa, dukungan dan semangat kepada penulis selama penyusunan proposal ini.
7. Kepada diri saya sendiri terimakasih telah mau dan mampu bertahan, berjuang sejauh ini, terimakasih untuk tetap kuat dengan segala hal.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan proposal ini masih memiliki banyak kekurangan, oleh karena itu sangat diharapkan kritikan dan saran yang dapat menyempurnakan proposal ini.

Tulungagung, Juli 2021

Penulis

Luciana Dewi Khabibah

**OPTIMASI FRAKSI BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VITRO***

Luciana Dewi Khabibah

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman tumbuhan, terdapat sekitar 7.000 spesies memiliki khasiat obat, salah satunya yaitu ketumbar (*Coriandrum sativum L.*). Ketumbar memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit jika telah mencapai jumlah 10,6 per gram. Dalam beberapa dekade belakangan, infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* terus meningkat, di Indonesia pada tahun 2011 prevalensinya mencapai 28% dari keseluruhan kasus infeksi *Staphylococcus aureus*. Pengobatan infeksi biasanya menggunakan antibiotik namun penggunaannya menjadi tidak rasional dewasa ini menyebabkan munculnya strain bakteri yang resistan sehingga diperlukan alternatif lain seperti pemanfaatan bahan aktif antibakteri dari tanaman obat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel biji ketumbar diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% dilanjutkan fraksinasi menggunakan tiga pelarut yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n- heksan. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun biji ketumbar menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 5%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar menunjukkan bahwa fraksi n-heksan merupakan fraksi yang paling poten dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat sebesar $22,33 \pm 0,76$.

Kata kunci: Antibakteri, Biji Ketumbar, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fraksinasi

OPTIMIZATION THE FRACTION OF Coriander Seeds (*Coriandrum sativum* L.) ON BACTERIA *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 IN VITRO

Luciana Dewi Khabibah

Pharmacy Study Program S1

ABSTRACT

Indonesia is one of the countries in the world that has a diversity of plants, there are about 7,000 species that have medicinal properties. One of these plants is *Coriandrum Sativum* L, which is called coriander. Coriander has various secondary metabolites that can be used as antibacterial against *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* can cause disease if it has reached the number of 10,6 per gram. In recent decades, *Staphylococcus aureus* infections have continued to increase. In Indonesia, the prevalence reached 28% of all cases of *Staphylococcus aureus* infection in 2011. Treatment of infection usually uses antibiotics, but the current use is irrational, causing the emergence of resistant bacterial strains so that other alternatives are needed such as the use of antibacterial active ingredients from medicinal plants. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the extract and fraction of coriander seeds against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Experimental research was used in this study. Samples of coriander seeds were extracted using maceration method with 96% ethanol followed by fractionation using three solvents, namely aquadestilata, dichloromethane, and n-hexane. Antibacterial activity test of extracts and fractions of coriander seeds using disc diffusion method with a concentration of 5%. The results of the antibacterial activity test between the extract and the coriander seed fraction showed that the n-hexane fraction was the most potent fraction in inhibiting *staphylococcus aureus* bacteria with an average bland zone of 22.33 ± 0.76 .

Keywords: Antibacterial, *Coriandrum sativum* L, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fractionation

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Makalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Biji Ketumbar (<i>Corinadrum sativum L.</i>).....	4
2.2 Simplisia	8
2.3 Ekstrak	13
2.4 Pelarut Ekstraksi	16
2.5 Bakteri.....	18
2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	23
2.7 Antibiotik Vancomycin.....	26
2.8 Hipotesis Penelitian	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1 Bahan	28
3.2 Alat.....	28
3.3 Populasi Penelitian.....	28
3.4 Sampel Penelitian.....	28

3.5 Variabel Penelitian.....	28
3.6 Metode Penelitian	29
3.7 Pembuatan Larutan Kontrol.....	34
3.8 Analisa Data.....	37
3.9 Kerangka Penelitian	40
3.10 Jadwal Penelitian	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Determinasi Tanaman	41
4.2 Uji kadar air simplisia	41
4.3 Pembuatan Ekstrak Biji Ketumbar.....	42
4.4 Fraksinasi Biji Ketumbar	43
4.5 Skrining Fitokimia	44
4.6 Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	47
4.7 Uji aktivitas antibakteri.....	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	27
Tabel 3.1 Kategori respon hambatan	37
Tabel 3.2 Jadwal Penelitian.....	40
Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Biji Ketumbar	42
Tabel 4.2 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Ketumbar	43
Tabel 4.3 Hasil Fraksinasi Biji Ketumbar.....	44
Tabel 4.4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Ketumbar.....	45
Tabel 4.5 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Biji Ketumbar.....	46
Tabel 4.6 Hasil Identifikasi Bakteri	48
Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Orientasi Biji Ketumbar.....	51
Tabel 4.8 Hasil <i>Post Hoc</i> Orientasi Ekstrak Ketumbar.....	52
Tabel 4.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ketumbar 5%.....	54
Tabel 4.10 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar.....	56
Tabel 4.11 Hasil <i>Post Hoc</i> perbandingan ekstrak dan fraksi biji ketumbar	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biji Ketumbar (<i>Coriandrum sativum L</i>)	5
--	---

Gambar 2.2 Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i>	9
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian	39
Gambar 4.1 Proses Fraksinasi	43
Gambar 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Ketumbar	44
Gambar 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Biji Ketumbar	45
Gambar 4.4 Hasil Uji Identifikasi Bakteri <i>Staphypococcus Aureus</i>	47
Gambar 4.5 Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak biji ketumbar.....	49
Gambar 4.6 Diagram rata-rata diameter zona hambat orientasi ekstrak	50
Gambar 4.7 Diagram rata-rata diameter zona hambat ekstrak 5%	54
Gambar 4.8 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak ketumbar 5%.....	52
Gambar 4.9 Diagram rata Diagram rata-rata diameter zona hambat fraksi	56
Gambar 4.7 Hasil uji antibakteri fraksi biji ketumbar 5%	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Biji Ketumbar (<i>Corinadrum Sativum L</i>).....	74
--	----

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	69
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media.....	75
Lampiran 4. Perhitungan Hasil	75
Lampiran 5. Pembuatan Seri Konsentrasi.....	76
Lampiran 6. Analisis Statistika Statistika Orientasi Ekstrak	77
Lampiran 7. Analisis Statistika Statistika Ekstrak dan Fraksi	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman tumbuhan di dunia. Indonesia merupakan negara kepulauan yang sangat luas, mempunyai kurang lebih 35.000 pulau besar dan kecil dengan keanekaragaman jenis flora dan fauna yang sangat tinggi (Oktiarni *et al.*, 2012). Di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tanaman, dimana 7.000 spesies diantaranya memiliki khasiat obat (Jumiarni and Komalasari (2017). Pemanfaatan tanaman obat merupakan strategi untuk pencegahan dan pengobatan suatu penyakit maupun pemeliharaan kesehatan. Tumbuhan menyuplai banyak senyawa yang berpotensi sebagai obat, terutama antibakteri. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah ketumbar (Astuti and Rosyana, 2013).

Ketumbar (*Coriandrum sativum L*) adalah salah satu rempah yang umum digunakan sebagai bumbu masakan. Namun dapat dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat (Yulia *et al.*, 2020). Ketumbar memiliki fungsi dalam pengobatan yaitu: pada kasus hipoglikemi, anti inflamasi, hipolipidemi, antioksidan, anti diabetik dan aktifitas antibakteri dan jamur (Intan Mariam, 2015). Berdasarkan pengujian skrining fitokimia oleh Huljani and Ahsanunnisa (2019) biji ketumbar diketahui terdapat senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, steroid, dan alkaloid. Didalam biji ketumbar terdapat senyawa terpenoid golongan monoterpen asiklik yaitu linalool (Iswara *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sepriani *et al.*, 2020).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri Gram positif yang termasuk flora normal pada kulit (Foster *et al.*, 2014). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit jika telah mencapai jumlah 10,6 per gram. Dalam beberapa dekade belakangan, infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* terus meningkat di berbagai belahan dunia di Asia prevalensi infeksi *Staphylococcus*

aureus kini mencapai 70% (Sulistiyarningsih, 2010). Sementara di Indonesia pada tahun 2011 prevalensinya mencapai 28% dari seluruh kasus infeksi *S. aureus* (Chen and Huang, 2014). Di RS Saiful Anwar Malang, dilaporkan pada tahun 2012 prevalensinya mencapai (45,3%) (Erikawati *et al.*, 2016). Sekitar 40% bakteri *s.aureus* yang diisolasi di rumah sakit, diketahui resisten terhadap antibiotik turunan β -laktam (Suyasa and Mastra, 2020).

Terapi pengobatan akibat infeksi *Staphylococcus aureus* umumnya menggunakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri tersebut (Suyasa and Mastra, 2020). Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dewasa ini menyebabkan munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik yang mempersulit proses pengobatan sehingga infeksi terus menyebar (Madigan *et al.*, 2012). Sehingga diperlukan pengembangan penelitian mengenai penemuan obat baru yang berasal dari bahan alam untuk meminimiliasir efek samping seperti yang dapat ditimbulkan dari penggunaan antibiotik atau zat aktif lain (Ariani and Norjannah, 2017). Biji ketumbar mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antibakteri seperti flavonoid, tanin, terpenoid, saponin (Hasanah and Dori, 2019). Proses pengambilan senyawa aktif di dalam biji ketumbar dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserat yang dihasilkan merupakan campuran dari berbagai senyawa. Oleh karena itu, diperlukan fraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan lainnya (Huda *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hapsari *et al.* (2016) yang telah menguji aktifitas antibakteri dari ekstrak biji ketumbar terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 4% , 8% dan 10% berturut turut menghasilkan zona hambat 1.083 cm, 1.126 cm dan 1.146 cm yang termasuk dalam kategori kuat. Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak dan fraksi biji ketumbar memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*?
- 1.2.2 Manakah aktivitas antibakteri antara ekstrak dengan fraksi biji ketumbar yang memiliki zona hambat paling kuat terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*.
- 1.3.2 Mengetahui aktivitas antibakteri antara ekstrak dengan fraksi biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) yang memiliki zona hambat paling kuat dalam menghambat bakteri *Staphylococcus Aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Bagi Masyarakat
Dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L) dapat digunakan sebagai antibakteri.
- 1.4.2 Bagi Intasi Kesehatan
Sebagai referensi untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru dengan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder dari tanaman.
- 1.4.3 Bagi Instansi Pendidikan
Dapat menjadi bahan informasi dan pengembangan untuk penelitian-penelitian selanjutnya.
- 1.4.4 Bagi Peneliti
Sebagai penambah informasi tentang obat tradisional khususnya manfaat biji ketumbar sebagai antibakteri serta untuk memenuhi persyaratan tugas akhir untuk kelulusan S1 Farmasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Ketumbar

2.1.1 Morfologi

Tanaman Ketumbar memiliki daun yang kecil dan memiliki banyak cabang. Bentuk daunnya menjari berwarna hijau dengan panjang 6,03-6,10 cm, lebar 6,20-6,30 cm, dan panjang tangkai 1,05-1,15 cm. Daun barunya berbentuk oval dan daun yang lainnya memanjang. Batang ketumbar berwarna ungu. Tinggi tanaman ketumbar sekitar 75-95 cm memiliki diameter 0,8-1,4 cm. Ketumbar memiliki Bunga berwarna putih keunguan dengan jumlah 6-8 kelopak bunga, Tanaman ketumbar memiliki jumlah benang sari 5 buah dan putik 1 buah dengan kedudukan putik lebih pendek dari pada benang sari. Pada bagian biji memiliki bentuk bulat hingga lonjong, dan bergerombol memiliki diameter 3-4 mm, bobot per 1000 butir ketumbar berkisar 20- 30g, gundul, memiliki bau aromatik, berwarna kecoklatan, kuning atau coklat. Rasa yang dimiliki ketumbar cukup berkarakteristik dan sedikit pedas (Hadipoentyanti and Wahyuni, 2017)



Gambar 2.1 Biji ketumbar (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Rosidae
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Coriandrum</i>
Spesies	: <i>Coriandrum sativum</i> L.(Pathak Nimish <i>et al.</i> , 2011).

2.1.3 Khasiat Ketumbar

Beberapa penelitian menyatakan bahwa ketumbar memiliki efek farmakologi, diantaranya : diuretik, antioksidan, antikonvulsan, sedatif, antimikroba, antimutagen serta antihelminthes (Maurya *et al.*, 2011). Ketumbar memiliki banyak manfaat terutama pada sektor kesehatan mulai dari antibakteri hingga antikanker. Ketumbar juga memiliki aktivitas antioksidan dan beberapa manfaat lain yang meliputi : aktivitas, antihiperqlikemi, hipolipidemik, antiantelmintik, antiaksenti (gelisah), detoksifikasi logam, diuretik, dan antijamur (S. Bhat *et al.*, 2014).

2.1.4 Kandungan Kimia Ketumbar

Setiap tumbuhan memiliki dua senyawa metabolit, yaitu ada metabolit primer dan sekunder. Pertumbuhan tanaman membutuhkan metabolit primer, sedangkan pada metabolit sekunder memiliki peran tidak langsung untuk pertumbuhan tanaman. Fungsi metabolit sekunder pada tanaman dapat memberikan efek farmakologis, antara lain antimikroba, antivirus, sitotoksik, dan sebagai antioksidan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Huljani and Ahsanunnisa (2019) biji ketumbar diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, steroid, dan alkaloid.

Berdasarkan penelitian uji fitokimia yang telah dilakukan Hasanah and Dori (2019) terhadap ekstrak biji ketumbar positif mengandung senyawa flavonoid,

tannin, triterpenoid, alkaloid dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antibakteri yang dapat dibuktikan melalui uji antibakteri ekstrak biji ketumbar terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 4% , 8% dan 10% berturut turut menghasilkan zona hambat 1.083 cm, 1.126 cm dan 1.146 cm (Hapsari *et al.*, 2016). Berikut penjelasan senyawa yang terkandung dalam biji ketumbar:

2.1.4.1 Terpenoid

Terpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang tersusun oleh kerangka karbon yang terdiri dari dua atau lebih unit C₅ atau dapat disebut isoprene (Kabera *et al.*, 2014). Terpenoid juga merupakan senyawa non polar sehingga dapat larut dalam pelarut non polar seperti pelarut n-Heksana. Terdapat beberapa macam terpenoid berdasarkan jumlah unit isoprene yaitu monoterpenoid, triterpenoid, seskuiterpenoid, diterpenoid, polyterpenoid, triterpenoid. Senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri antara lain monoterpenoid asiklik yaitu linalool, dan triterpenoid (Endang Dwi Wulansari and Dewi Lestari 2020).

Mekanisme kerja senyawa terpenoid dalam menghambat bakteri yaitu melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Senyawa ini akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membuat sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Retnowati *et al.*, 2011).

2.1.4.2 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan dan merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang terbesar dalam tanaman. Pada dasarnya setiap tumbuhan pasti mengandung satu atau lebih senyawa kelompok flavonoid yang khas. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar. Terdapat beberapa jenis senyawa flavonoid, kepolaran pada flavonoid berbeda-beda pada setiap jenisnya tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil pada flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut (Suryani *et al.*, 2015).

Dewasa ini, telah ditemukan lebih dari 9000 flavonoid dan jumlah kebutuhan flavonoid bervariasi antara 20 mg dan 500 mg. Flavonoid ditemukan pada tanaman, yang dapat memproduksi pigmen berwarna biru, kuning, oranye, merah dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat bakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri dan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Agustina *et al.*, 2012).

2.1.4.3 Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki beberapa kegunaan yaitu sebagai antibakteri, astringen, anti diare, dan antioksidan. Tanin memiliki berat molekul senyawa yaitu sekitar 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik dan memungkinkan pembentukan ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul- molekul lain seperti asam lemak, asam nukleat, polisakarida, dan asam amino. Tanin memiliki beberapa komponen zat organik yang sangat kompleks, yaitu terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Malangngi *et al.*, 2012).

Tanin mempunyai kelarutan yang sangat baik dalam air, alkohol, aseton, dan juga gliserol hangat, (Amelia, 2015). Mekanisme kerja tanin dalam menghambat bakteri yaitu menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Rijayanti *et al.*, 2014)

2.1.4.4 Saponin

Saponin merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman yang memiliki sifat ampifilik serta dapat menurunkan tegangan permukaan. Penurunan tegangan permukaan ini dikarenakan adanya senyawa sabun yang dapat merusak ikatan hidrogen pada air. Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (Agustina W and Nurhamidah, 2017). Saponin akan menimbulkan busa atau buih jika dikocok dalam air (Nurzaman *et al.*, 2018). Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi

glukosa dan senyawa lainnya (Ningsih and Zusfahair, 2016). Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi, hingga mencapai 158°C dan densitas 0,5 g/cm³ pada suhu 20°C (Santosa *et al.*, 2018).

Saponin memiliki mekanisme antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini dapat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Rijayanti *et al.*, 2014). Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Luliana *et al.*, 2014).

2.2 Simplisia

2.2.1 Definisi simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah mengalami proses pengeringan serta digunakan sebagai tujuan untuk pengobatan dan belum mengalami proses pengolahan. Suhu pengeringan dari simplisia tidak boleh lebih dari 60°C. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk (Gunawan *et al.*, 2010).

2.2.1.1 Simplisia nabati

Simplisia nabati yaitu simplisia yang berupa dari tumbuhan utuh, bagian dari tumbuhan, maupun eksudat dari tanaman. Eksudat tumbuhan merupakan isi dari sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan maupun dengan cara tertentu dikeluarkan isinya dari sel atau zat nabati lain yang dengan cara-cara tertentu dipisahkan dari tumbuhan asalnya (Utami *et al.*, 2013).

2.2.1.2 Simplisia hewani

Simplisia hewani yaitu suatu simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan, maupun zat-zat berguna yang dihasilkan oleh suatu hewan dan belum dalam bentuk zat kimia murni (Gunawan *et al.*, 2010)

2.2.1.3 Simplisia mineral (pelikan)

Simplisia mineral atau pelikan yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami pengolahan dengan cara sederhana dan belum dalam bentuk zat kimia murni (Gunawan *et al.*, 2010).

2.2.2 Syarat mutu simplisia

Simplisia sebagai bahan dalam bidang kefarmasian harus memiliki parameter mutu yaitu:

1. Simplisia sebagai bahan dalam kefarmasian memenuhi 3 parameter mutu umum untuk suatu bahan (material), yaitu kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis), serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan, dan transportasi).
2. Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat, tetap diupayakan untuk memenuhi 3 paradigma produk kefarmasian, yaitu Quality-Safety-Efficacy (mutu-aman-manfaat).
3. Simplisia dengan bahan kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan (Endarini, 2016).

2.2.3 Tahapan pembuatan simplisia

2.2.3.1 Pengumpulan bahan baku

Senyawa aktif yang terdapat pada suatu simplisia memiliki kadar yang berbeda-beda, hal ini antara lain tergantung pada:

1. Bagian tanaman yang digunakan
2. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen
3. Waktu panen
4. Lingkungan tempat tumbuh (Kemenkes RI, 2014)

2.2.3.2 Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan baku simplisia. Misalnya pada bahan baku simplisia yang berasal dari akar suatu tanaman obat terdapat bahan-bahan asing atau kotoran seperti tanah maupun pengotor lainnya yang harus dibuang. Tanah mempunyai bermacam-macam jenis mikroba dalam jumlah yang tinggi oleh karena itu perlu dilakukannya pembersihan pada bahan baku dari tanah agar jumlah mikroba dapat berkurang (Rizqa, 2010).

2.2.3.3 Pencucian

Proses pencucian dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang menempel atau melekat pada bahan baku simplisia. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih, misalnya air yang berasal dari sumber mata air atau air sumur dari PAM. Bahan baku simplisia yang banyak mengandung zat-zat yang mudah larut dalam air yang mengalir dicuci dengan waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari hilangnya zat-zat berkhasiat. Proses pencucian sebanyak 3 kali dapat menghilangkan mikroba sebanyak 78% (Nurviana, 2016).

2.2.3.4 Perajangan

Beberapa jenis bahan baku simplisia memerlukan proses perajangan. Perajangan dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran bahan baku. Semakin tipis bahan baku yang digunakan maka proses pengeringan akan semakin cepat karena penguapan air terjadi lebih cepat, sehingga waktu yang dibutuhkan menjadi lebih singkat. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Namun perajangan tidak boleh terlalu tipis karena dapat mempengaruhi zat berkhasiat yang terdapat dalam bahan yang mempunyai sifat mudah menguap, sehingga dapat mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan (Rizqa, 2010).

2.2.3.5 Pengeringan

Tujuan dari proses pengeringan adalah membuat simplisia tidak mudah rusak, sehingga simplisia dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Dengan

berkurangnya kadar air di dalam simplisia akan menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah penurunan mutu atau kerusakan pada simplisia. Proses pengeringan harus sampai mencapai kadar air kurang dari 10% agar dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel. Proses pengeringan simplisia dapat menggunakan pengeringan alamiah yaitu dengan menggunakan sinar matahari langsung atau dengan cara diangin-anginkan dan pengeringan buatan yaitu dengan menggunakan instrument seperti oven. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan (Rizqa, 2010).

2.2.3.6 Sortasi kering

Sortasi kering dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan benda-benda asing yang mungkin masih terdapat pada simplisia, seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor yang mungkin masih tertinggal pada simplisia kering (Rina *et al.*, 2014).

2.2.3.7 Pengepakan dan Penyimpanan

Selama penyimpanan ada kemungkinan terjadi kerusakan pada simplisia. Untuk itu dipilih wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isinya sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa dan sebagainya pada simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan panas diperlukan wadah yang melindungi simplisia terhadap cahaya, misalnya aluminium foil, plastik atau botol yang berwarna gelap, kaleng dan sebagainya. Penyimpanan simplisia kering biasanya dilakukan pada suhu kamar (15°C sampai 30°C) (Rina *et al.*, 2014).

2.2.4 Pembuatan serbuk simplisia

Serbuk adalah sediaan obat tradisional berupa butiran homogen dengan deraiat halus yang cocok dengan bahan bakunya berupa simplisia sediaan galenik, atau campurannya. Serbuk simplisia nabati adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan ukuran derajat kehalusan tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus, dan sangat halus. Serbuk simplisia merupakan suatu bahan alami yang mengalami proses pengeringan, selain proses pengeringan serbuk simplisia dibuat dalam

bentuk sehalus mungkin untuk memecah sel-sel tumbuhan untuk menjadi lebih kecil dan memperluas permukaannya agar lebih mudah larut dalam pelarut (Salim *et al.*, 2018).

Pengecilan ukuran bahan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan pori-pori simplisia, sehingga kontak antara partikel simplisia dengan pelarut semakin besar. Umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik ekstraksinya (Sembiring, 2010).

Derajat kehalusan serbuk dinyatakan dengan nomor pengayak. Jika derajat halus suatu serbuk dinyatakan dengan 1 nomor, dimaksudkan bahwa semua serbuk dapat melalui pengayak dengan nomor tersebut. Jika derajat halus suatu serbuk dinyatakan dengan 2 nomor, dimaksudkan bahwa semua serbuk dapat melalui pengayak dengan nomor terendah dan tidak lebih dari 40% melalui pengayak dengan nomor tertinggi. Berdasarkan penelitian Sapri *et al.*, (2014) rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan pada ukuran serbuk 40 *mesh*, 60 *mesh*, dan 80 *mesh* yaitu semakin besar nomor *mesh* yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Jadi, ukuran serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh, dimana semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak. Persyaratan serbuk simplisia:

1. Kadar air. Tidak lebih dari 10 %.
2. Angka lempeng total. Tidak lebih dari 10
3. Angka kapang dan khamir. Tidak lebih dari 10
4. Mikroba patogen. Negatif.
5. Aflatoksin. Tidak lebih dari 30 bpj. Untuk bahan tambahan seperti pengawet, pengharum serbuk simplisia tidak boleh mengandung bahan tersebut. Wadah dan penyimpanan untuk serbuk simplisia ialah dalam wadah tertutup baik, disimpan pada suhu kamar, ditempat kering dan terlindung dari sinar matahari.

2.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak diperoleh dengan cara penyarian atau mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Putri, 2010) Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014).

Tujuan dilakukanya ekstraksi adalah untuk memperoleh suatu bahan aktif yang belum diketahui, memperoleh bahan aktif yang sudah diketahui, memperoleh senyawa yang memiliki struktur sejenis, memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu tanaman dan mengidentifikasi semua metabolit sekunder (Sari, 2017). Teknik ekstraksi yang ideal adalah teknik ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan dan hasil yang diperoleh selalu konsisten jika dilakukan berulang-ulang (Endarini, 2016).

2.3.1 Ekstraksi Cara Dingin

2.3.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi dengan menggunakan cara dingin atau tanpa adanya pemanasan selama waktu tertentu dengan dilakukan penggojokan sesekali (Marjoni, 2016). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

Prinsip kerja dari metode ekstraksi maserasi adalah proses pelarutan atau pengikatan zat aktif berdasarkan sifat kelarutan dari zat aktif dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Cairan penyari yang digunakan akan menembus dinding sel dan

kemudian masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan cairan penyari menyebabkan terjadinya proses pelarutan, sehingga zat aktif akan larut ke dalam cairan penyari. Cairan penyari yang mengandung bahan aktif berada di dalam sel dan cairan penyari yang berada di luar sel belum terdapat zat aktif sehingga menyebabkan ketidakseimbangan. Akibat adanya perbedaan konsentrasi ini, cairan di dalam dan di luar sel akan terjadi gaya difusi sehingga larutan yang terpekat akan didesak keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses ini akan terus berulang hingga telah tercapai keseimbangan konsentrasi (Marjoni, 2016).

Kelebihan metode maserasi seperti cara pengerjaan dan unit alat yang digunakan sederhana, biaya operasional relatif rendah, serta dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Savitri *et al.*, 2017). Metode maserasi mempunyai kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama dari pada refluks dan sokletasi, serta ekstrak air yang dihasilkan pada metode maserasi akan cepat rusak dan bau (Putra *et al.*, 2014).

2.3.1.2 Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan dilakukan pada suhu ruang. Proses ekstraksi perkolasi dilakukan dengan cara serbuk sampel dibasahi dengan perlahan dalam sebuah wadah silinder dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya (perkolator). Kemudian pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2014). Perkolasi memiliki keuntungan yaitu adanya aliran cairan penyari yang dapat menyebabkan pergantian larutan di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi (Wuryandari *et al.*, 2010).

2.3.2 Ekstraksi Cara Panas

2.3.2.1 Sokhletasi

Metode ekstraksi sokhletasi merupakan suatu metode ekstraksi yang menggunakan cara panas. Metode ekstraksi ini merupakan ekstraksi yang berkesinambungan dan menggunakan pelarut yang selalu baru dengan pendinginan

balik. Prinsip ekstraksi sokletasi yaitu pemanasan dan perendaman akan menyebabkan terjadinya pemecahan dinding juga membran sel yang diakibatkan karena adanya perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Keuntungan dari metode ini adalah sampel terekstraksi secara murni oleh pelarut yang terkondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

2.3.2.2 Refluks

Metode ekstraksi refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang konstan dengan adanya pendingin balik dan merupakan metode ekstraksi berkesinambungan. Siplisia yang akan dilakukan ekstraksi dimasukkan bersama dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang sudah dilengkapi dengan kondensor, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari pada labu alas bulat akan menguap, uap dari cairan penyari akan diembunkan oleh kondensor atau pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif simplisia dalam labu alas bulat. Keuntungan refluks dibandingkan sokletasi yakni pelarut yang digunakan lebih sedikit dan bila dibandingkan dengan maserasi dibutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat (Putra *et al.*, 2014).

2.3.3 Metode Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran. Proses fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur (Hermawan *et al.*, 2016). Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, senyawa yang memiliki sifat polar akan larut dalam pelarut polar, dan senyawa yang memiliki sifat semi polar akan larut dalam pelarut semi polar.

Penelitian ini akan menggunakan metode fraksinasi cair-cair. Metode pemisahan cair-cair ini pada umumnya menggunakan corong pisah (*separatory funnel*). Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada

perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi. Prinsip fraksinasi cair-cair adalah pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dengan prinsip "Like dissolve like", artinya pelarut akan melarutkan senyawa yang tingkat kepolarannya sama dengan pelarut tersebut (Sogandi *et al.*, 2019).

2.4 Pelarut Ekstraksi

Pelarut merupakan suatu zat yang digunakan sebagai melarutkan zat lain. Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor penting dalam ekstraksi karena akan mempengaruhi senyawa aktif yang akan terekstrak karena setiap pelarut mempunyai selektifitas yang berbeda untuk melarutkan senyawa aktif dalam suatu bahan. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Astarina *et al.*, 2012).

Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu sebagai berikut:

2.4.1 Etanol

Etanol atau etil alkohol adalah zat kimia yang merupakan golongan dari alkohol. Etanol merupakan suatu pelarut organik. Etanol mempunyai formula C_2H_5OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform, dan aseton. Etanol memiliki titik didih sebesar $78,4^{\circ}C$ sehingga menyebabkan etanol mudah terbakar. Penggunaan etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol yang konsentrasinya lebih dari 20%, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, serta etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Sa'adah and Nurhasnawati, 2015). Etanol merupakan pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, nonpolar dan semi polar. Pelarut Etanol 96% dipilih karena presentase air sebanyak 4% dan etanol sebanyak 96% dapat mengurangi kontaminasi atau pertumbuhan mikroorganisme didalam ekstrak (Cobra *et al.*, 2019) dan dapat menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan

pengekstraksi dikarenakan lebih aman dan bisa digunakan untuk melarutkan berbagai senyawa organik yang tidak dapat larut dalam air (Cobra *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Roslizawaty *et al.* (2013) pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif etanol 96% tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri sehingga zona hambat yang dihasilkan ekstrak bukan berasal dari pelarut etanol 96%.

2.4.2 Diklorometana (DCM)

Diklorometana (DCM) atau dengan nama lain metilen klorida merupakan suatu senyawa organik yang memiliki rumus kimia CH_2Cl_2 . Diklorometana merupakan senyawa yang tidak berwarna dan mempunyai aroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak dapat larut sempurna dalam air, namun dapat larut dengan pelarut organik lainnya.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Agustini *et al.* (2017) pengujian aktivitas antibakteri menggunakan control negative diklorometana tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga zona hambat yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut diklorometana.

2.4.3 n-Heksana

n-Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa- senyawa bersifat nonpolar (Maulida and Zulkarnaen, 2010). N-Heksan berbentuk cairan jernih, memiliki bau seperti eter, memiliki berat molekul 86,18 gr/mol dan memiliki titik didih $68,73^\circ\text{C}$. Pelarut heksana dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar. Banyak dipakai untuk ekstraksi minyak dari biji, misal kacang-kacangan dan flax (Utomo, 2016).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sumitriasih *et al.* (2019), pengujian aktivitas antibakteri menggunakan kontrol negatif yaitu heksan menunjukkan hasil bahwa n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Eschericia coli* dan *S. aureus*, sehingga zona hambat yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut n-heksan.

2.5 Bakteri

2.5.1 Definisi Bakteri

Bakteri berasal dari bahasa Latin bacterium jamak bacteria adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel. Sehingga dapat didefinisikan bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan komponen selular prokariot (Kenneth, 2012). Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang secara alami terdapat pada tubuh manusia sehat dan normal, namun pada kondisi tertentu bakteri akan menjadi patogenik. Potensi patogenik bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: lemahnya imunitas tubuh inang (manusia), ukuran patogenitas bakteri (virulensi), dan jumlah bakteri yang mencapai quorum (Bota *et al.*, 2015).

2.5.2 Penggolongan Bakteri

2.5.2.1 Berdasarkan struktur dinding sel

Bakteri memiliki dinding sel yang berfungsi memberikan bentuk kaku pada tubuh bakteri. Dinding sel yang kaku berfungsi mencegah sel membengkan dan pecah akibat tekanan osmosis jika diletakkan pada larutan yang rendah konsentrasinya (hipotonik). Berdasarkan susunan dinding selnya, bakteri diklasifikasikan menjadi dua golongan, yaitu bakteri Gram positif dan negative. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat pewarna kristal violet dan karenanya akan tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Adapun bakteri gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi zat pewarna tandingannya yaitu dengan zat pewarna air fuchsin atau safranin akan tampak berwarna merah. Perbedaan warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya. Pada bakteri Gram positif komposisi dinding selnya terdiri dari beberapa lapisan peptidoglikan bergabung bersama membentuk struktur tebal dan kaku. Terdapat sekitar 40 lapisan peptidoglikan. Contoh: *Stapylococcus aureus*, *Stapylococcus epidermidis*, *Stapylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus*

agalactiae. Sedangkan pada bakteri Gram negative hanya ada 1 atau 2 lapisan yang merupakan 5-10% dari bahan dinding. Bakteri yang termasuk gram negatif adalah *Enterobacteriaceae*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Escherichia Coli* dan sebagainya. Sedangkan bakteri gram positif adalah *Staphylococci*, *Streptococci*, *Enterococci*, *Clostridium*, *Bacillus* (Putri *et al.*, 2017).

2.5.2.2 Berdasarkan bentuk

Berdasarkan bentuknya bakteri dibagi menjadi 3 yaitu Bentuk bulat/coccus, basil dan spiral. Kokus adalah bakteri yang berbentuk bulat atau oval, ada yang hidup sendiri dan ada yang dijumpai hidup berpasangan, kubus atau membentuk rantai panjang, bergantung pada caranya membelah diri kemudian melekat satu sama lain setelah pembelahan. Basil dari kata *bacillus*, merupakan bakteri yang bentuknya menyerupai batang atau silinder, membelah dalam satu bidang, basil dapat berupa batang tunggal, berpasangan atau bentuk rantai pendek atau panjang. Kelompok bakteri ini terdiri atas beraneka ragam bentuk bakteri berbentuk silinder, yang bukan lurus seperti basil melainkan melingkar (Putri *et al.*, 2017).

2.5.2.3 Berdasarkan kebutuhan oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigennya bakteri dibagi menjadi dua yaitu bakteri aerob dan anaerob. Bakteri anaerob adalah bakteri yang tidak menggunakan oksigen dalam pertumbuhan dan metabolismenya. Bakteri anaerob sebagian besar merupakan mikroorganisme residen pada kulit, permukaan mukosa, mulut, dan gastrointestinal. Bakteri anaerob dibedakan menjadi anaerob fakultatif dan obligat. Anaerob fakultatif merupakan bakteri dapat tumbuh baik secara oksidatif maupun secara anaerob. Sebagian besar bakteri kelompok anaerob fakultatif adalah patogen. Contohnya adalah beberapa spesies dari *Streptococcus* dan *Enterobacteriaceae* (misalnya: *E. coli*). Bakteri anaerob obligat adalah bakteri yang memiliki efek letal terhadap keberadaan oksigen. Hal ini dikarenakan biasanya bakteri kelompok ini tidak memiliki superoksida dismutase (SOD) dan katalase yang berfungsi menghilangkan efek toksik radikal oksigen serta hydrogen peroksidase yang menyebabkan mampu mentoleransi terhadap oksigen (Greenwood *et al.*, 2012).

2.5.3 Identifikasi Bakteri

Bakteri mempunyai beragam karakteristik yang berbeda, oleh karena itu didalam proses mempelajari dan memahami bakteri dalam suatu kelompok tertentu diperlukan identifikasi. Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan cara morfologi, fisiologi dan uji biokimia. Identifikasi dilakukan dengan mencari ciri pada organisme yang belum diketahui kemudian dibandingkan dengan organisme yang telah diketahui. Identifikasi mikroorganisme yang baru saja diisolasi sangat memerlukan perincian, deskripsi, dan perbandingan yang sangat rinci dan jelas dengan deskripsi yang telah dipublikasikan sebelumnya untuk jasad-jasad renik lain yang mempunyai kesamaan jenis.

2.5.3.1 Uji Morfologi Bakteri

Uji morfologi bakteri dilakukan dengan cara pengamatan makroskopis dan mikroskopis bakteri dimulai dari sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media biakan bakteri, pemurnian bakteri, dan pengamatan makroskopis langsung (Fitri and Yasmin, 2011). Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati mikroorganisme pada bagian-bagian yang nampak dan dapat dilihat dengan mata telanjang, seperti bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni dan permukaan koloni.

2.5.3.2 Uji Fisiologis Bakteri

Uji fisiologis bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram. Pembuatan preparat dengan metode pewarnaan gram dilakukan melalui dua tahap yaitu membuat biakan bakteri dan melakukan pewarnaan gram terhadap isolat bakteri itri (Fitri and Yasmin, 2011).

2.5.3.3 Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya (Wahyuni *et al.*, 2018). Biokimia bakteri berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri. Sifat fisiologis bakteri sangat penting diketahui apabila melakukan identifikasi bakteri karena sifat morfologis bakteri dapat tampak serupa bahkan tidak dikenal sehingga dengan melakukan uji biokimia terhadap koloni bakteri

dapat mengetahui sifat dan menentukan spesies bakteri (Pakpahan *et al.*, 2013). Berikut beberapa uji biokimia yang sering dilakukan:

a. Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Uji TSIA berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, dan sukrosa). Hasil uji TSIA dapat diketahui bakteri dapat memfermentasi glukosa saja ditandai dengan warna kuning (asam) pada dasar media dan berwarna merah pada lereng (basa) Alk/A atau Alkali/Acid. Apabila bakteri dapat memfermentasi semua karbohidrat ditandai dengan warna kuning pada dasar media (asam) dan berwarna kuning juga pada lereng media (asam) A/A atau Acid/Acid. Apabila bakteri tidak dapat memfermentasi semua karbohidrat ditandai dengan warna merah pada dasar media (basa) dan berwarna merah juga pada lereng media (basa) Alk/Alk atau Alkali/Alkali (Anggraini *et al.*, 2016).

b. Uji Oksidase

Tujuan uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan paper oksidase yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada paper oksidase. Hasil positif uji oksidase ditandai dengan perubahan warna menjadi biru violet dan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada kertas paper oksidase (Wahyuni *et al.*, 2018).

c. Uji Urea

Uji urea bertujuan untuk mengetahui kandungan enzim urease pada bakteri sehingga dapat menguraikan urea membentuk amoniak. Hasil positif ditandai dengan perubahan medium menjadi merah muda (sangat merah muda). Perubahan warna dapat terjadi saat enzim urease memutus ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Adanya amoniak menyebabkan suasana medium menjadi alkali/basa sehingga indikator phenol red akan berubah menjadi merah muda pada medium, hal ini mengindikasikan terjadinya reaksi positif atau dihasilkannya urease (Wahyuni *et al.*, 2018).

d. Uji Lisin

Uji lisin bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri melakukan dekarboksilasi dalam asam amino berupa lisin melalui produk enzim dekarboksilase. Proses dekarboksilase lisin sering digunakan bakteri untuk

menetralkan lingkungan asam menjadi basa. Hasil positif uji lisin menunjukkan perubahan media dimana media menjadi berwarna lembayung (ungu) pada semua bagian media, baik media dasar maupun media miring dan hasil negatif ditunjukkan media berwarna kuning (Rondonuwu *et al.*, 2014).

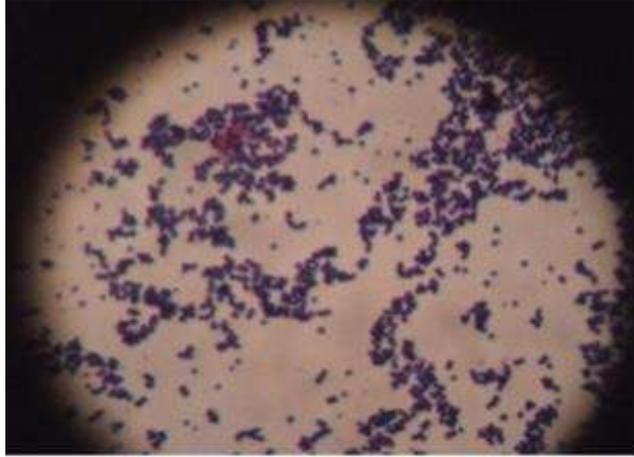
2.5.4 Bakteri Uji

2.5.4.1 *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Koloni *Staphylococcus aureus* memiliki ukuran besar dengan diameter 6-8 mm. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Pada lempeng agar darah umumnya koloni lebih besar dan pada varietas tertentu koloninya di kelilingi oleh zona hemolisis (Syahrurachman, 2010). Koloni pada perbenihan *staphylococcus aureus* padat berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih. Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan 37°C tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar 20-25°C (Dewi, 2013).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada banyak pembenihan bakteri. Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik dan mampu memfermentasi mannitol pada media *mannitol salt agar* (MSA). Bakteri *S. aureus* dapat memfermentasi Mannitol sehingga media MSA akan berubah dari warna merah menjadi kuning keemasan (Nasional, 2015). Mekanisme dari *S. aureus* dalam menyebabkan penyakit merupakan multifaktor, melibatkan toksin, enzim dan komponen seluler. Patogenitasnya merupakan efek gabungan dari berbagai macam metabolit yang dihasilkannya. *Staphylococcus aureus* bersifat infasif, penyebab hemolisis, menghasilkan koagulase, mencairkan gelatin, membentuk pigmen kuning emas dan

meragi manitol. Bakteri ini dapat menyebabkan sistitis, pielitis, meningitis, septikemia, endokarditis, osteomielitis, dan lain-lain (Tammi, 2015).



Gambar 2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Toelle and Lenda, 2014)

2.5.4.2 Klasifikasi

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Soedarto, 2015).

2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan dari uji aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri secara *In Vitro*. Pengujian daya antimikroba dapat menentukan konsentrasi suatu zat antimikroba sehingga memperoleh pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat dua metode untuk menguji daya antimikroba, yaitu dilusi dan difusi (Atikah, 2013).

2.6.1 Metode difusi

Prinsip dari metode difusi agar adalah membandingkan zona hambatan pertumbuhan mikroorganisme dengan antibiotik yang diuji terhadap zona hambatan oleh dosis antibiotik baku pembanding pada media lempeng agar. Selain itu, metode difusi digunakan dalam uji sensitivitas bakteri. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh ekstrak yang diketahui dari daerah di sekitar kertas cakram (paper disc) yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Zona hambatan pertumbuhan inilah yang menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan anti bakteri (Fitriana *et al.*, 2020). Beberapa metode difusi yang sering digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah tes Kirby Bauer (*disc diffusion*), *e-test*, *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*.

2.6.1.1 Metode Cakram

Metode difusi cakram digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap suatu antibakteri. Pada cara ini cara menggunakan suatu cakram kertas saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kemudian cakram tersebut diletakkan dalam media lempeng agar yang telah ditanami bakteri, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktifitas antibakteri ditunjukkan oleh luas diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Mulyadi *et al.*, 2017).

Tabel 2.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Mahmudah and Atun, 2017).

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.6.1.2 Metode Sumuran (*Cup-plate technique*)

Metode sumuran dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Etikasari *et al.*, 2017). Setiap lubang diisi dengan zat uji, kemudian diinkubasi

pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Yasjudani, 2017).

2.6.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi adalah suatu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu senyawa terhadap aktifitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bakterisidal minimum). Cara yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan metode dilusi ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Fitriana *et al.*, 2020).

2.6.2.1 Metode dilusi cair

Metode ini mengukur MIC (minimum inhibitory concentration) atau KHM (kadar hambat minimum) dan MBC (minimum bactericidal concentration). Prosedur uji ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri murni pada medium cair yang diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Nilai KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hambatan pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan media nampak jernih. Penentuan nilai KHM dilakukan dengan menumbuhkan ulang bakteri yang ada di dalam tabung KHM dalam media cair yang tidak ditambahkan antibiotika dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. Pada media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM. Metode ini merupakan standar baku emas dalam pengujian kepekaan antibiotik (Sariadji *et al.*, 2019).

2.6.2.2 Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Etikasari *et al.*, 2017).

2.7 Kontrol positif antibiotik Vancomycin

Vankomisin adalah suatu glikopeptida yang dihasilkan oleh *Streptomyces orientalis*. Vankomisin bersifat bakterisidal terhadap *staphylococcus*, beberapa klostridia, dan beberapa basil. Vancomycin adalah antibiotik golongan glikopeptida yang bekerja menghambat penghambatan biosintesis dinding sel dan sangat aktif terhadap bakteri kokus gram positif. Vankomisin merupakan alternatif pilihan pada pasien yang alergi terhadap penisilin. Obat ini digunakan pada infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus* yang tidak dapat diatasi oleh antibiotik betalaktam (Herawati and Irawati, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ratna *et al.*, (2015) Hasil uji sensitivitas menunjukkan *S. aureus* bersifat resisten terhadap ampisilin, eritromisin dan tetrasiklin dengan zona hambat masing-masing sebesar 12, 13 dan 9 mm. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Edyson *et al.* (2020) Kontrol positif yang digunakan yaitu Vancomycin dengan diameter zona hambat sebesar 18,12 mm.

Karakteristik vancomycin menurut FI V adalah sebagai berikut:

Nama Umum	: Vankomisin
Nama Lain	: Vankomisin hidroklorida (<i>vancomycin hydrochloride</i>)
BM / RM	: 1485,71
Suhu Lebur	: 168-170°C
Ph	: antara 2,5 sampai 4,5
Pemerian	: serbuk bersifat mengalir bebas, putih, hampir putih atau coklat muda sampai kecoklatan, tidak berbau, dan rasa pahit.
Kelarutan	: mudah larut dalam air, tidak larut dalam eter, dan dalam kloroform.

Persyaratan : Vankomisin tidak boleh dikeringkan. Untuk penetapan kadar gunakan seluruh isi tanpa ditimbang. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya, dan ditempat dingin.

2.8 Hipotesis

Ekstrak biji ketumbar dan fraksi n-heksana, diklorometana, serta *aquadestilata* biji ketumbar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar yang memiliki zona hambat paling kuat adalah pada fraksi n-heksan dalam menghambat bakteri *Staphylococcus Aureus* (Pratama, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu serbuk biji ketumbar, etanol 96 % sebanyak 7500 ml, n-heksan, diklorometana, *aquadest*, *Nutrient agar*, *Nutrient Both*, MSA, Bakteri *S.aureus*, antibiotik vancomycin, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, asam klorida (HCl), larutan (FeCl₃) 1%, gentian violet, NaCl.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: bejana maserasi, ayakan mesh 40, neraca analitik, Erlenmeyer, corong kaca, kertas saring, kain mori, oven, beaker glass, sendok tanduk, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, corong pisah, autoklaf, cawan petri, cakram kosong steril, aluminium foil, mikropipet, lampu spiritus, *laminar air flow* (LAF), ose, Bunsen, kapas steril, incubator, gelas ukur, batang pengaduk, pinset, corong, *hot plate*, lemari pendingin, jangka sorong.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah adalah serbuk biji ketumbar yang didapat dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk biji ketumbar sebanyak 500 g diperoleh dari Materia Medika Batu, Jawa Timur.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian yaitu segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga

diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Soleha, 2015). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi biji ketumbar 5%.

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol atau terkendali yaitu variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbandingan daya hambat antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*..

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman biji ketumbar diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

3.6.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air sangat penting karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia sehingga perlu dilakukan pengujian. Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan cara menimbang masing-masing sebanyak 10 g serbuk biji ketumbar. Dikeringkan pada suhu 105⁰C selama 5 jam dan ditimbang. Perhitungan uji kadar air yaitu sebagai berikut :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2014})$$

Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM, 2014).

3.6.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Ketumbar

Serbuk simplisia biji ketumbar ditimbang sebanyak 500 gram. Proses ekstraksi maserasi dilakukan dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:7,5 (Ratna *et al.*, 2015). Selanjutnya yaitu memasukkan serbuk simplisia biji ketumbar dalam botol maserasi, lalu menambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3750 ml hingga terendam dan dilakukan hingga homogen. Serbuk dalam botol maserasi disimpan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama perendaman setiap hari dilakukan pengadukan selama 15 menit. Setelah perendaman selama 5 hari, kemudian menyaring ekstrak yang dihasilkan menggunakan kain mori rangkap dua dan dengan kertas saring. Residu yang diperoleh kemudian dilakukan remaserasi dengan jumlah penyari yang sama yaitu 3750 ml. Proses selanjutnya yaitu memekatkan filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi dan remaserasi rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak biji ketumbar (BPOM, 2014).

3.6.4 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak biji ketumbar dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Depkes RI, 2014})$$

Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya *et al.*, 2018).

3.6.5 Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak biji ketumbar dengan melarutkan sebanyak 5 g ekstrak dalam *aquadestilata* sebanyak 75 ml. larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, menambahkan dengan 25 ml pelarut n-heksan, larutan dikocok beberapa kali diselingi membuka tutup corong untuk mengeluarkan udara. Kemudian larutan didiamkan hingga terjadi pemisahan menjadi 2 fase yaitu fraksi n-heksan berada diatas dan fraksi *aquadestilata* berada dibawah. Kemudian fraksi n-heksan dipisahkan dengan fraksi *aquadestilata*, Masing-masing ditampung di beaker glass, sehingga didapatkan fraksi n-heksan. Penyarian diulang sebanyak 3x dengan jumlah pelarut yang sama.

Fraksi *aquadestilata*, yang dipisahkan kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan 25 ml diklorometana, kemudian dikocok, didiamkan hingga terjadi pemisahan antara fraksi *aquadestilata*, dan diklorometana. Kemudian dipisahkan antara fraksi *aquadestilata* dengan fraksi diklorometana. Penyarian dilakukan 3 kali dengan penambahan jumlah pelarut yang sama. Kemudian fraksi n-heksana, fraksi *aquadestilata* dan fraksi diklorometana diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (Huda *et al.*, 2019).

3.6.6 Skrining Fitokimia

3.6.6.1 Identifikasi Flavonoid

Sampel sebanyak 1 ml dicampur dengan 3 ml etanol 96%, kemudian dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah 0,1 g Mg dan 5 tetes HCl pekat. Sampel positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna kuning, jingga, atau merah (Nafisah *et al.*, 2014) perubahan warna yang terjadi pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

3.6.6.2 Identifikasi Saponin

Menimbang fraksi biji ketumbar sebanyak 0,5 g kemudian menambahkan 10 ml aquadestilata panas, dilakukan pendinginan dan kemudian mencampurkan larutan tersebut selama 10 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit. Busa yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan glikosida yang mempunyai kemampuan

membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015).

3.6.6.3 Identifikasi Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai semua sampel terendam. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau menunjukkan hasil positif (Huda *et al.*, 2019). Perubahan warna dikarenakan tannin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺ (Latifah, 2015).

3.6.6.4 Identifikasi Terpenoid

Sampel sebanyak 2 ml diuapkan dalam cawan penguap, dilarutkan ekstrak dalam 0,5 ml kloroform. Ditambah 0,5 ml asam asetat anhidrat. Lalu ditetesi 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Positif terpenoid jika terbentuk warna coklat kemerahan dan warna hijau mengandung steroid. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa terpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Habibi *et al.*, 2018).

3.6.7 Pembuatan Media

3.6.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan mencuci bersih, kemudian alat dikeringkan dan dibungkus dengan kertas perkamen (Muhamad, 2014). Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil.

3.6.7.2 Pembuatan Media Nutrient Both (NB)

Pembuatan serbuk NB dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,08gram dalam 10 ml *aquadestilata*, kemudian memanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Muhamad, 2014).

3.6.7.3 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Pembuatan media NA dilakukan dengan Menimbang serbuk sebanyak 0,3gram kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer menambakan *aquadestilata* sebanyak 15 ml dihomogenkan sampai serbuk agar benar-benar larut. Selanjutnya media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Biarkan temperatur turun sampai 45°C. Media agar siap dituangkan pada plate/ cawan petri (Muhamad, 2014). Cawan petri berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Widodo *et al.*,2013).

3.6.7.4 Pembuatan Media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Pembuatan media MSA dilakukan dengan menimbang Serbuk sebanyak 1,08 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml *aquadestilata*, dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.6.7.5 Pembuatan Larutan Uji

1. Pembuatan larutan uji ekstrak biji ketumbar

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan ekstrak biji ketumbar dengan seri konsentrasi 5%,10% dan 15%. Pengenceran larutan uji ekstrak menggunakan pelarut dalam ekstraksi yaitu etanol 96%. Konsentrasi 5% dibuat dengan menimbang ekstrak sebesar 0,5gram kemudian dilarutkan 10 ml pelarut. Konsentrasi 10% dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebesar 1gram kemudian dilarutkan 10 ml pelarut. Konsentrasi 15% dibuat dengan cara menimbang ekstrak sebesar 1,5 g gram kemudian dilarutkan 10 ml pelarut

2. Pembuatan larutan uji fraksi dan ekstrak

Pembuatan larutan uji fraksi dan ekstrak dibuat dengan konsentrasi 5%. Pengenceran larutan uji ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% sedangkan pada fraksi menggunakan masing-masing pelarut dalam fraksi yaitu n-heksan, *aquadestilata*, dan diklorometana. Ekstrak 5% dibuat dengan menimbang ekstrak sebesar 0,5gram kemudian dilarutkan 10 ml pelarut. Larutan uji fraksi n-heksan dibuat dengan menimbang fraksi n-heksana sebesar 0,5g kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut. Larutan uji fraksi *aquadestilata* dibuat dengan menimbang fraksi

aquadestilata sebesar 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut. Larutan uji fraksi diklorometana dibuat dengan menimbang fraksi diklorometana sebesar 0,5 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml pelarut.

3.7 Pembuatan Larutan Kontrol

3.7.1 Kontrol positif yang digunakan adalah Vancomycin

Dalam pembuatan stok solution vankomisin diperlukan pelarut berupa *aquadestilata*. MIC vankomisin adalah 2 µg/mL (IDSA, 2009). Maka pada penelitian ini dilakukan pengenceran sehingga didapatkan konsentrasi vankomisin 2µg/mL. Pengenceran dilakukan dengan mencampur vankomisin serbuk vial sebanyak 32mg dengan *aquadestilata* steril 2 ml sehingga konsentrasi larutan menjadi 16mg/ml. Pengenceran vancomycin dengan *aquadestilata* dilakukan karena vancomycin dapat larut secara sempurna pada *aquadestilata* (Depkes RI, 2014). Kemudian dilanjutkan dengan mengambil 1ml dan ditambahkan 1 ml sehingga konsentrasi menjadi 8 mg/ml. Hal yang sama dilakukan sampai mencapai konsentrasi 2mg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga konsentrasi menjadi 0,002 mg/ml atau setara dengan 2µg/ml (Ariyantini, 2017).

3.7.2 Kontrol negatif yang digunakan adalah n-heksana, diklorometana, *aquadestilata* dan etanol 96%

Kontrol negatif yang digunakan pada ekstrak yaitu etanol 96% sedangkan untuk fraksi digunakan pelarut masing-masing fraksi yaitu n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata*. Pembuatan kontrol negatif dilakukan dengan cara mengambil pelarut sebanyak 20 µl kemudian diteteskan pada cakram steril dengan diameter 6 mm. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut dan sebagai kontrol negatif pada ekstrak dikarenakan etanol 96% pekat dan tidak mengandung air atau campuran lainya serta mudah mengalami penguapan sehingga aktivitas antibakterinya rendah atau tidak memiliki aktivitas antibakteri jika dibandingkan dengan alkohol yang mengandung air (Noer, 2011). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Egra *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pelarut n-heksan, diklorometana, dan *aquadestilata* tidak memiliki aktivitas antibakteri dan dapat digunakan sebagai kontrol negatif.

3.7.3 Peremajaan Bakteri

Proses peremajaan bakteri dilakukan dengan tujuan melakukan perawatan terhadap bakteri agar tetap dalam kondisi yang baik. Peremajaan bakteri dilakukan menggunakan media agar miring NA, dengan menanam bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing media dengan cara menggoreskan menggunakan ose jarum. Media bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37-38° C selama 24 jam (Yusriana *et al.*, 2014). Selanjutnya membandingkan kekeruhan biakan bakteri dengan menggunakan *Mc. Farland* (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 *Mc. Farland* mempunyai jumlah populasi sebanyak $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

3.7.4 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Dilakukannya identifikasi bakteri yaitu dengan tujuan mengetahui kemurnian bakteri yang akan digunakan karena digunakan biakan bakteri biakan murni.

3.7.4.1 Identifikasi Bakteri dengan Media MSA

Suspensi *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada permukaan media MSA (*Manitol Salt Agar*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Radji, 2013). Koloni *Staphylococcus aureus* memiliki ciri – ciri bundar, halus, menonjol dan berkilau serta berwarna abu – abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).

3.7.4.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel *staphylococcus aureus* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram. Preparat apus bakteri dibuat dengan cara, mengambil koloni dengan ose kemudian diratakan pada kaca obyek setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi dengan menggunakan lampu spiritus. Kemudian menetes dengan pewarna pertama (gentian violet) dibiarkan kering selama 2 menit, kemudian preparat apus dilunturkan dengan menggunakan alkohol selama 1 menit, ditambahkan pewarna kedua (safranin) dibiarkan 45-60 detik kemudian dibilas dengan *aquadestilata*, dikeringkan dan diamati warnanya di bawah mikroskop. Preparat selanjutnya dikeringkan dengan tisu dan diamati morfologi sel serta warnanya dengan menggunakan mikroskop. Bakteri dapat dikelompokkan sebagai bakteri Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan dan Gram negatif apabila selnya terwarnai

merah (Dewi, 2013). Perubahan warna tersebut disebabkan karena kompleks zat warna gentian violet tetap dipertahankan meskipun diberi larutan alkohol sedangkan pada bakteri gram negatif berwarna merah disebabkan kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin (Nurhidayati *et al.*, 2015).

3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri yaitu dengan mensuspensikan bakteri *staphylococcus aureus* yang telah diinokulasi menggunakan ose steril. Bakteri *Staphylococcus Aureus* disuspensi kedalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian mengencerkan suspensi bakteri tersebut menggunakan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang mempunyai populasi 1 x 10⁷ CFU/ml sampai 1 x 10⁸ CFU/ml).

3.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Biji Ketumbar dengan Metode Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan Metode Difusi Kertas Cakram. Menyiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, kemudian menyiapkan dan mensterilkan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Mengambil sebanyak 20µL ekstrak biji ketumbar dengan konsentrasi 5% dan diteteskan ke kertas cakram yang telah disterilkan, tunggu sampai menjadi jenuh (Ningsih *et al.*, 2013). Kemudian meletakkan kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan ekstrak biji ketumbar pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada fraksi biji ketumbar dengan konsentrasi yang sama. Sebagai pembanding digunakan antibiotik Vancomycin sebagai kontrol positif dan Kontrol negatif pada ekstrak digunakan pelarut etanol 96% sedangkan pada fraksi digunakan pelarut masing-masing fraksi. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Setelah 24 jam, amati Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris (Ningsih *et al.*, 2013).

3.7.7 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan mistar berskala/jangka sorong. Kemudian diperoleh berupa diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter kertas cakram. Untuk mendapatkan hasil yang akurat, tiap daerah hambat dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda (Mulyatni *et al.*, 2016).

Tabel 3.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Mahmudah and Atun, 2017).

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar pada *Staphylococcus Aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 25 untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

3.8.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis:

H₀: data berdistribusi normal

H₁: data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

1) Jika $p > 0,05$; maka H₀ diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H₁ diterima

3.8.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil dari populasi yang sama (Imam, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis:

H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H_1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan:

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.8.3 Uji One Way Anova

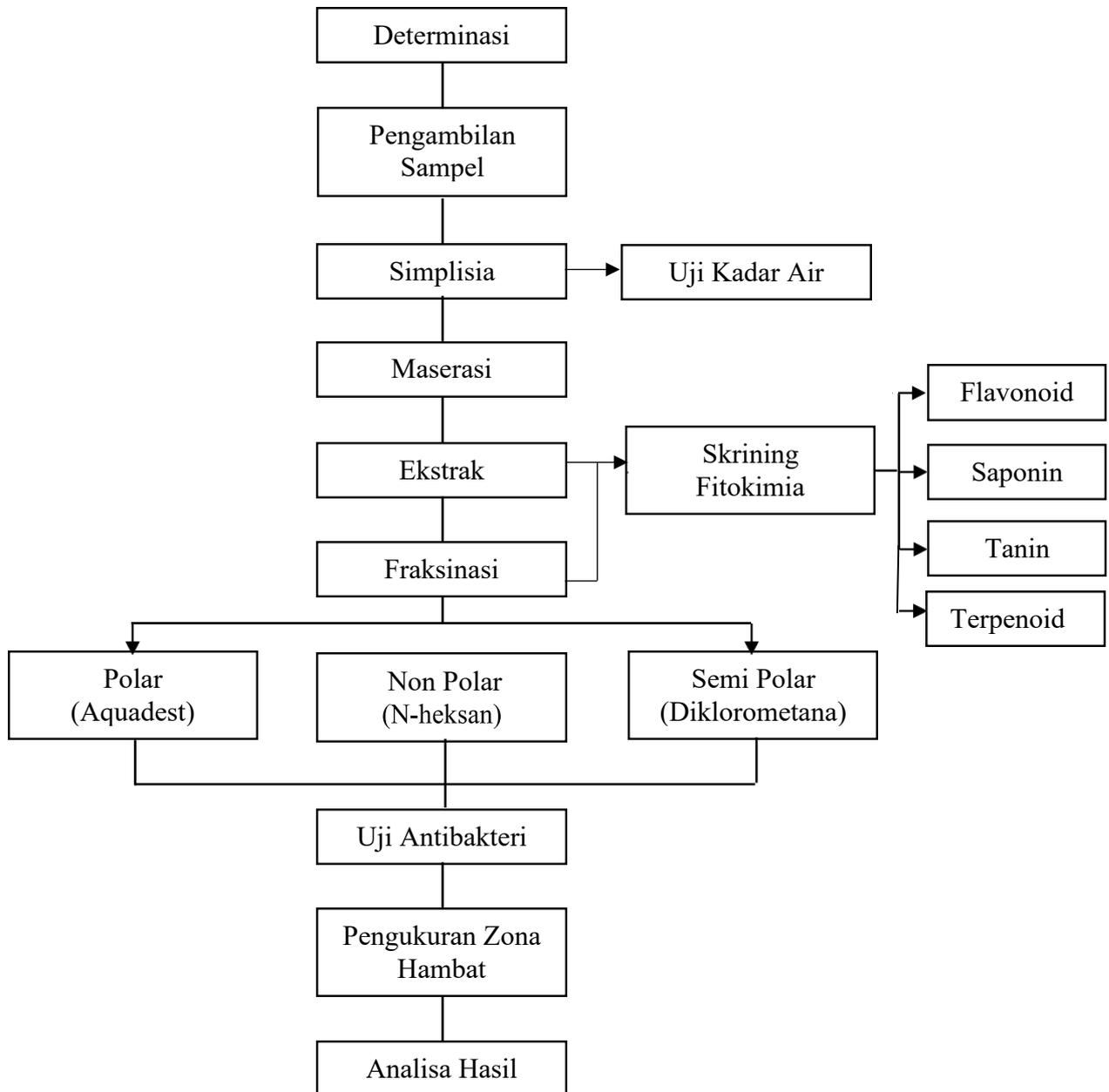
Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa pada perbedaan bermakna antara fraksi dan ekstrak biji ketumbar terhadap pertumbuhan bakteri *Straphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis:

H_0 : Tidak ada perbedaan bermakna antara fraksi dan ekstrak biji ketumbar terhadap pertumbuhan *Straphylococcus aureus*

H_1 : Ada perbedaan bermakna fraksi dan ekstrak biji ketumbar terhadap pertumbuhan *Straphylococcus aureus*

3.9 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

3.10 Jadwal Penelitian

Jadwal Kegiatan		Bulan Ke-							Tempat
		1	2	3	4	5	6	7	
1.	Tahap persiapan penelitian								
	a. Persiapan bahan	√							Lab. Botani STIKes Kartrasa
	b. Persiapan alat	√							Lab. Botani STIKes Kartrasa
2.	Tahap penelitian								
	a. Determinasi Tanaman		√						UPT. Matera Medika Batu, Jawa Timur
	b. Pembuatan ekstrak			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
	c. Fraksinasi			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
	d. Skrining fitokimia			√					Lab. Botani STIKes Kartrasa
	e. Identifikasi bakteri				√				Lab. Botani STIKes Kartrasa
	f. Uji aktivitas antibakteri				√				Lab. Mikrobiologi STIKes Kartrasa
3.	Tahap penyelesaian								
	a. Analisis dan pengolahan data					√			STIKes Karya Putra Bangsa
	b. Penyusunan laporan						√		STIKes Karya Putra Bangsa
	c. Pengumpulan laporan							√	STIKes Karya Putra Bangsa

Tabel 3.1 Jadwal pelaksanaan penelitian

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman ketumbar (*Corinadrum sativum L*) dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman ketumbar (*Corinadrum sativum L.*) dengan kunci determinasi yaitu 1b- 2b-3b- 4b-6b -7b- 9b- 10b- 11b- 12b- 13b- 14a- 16a-239b-244b-243b-250b-248b-249b-266b- 267a-268a-269b. Hasil determinasi tanaman ketumbar dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.2 Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air pada simplisia ketumbar dapat digunakan sebagai salah satu parameter dalam melihat kualitas dari simplisia ketumbar yang digunakan dalam penelitian ini. Metode uji kadar air simplisia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan oven. Prinsip dari metode oven adalah bahwa air yang terkandung dalam suatu bahan akan menguap bila bahan tersebut dipanaskan pada suhu 105^o C selama 5 jam atau sampai diperoleh berat konstan (Daud *et.al.*, 2019). Perbedaan antara berat sebelum dan sesudah proses pengeringan adalah kadar air (Aventi, 2015). Hasil dari uji kadar air serbuk simplisia ketumbar dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil uji kadar air serbuk simplisia biji ketumbar

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Biji ketumbar	10 gr	9,08 g	9,2%

Keterangan: Rumus % kadar air = $\frac{\text{Bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$ (Depkes RI, 2014)

Hasil uji kadar air serbuk biji ketumbar yaitu 9,2%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk biji ketumbar belum melampaui batas maksimal yaitu 10% (BPOM, 2014). Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017) kandungan air dalam

serbuk simplisia ketumbar telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatis tidak dapat berlangsung apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dan dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM, 2014). Reaksi enzimatis tersebut terjadi karena didalam sel terdapat enzim tertentu yang masih dapat menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan reaksi tersebut dipengaruhi oleh kadar air pada serbuk simplisia.

4.3 Pembuatan Ekstrak Biji Ketumbar

Proses pembuatan ekstrak biji ketumbar menggunakan metode maserasi dengan perbandingan antara serbuk kering simplisia ketumbar dengan pelarut etanol 96% yaitu 1:7,5 (Ratna *et al.*, 2015). Pemilihan pelarut etanol 96% sebagai pelarut ekstraksi yaitu karena etanol 96% bersifat aman, kemudian mudah saat diuapkan serta mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar sehingga dapat menarik senyawa secara optimum (Sulastri *et al.*, 2015). Pelarut etanol yang konsentrasinya semakin tinggi yang digunakan dalam ekstraksi maka daya merusak sel menjadi semakin besar sehingga senyawa aktif yang terekstraksi semakin banyak dan dapat menghasilkan senyawa rendemen ekstrak yang tinggi (Egra *et al.*, 2019). Etanol 96% dapat menarik berbagai senyawa baik polar maupun non polar seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid yang terkandung dalam biji ketumbar dapat tertarik kedalam pelarut (Septiani *et al.*, 2017).

Prinsip ekstraksi maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*Like Dissolved Like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel biji ketumbar, Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa tersebut akan berlangsung secara terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Wahdaningsih *et al.*, 2014). Hasil rendemen ekstrak biji ketumbar dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil rendemen ekstrak biji ketumbar

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Biji Ketumbar	500 gr	60 gr	12%

$$\text{Rumus \% rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan} \times 100\%}{\text{Bobot awal serbuk simplisia}} \text{ (Depkes RI, 2014)}$$

Berdasarkan Tabel 4.2 nilai rendemen ekstrak biji ketumbar yaitu sebesar 12%. Hasil % rendemen biji ketumbar menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017) tidak kurang dari 10,8%, sehingga dapat disimpulkan hasil rendemen ekstrak biji ketumbar yang diperoleh telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Salah satu faktor yang mempengaruhi rendemen adalah lama ekstraksi, akurasi lama waktu yang digunakan berpengaruh terhadap efisiensi proses (Jeremia *et al.*, 2016).

4.4 Fraksinasi Biji Ketumbar

Ekstrak biji ketumbar selanjutnya dilakukan proses fraksinasi untuk memisahkan golongan senyawa yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran (Hermawan *et al.*, 2016). Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi (Wahdaningsih *et al.*, 2014).

Hasil fraksinasi biji ketumbar dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil fraksinasi biji ketumbar

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
N-heksan	5 gr	2,31 g	46,2%
Aquadestilata	5 gr	1,46 g	29,2%
Diklorometana	5 gr	1,18 g	23,6%

$$\text{Keterangan: \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot Fraksi yang dihasilkan} \times 100\%}{\text{Bobot awal ekstrak simplisia}}$$

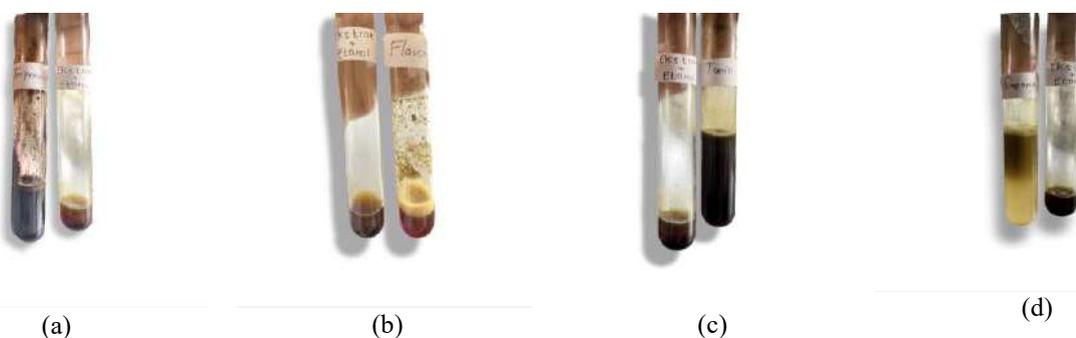


Gambar 4.1 Proses Fraksinasi

Berdasarkan Tabel 4.3 rendemen fraksi yang diperoleh masing-masing fraksi berbeda dikarenakan kemampuan pelarut dalam proses penyarian berbeda sesuai tingkat kepolaran. Nilai rendemen tertinggi terdapat pada fraksi n-Heksan sebesar 46,2%. Hal ini diduga karena dikarenakan adanya banyaknya senyawa non polar dan komponen-komponen lemak yang terdapat pada biji ketumbar. Biji ketumbar mengandung senyawa yang bersifat non polar yaitu Terpenoid sehingga pelarut n-heksan dapat melarutkan senyawa non polar dalam biji ketumbar dengan baik dan nilai rendemen fraksi n-heksan yang dihasilkan paling tinggi jika dibandingkan dengan fraksi aquadest dan diklorometana (Wala *et.al.*, 2015). Menurut penelitian Fitriani *et al.* (2019) didalam biji ketumbar mengandung linalool 60-70% yang merupakan terpenoid alkohol. Tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan (Lamadjido *et.al.*, 2019).

4.5 Skrining Fitokimia

Untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksi biji ketumbar dilakukan secara kualitatif menggunakan metode skrining fitokimia. Skrining fitokimia ekstrak dan fraksi biji ketumbar bertujuan untuk memastikan keberadaan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya dengan penambahan reagen tertentu. Menurut penelitian (Huljani and Ahsanunnisa, 2019) senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam biji ketumbar berupa flavonoid, tanin, terpenoid, saponin. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi biji ketumbar dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.5



Gambar 4.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji ketumbar pada senyawa (a) Terpenoid, (b) flavonoid, (c)tanin, (d) saponi

Tabel 4.5 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji ketumbar

Golongan senyawa	Perubahan warna	Hasil
Terpenoid	Coklat kemerahan	+
Flavonoid	Merah	+
Tannin	Hitam kebiruan	+
Saponin	Terbentuk busa stabil	+

Keterangan: (+) Terdapat senyawa (-) Tidak terdapat senyawa

Tabel 4.4 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji ketumbar

Golongan senyawa	Sampel fraksi	Hasil
Terpenoid	n-Heksana	+
Flavonoid		+
Tanin		+
Saponin		+
Terpenoid	<i>Aquadest</i>	+
Flavonoid		+
Tanin		-
Saponin		+
Terpenoid	Diklorometana	+
Flavonoid		+
Tanin		-
Saponin		+



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Biji Ketumbar pada senyawa (a) Terpenoid, (b) flavonoid, (c)tanin, (d) saponin

Identifikasi terpenoid bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa terpenoid dalam ekstrak dan fraksi biji ketumbar. Adanya senyawa terpenoid ditandai terbentuk warna coklat kemerahan. Hasil uji terpenoid pada ekstrak dan fraksi biji ketumbar menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna coklat kemerahan pada sampel. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa terpenoid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrid (Habibi *et al.*, 2018).

Identifikasi flavonoid bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi biji ketumbar. Adanya senyawa flavonoid pada sampel ditandai apabila terbentuk warna kuning, jingga, atau merah (Nafisah *et al.*, 2014). Hasil uji flavonoid pada ekstrak dan fraksi biji ketumbar menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sampel. Warna yang terbentuk pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

Identifikasi tanin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa tannin dalam ekstrak dan fraksi biji ketumbar. Hasil uji tanin pada ekstrak dan fraksi n-heksan biji ketumbar menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam kebiruan, sedangkan pada fraksi aquadest dan diklorometana memiliki hasil negatif. Hal ini berarti bahwa senyawa tannin dapat tertari pada pelarut n-heksan. Perubahan warna dikarenakan tanin membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺ (Latifah, 2015).

Identifikasi saponin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa saponin dalam ekstrak dan fraksi biji ketumbar. Adanya senyawa saponin pada sampel ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit. Hasil uji saponin pada ekstrak dan fraksi biji ketumbar menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa konstan pada sampel. Busa yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015).

4.6 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923

Pengujian bakteri ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah benar *Staphylococcus aureus*. Bakteri uji pada penelitian ini yaitu benar *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Identifikasi bakteri yang dilakukan yaitu Uji pewarnaan dan identifikasi MSA. Hasil dari identifikasi bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil identifikasi bakteri

Perlakuan	Hasil	Kesimpulan
Pewarnaan Bakteri	Kokus ungu	+
Identifikasi MSA	Berwarna kuning	+

Keterangan: (+) : teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*



Uji pewarnaan



Identifikasi MSA

Gambar 4.4 Hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

4.6.1 Pewarnaan Gram Bakteri

Identifikasi awal yang perlu dilakukan adalah pewarnaan Gram bakteri. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengaati morfologi dan mengetahui kemurnian sel bakteri *Staphylococcus*. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi positif *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuk coccus dan menghasilkan warna ungu pada saat diamati dibawah mikroskop sehingga termasuk bakteri

Gram positif. Warna ungu ini disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu Kristal violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Dewi, 2013).

4.6.2 Identifikasi MSA

Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* menggunakan media mannitol salt agar (MSA) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan dikelilingi zona kuning karena kemampuan memfermentasi mannitol. Media MSA mengandung konsentrasi garam NaCl yang tinggi (7,5%- 10%) sehingga membuat MSA menjadi media selektif untuk *Staphylococcus*, karena tingkat NaCl yang tinggi menghambat bakteri yang lain tumbuh (Maulitasari, 2014). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen sehingga sampel positif ditandai dengan adanya perubahan warna kuning pada media, zona kuning yang dihasilkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* yang bersifat patogen mampu memfermentasi gula yang terdapat didalam larutan mannitol sehingga meningkatkan kadar asam dan mengubah warna larutan menjadi kuning (Hayati *et al.*, 2019).

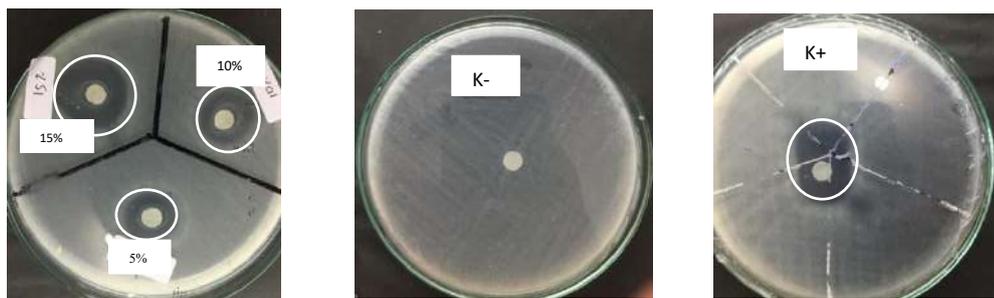
4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Biji Ketumbar Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan karena pada metode ini proses pengerjaan mudah untuk dilakukan serta peralatan yang digunakan sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus (Rahmadani, 2015). Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat dengan adanya diameter zona hambat pada kertas cakram. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar ini diperoleh melalui pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam masa inkubasi dengan 3 kali pengulangan. Pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan oleh luas diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Mulyadi *et al.*, 2017). Prinsip metode ini yaitu fraksi dan ekstrak biji ketumbar akan berdifusi

kedalam media yang telah diinokulasi bakteri uji sehingga fraksi dan ekstrak biji ketumbar akan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.7.1 Uji Aktivitas Antibakteri Orientasi Ekstrak

Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak digunakan sebagai acuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum yang akan digunakan untuk selanjutnya pengujian aktivitas antibakteri perbandingan ekstrak dan fraksi biji ketumbar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ruri Ayudya *et.al* (2016) ekstrak etanol biji ketumbar terhadap bakteri bakteri *Propionibacterium acnes* dengan konsentrasi 4%, 6%,8% dan10% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 10,83;11,16;11,26; dan 11,46 mm dan termasuk dalam kategori kuat. Dalam penelitian ini digunakan orientasi konsentrasi ekstrak yaitu 5%, 10%, dan 15%. Kontrol positif yang digunakan adalah vancomycin 2 µg/mL. Vancomycin bekerja menghambat penghambatan biosintesis dinding sel sesuai dengan senyawa dalam biji ketumbar yaitu terpenoid (Ayu *et al.*, 2013). Kontrol negatif yang digunakan pada ekstrak adalah etanol 96%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Roslizawaty *et al.* (2013) menyatakan bahwa kontrol negatif etanol 96% yang digunakan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.



Uji antibakteri orientasi ekstrak

K- etanol 96%

K+ Vancomycin

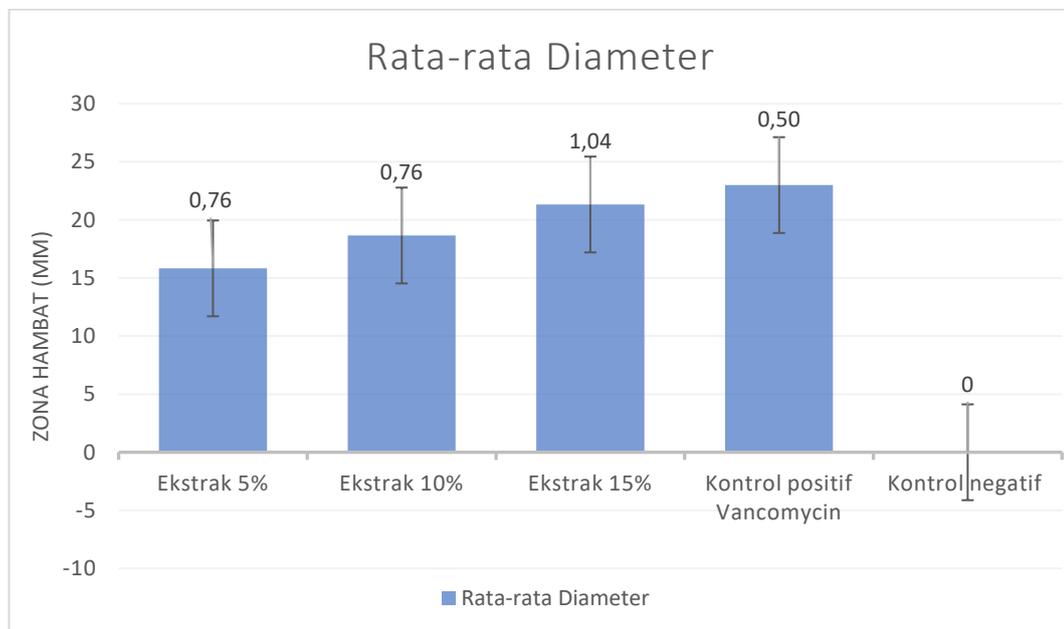
Gambar 4.5 Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak biji ketumbar

Hasil uji aktivitas antibakteri pada ekstrak biji ketumbar menunjukkan bahwa ekstrak biji ketumbar mempunyai aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus*

Aureus ATCC 25923 yang ditunjukkan dengan daerah bening disekitar kertas cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Orientasi Ekstrak

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3	
Ekstrak biji ketumbar 5%	15	16	16,5	15,83±0,76
Ekstrak biji ketumbar 10%	19,5	18,5	18	18,66±0,76
Ekstrak biji ketumbar 15%	21	22,5	20,5	21,33±1,04
Kontrol positif Vancomycin	23	22,5	23,5	23,00±0,50
Kontrol negatif	0	0	0	00,00±0,000



Gambar 4.6 Diagram rata-rata diameter zona hambat orientasi ekstrak

Berdasarkan pengujian *Post Hoc* menunjukkan bahwa kontrol negatif terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol positif dan berbagai konsentrasi ekstrak biji ketumbar, hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kontrol negatif etanol 96% menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk. Hal ini berarti bahwa etanol 96% tidak mempengaruhi uji aktivitas antibakteri sehingga zona hambat diketahui bukan berasal dari pelarut. Hal tersebut diduga karena etanol 96% pekat dan sedikit mengandung air sehingga ketika diletakan pada papper disc pelarut sudah menguap dan tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri dibanding menggunakan pelarut lain. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang

dilakukan oleh Noer (2011) yang menyatakan bahwa etanol 96% pekat dan tidak mengandung air atau campuran lainya serta mudah mengalami penguapan sehingga aktivitas antibakterinya rendah atau tidak memiliki aktivitas antibakteri jika dibandingkan dengan alkohol yang mengandung air. Selain itu, berdasarkan penelitian Jannah *et al.* (2020) pelarut etanol 96% dapat masuk ke rongga sel tanaman yang mengandung senyawa aktif. Etanol 96% merupakan pelarut universal dengan indeks polaritas 5,2 sehingga dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar secara optimum pada bahan alam (Septiani *et al.*, 2017).

Kontrol Positif vancomycin menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan ekstrak biji ketumbar konsentrasi 5% dan 10%. Hal ini dapat dibuktikan berdasarkan analisis statistika didapatkan nilai signifikasi $p < 0,05$. Sedangkan pada konsentrasi 15% menunjukkan tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif vancomycin dengan nilai signifikasi $p > 0,05$. Hal ini berarti bahwa konsentrasi 15% memiliki efek yang hampir sama dengan kontrol positif. Mekanisme kerja vancomycin sebagai antibakteri adalah dengan cara berinteraksi dengan d-alanin rantai pentapeptida dan menghambat sintesis fosfolipid dinding sel bakteri sehingga peptidoglikan menjadi lemah dan sel bakteri mudah hancur (Jazmin, *et al.*, 2018).

Konsentrasi ekstrak 5% berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 15%. Hal ini berarti bahwa ekstrak 5% memiliki efek antibakteri yang berbeda dengan kedua konsentrasi. Kemampuan suatu senyawa antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada konsentrasi senyawa antibakteri yang digunakan (Mpila *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak 15% menunjukkan zona hambat paling besar dibandingkan dengan konsentrasi 5% dan 10%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak biji ketumbar dapat menghasilkan diameter zona hambat yang semakin besar. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Vera *et al.* (2017) menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak yang semakin besar maka aktivitas antibakteri yang dihasilkan semakin besar dan diameter zona hambat yang terbentuk menjadi semakin luas.

Tabel 4.8 Hasil *Post Hoc* dengan metode *Tukey HSD* Orientasi Ekstrak Ketumbar

Zona Hambat					
Tukey HSD ^a					
Sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	0,0000			
Ekstrak 5%	3		15,8333		
Ekstrak 10%	3			18,6667	
Ekstrak 15%	3				21,3333
Kontrol Positif	3				23,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,093

Berdasarkan Tabel 4.8 dapat diketahui bahwa ekstrak biji ketumbar konsentrasi konsentrasi 15% merupakan konsentrasi yang memiliki zona hambat paling besar dan berada satu kolom dengan kontrol positif jika dibanding dengan konsentrasi 5% dan 10%. Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak biji ketumbar dalam menghambat bakteri *Staphylococcus Aureus* adalah pada konsentrasi 5%. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak biji ketumbar 5% dalam penelitian ini diketahui memiliki kemampuan daya hambat termasuk dalam kategori kuat, sehingga dapat disimpulkan bahwa kemampuan ekstrak biji ketumbar 5% dalam menghambat pertumbuhan bakteri cukup besar sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Febrianasari, (2018) menyatakan bahwa suatu zat aktif dapat dikatakan memiliki potensi yang tinggi sebagai antibakteri jika pada konsentrasi yang rendah namun memiliki zona hambat yang kuat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rastina *et al* (2015), juga menyatakan bahwa konsentrasi efektif adalah konsentrasi yang daya antibakterinya dikategorikan kuat untuk menimbulkan zona hambat.

Berdasarkan acuan standar Departemen Kesehatan Republik Indonesia bahwa senyawa antibakteri dapat dikategorikan peka terhadap bakteri yang diujikan apabila diameter zona hambat yang dihasilkan antara 1,2–2,4 cm, maka terlihat bahwa ekstrak biji ketumbar 5% memiliki kepekaan secara maksimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena pada konsentrasi 5% yang diujikan pada

bakteri *Staphylococcus Aureus* sudah menghasilkan zona hambat dalam kategori kuat (Sriwanti *et al.*,2020).

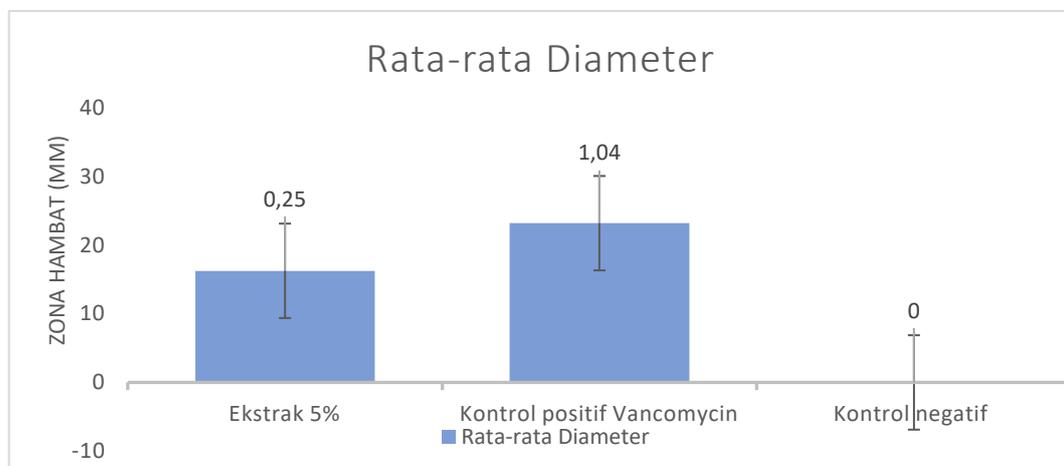
4.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Ketumbar 5%

Uji aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan perbandingan antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar dengan konsentrasi yang sama yaitu 5%. Uji Aktivitas antibakteri ekstrak biji ketumbar 5% yang telah dilakukan menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram. Dari hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak biji ketumbar terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* ekstrak biji ketumbar 5% memiliki rata-rata zona hambat $16,23 \pm 0,25$ mm.

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Vancomycin dengan konsentrasi $2 \mu\text{g/mL}$ dan kontrol negatif menggunakan etanol 96%. Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri kontrol positif vancomycin memiliki rata-rata zona hambat $23,16 \pm 1,04$ dan kontrol negatif etanol 96% $0,00 \pm 0,00$ mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak ketumbar dapat dilihat pada Tabel 4.10

Tabel 4.9 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Ketumbar 5%

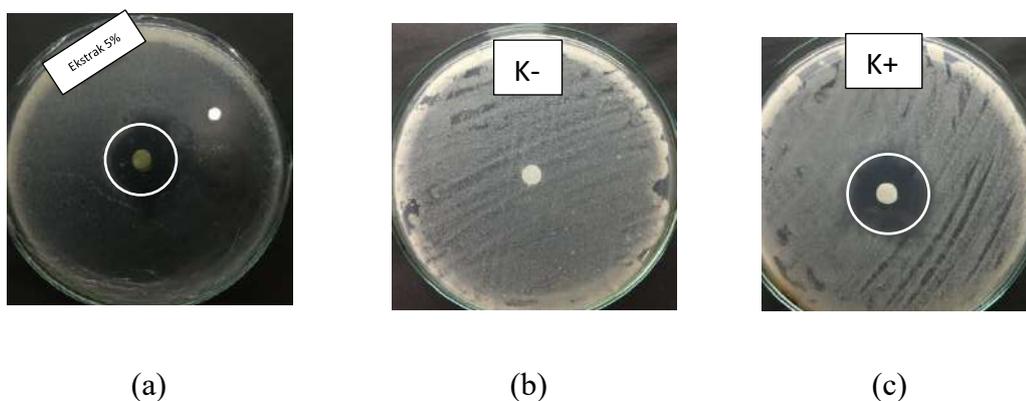
Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata \pm Standart Deviasi
	1	2	3	
Ekstrak biji ketumbar 5%	16,5	16	16,2	$16,23 \pm 0,25$
Kontrol positif Vancomycin	23,5	24	22	$23,16 \pm 1,04$
Kontrol negatif Etanol 96%	0	0	0	$00,00 \pm 0,000$



Gambar 4.7 Diagram rata-rata diameter zona hambat ekstrak 5%

Berdasarkan pengujian *Post Hoc* menunjukkan bahwa kontrol positif terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol negatif dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hasil tersebut dikarenakan kontrol positif vancomycin merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian oleh Edyson *et al.* (2020) bahwa Vancomycin sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*. Mekanisme kerja vancomycin sebagai antibakteri adalah dengan cara berinteraksi dengan d-alanin rantai pentapeptida dan menghambat sintesis fosfolipid dinding sel bakteri sehingga peptidoglikan menjadi lemah dan sel bakteri mudah hancur (Leono *et al.*, 2020).

Kontrol negatif yang digunakan tidak mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dikarenakan etanol 96% merupakan senyawa polar yang mudah menguap sehingga baik digunakan sebagai pelarut dan tidak menghasilkan zona hambat (Sari *et al.*, 2016). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji ketumbar 5% terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna pada ekstrak biji ketumbar 5% dengan kelompok kontrol hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak yang rendah dapat mempengaruhi banyak sedikitnya konsentrasi zat aktif yang terkandung pada ekstrak sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri menjadi berkurang (Musnina *et al.*, 2019).



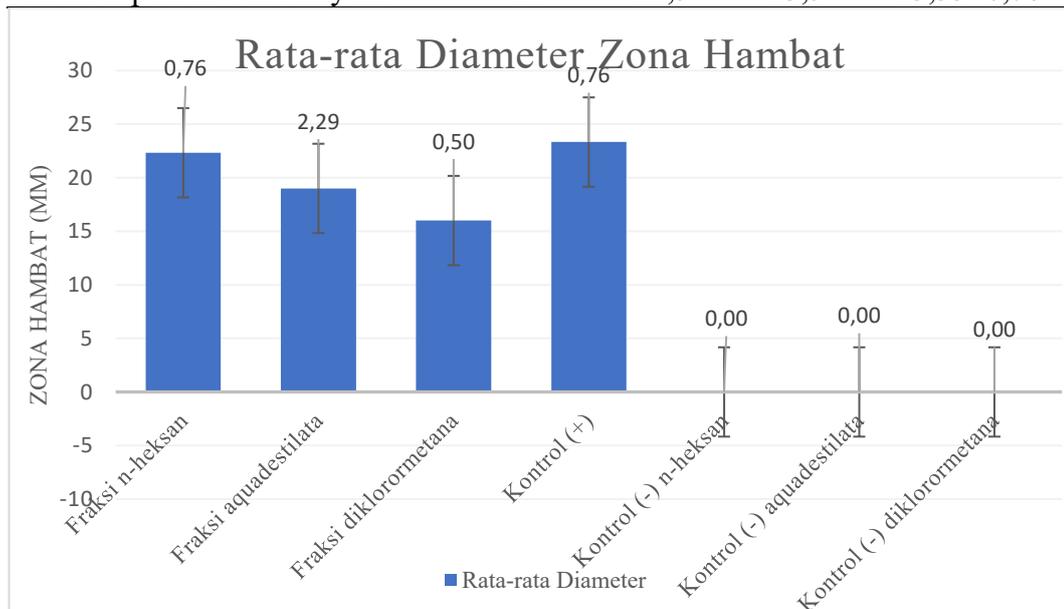
Gambar 4.8 (a) Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak ketumbar 5%,(b) kontrol negatif,(c) kontrol positif

4.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Biji Ketumbar 5%

Kontrol positif pada fraksi biji ketumbar adalah Vancomycin 2 µg/mL, kontrol positif pada fraksi dilakukan dengan cara mengencerkan vancomycin dengan pelarut *aquadestilata*. Hal ini dilakukan karena vancomycin dapat larut secara sempurna pada *aquadestilata* (Depkes RI, 2014). Kontrol negatif yang digunakan pada fraksi adalah pelarut masing-masing fraksi yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar menunjukkan bahwa seluruh fraksi biji ketumbar mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah bening disekitar kertas cakram. Hasil rata-rata diameter zona hambat untuk fraksi n-heksan, *aquadestilata*, dan diklorometana berurut-turut sebesar 22,33±0,76, 19,00±2,29 dan 16,00±0,50.

Tabel 4.10 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar

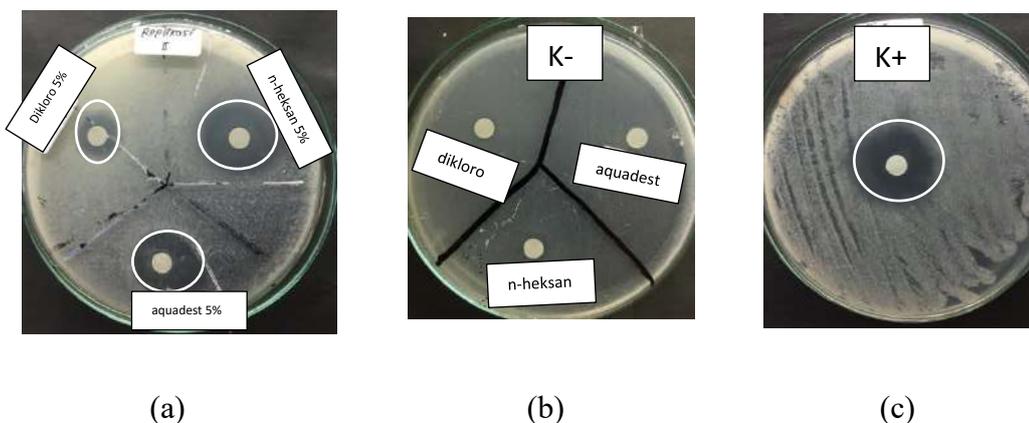
Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata ± Standart Deviasi
	1	2	3	
Fraksi n-heksan	23	21,5	22,5	22,33±0,76
Fraksi <i>aquadest</i>	21,5	18,5	17	19,00±2,29
Fraksi diklorometana	15,5	16	16,5	16,00±0,50
Kontrol negatif n-heksan	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negatif <i>aquadest</i>	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol negative diklorometana	0	0	0	00,00±0,000
Kontrol positif Vancomycin	24	22,5	23,5	23,33±0,76



Gambar 4.9 Rata-rata diameter zona hambat fraksi

Kontrol positif pada penelitian ini, memberikan zona hambat dengan diameter rata-rata sebesar $23,33 \pm 0,76$. Kontrol positif vancomycin menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan termasuk dalam kategori sangat kuat. Berdasarkan analisis statistika menunjukkan bahwa kontrol positif dengan kontrol negatif mempunyai perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hasil tersebut dikarenakan kontrol positif vancomycin merupakan suatu bahan kimia yang telah terbukti dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian oleh Edyson *et al.* (2020) bahwa Vancomycin sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus*. Hal ini juga sesuai berdasarkan standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) yang menyatakan bahwa bila besaran zona hambat vancomycin > 17 mm maka zona hambat vancomycin terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* tergolong sensitif (*Institute*, 2017). Vancomycin bekerja dengan cara berinteraksi dengan d-alanin rantai pentapeptida dan menghambat sintesis fosfolipid dinding sel bakteri sehingga peptidoglikan menjadi lemah dan sel bakteri mudah hancur (*Leono et al.*, 2020).

Kontrol negatif yang digunakan pada fraksi adalah pelarut masing-masing fraksi yaitu *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksan. Berdasarkan Tabel 4.10 dapat diketahui kontrol negatif berupa pelarut n-heksan, *aquadestilata* dan diklorometana memiliki rata-rata zona hambat $0,00 \pm 0,000$. Berdasarkan analisis statistika terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol negatif dan kontrol positif serta fraksi biji ketumbar dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut masing-masing fraksi tidak mempengaruhi uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri berasal dari zat uji dan bukan berasal dari pelarut (*Egra, -, et al.*, 2019).



Gambar 4.10 (a) Hasil uji antibakteri fraksi biji ketumbar 5%,
 (b) kontrol negat, (c) kontrol positif

Tabel 4.11 Hasil *Post Hoc* dengan metode *Tukey* perbandingan ekstrak dan fraksi

		Zona Hambat			
Tukey HSD ^a		Subset for alpha = 0.05			
Sampel	N	1	2	3	4
K- ekstrak	3	0,0000			
K- n-heksan	3	0,0000			
K- aquadest	3	0,0000			
K- dikorometana	3	0,0000			
fraksi diklorometana	3		16,0000		
ekstrak 5%	3		16,2333		
fraksi aquadest	3			19,0000	
fraski n-heksan	3				22,3333
K+ ekstrak	3				23,1667
K+ fraksi	3				23,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,918

Berdasarkan Tabel 4.11 menunjukkan bahwa uji aktivitas antibakteri fraksi biji ketumbar yang memiliki zona hambat paling aktif adalah fraksi n-heksan dengan ditandainya diameter zona hambat paling besar jika dibandingkan dengan kedua fraksi lainnya. Hal ini dapat dibuktikan berdasarkan analisis statistika bahwa fraksi n-heksan diketahui terdapat perbedaan bermakna dengan kedua fraksi lainnya dengan didapatkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Fraksi n-heksan berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan fraksi *aquadestilata* dan fraksi diklorometana. Sedangkan pada kelompok kontrol, fraksi n-heksan terdapat perbedaan bermakna

dengan kontrol negatif namun tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol positif vancomycin. Hal ini dapat dibuktikan berdasarkan analisis statistika didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$ yang berarti bahwa fraksi n-heksan yang diujikan hampir setara dengan antibiotik vancomycin. Hal tersebut diduga fraksi n-heksan merupakan fraksi yang bersifat non polar sehingga bekerja dengan baik dalam menarik senyawa non-polar (terpenoid) serta ada kemungkinan senyawa polar atau semipolar juga tertarik ke dalam fraksi n-heksan pada saat proses fraksinasi sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan (Pratama, 2020). Selain itu pada saat proses fraksinasi, fraksi n-heksan diduga didapatkan zat yang spesifik dan senyawa-senyawa pengganggu lebih sedikit sehingga memberikan efek antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan kedua fraksi lainnya (Sernita *et al.*, 2019). Senyawa terpenoid bekerja dengan bereaksi pada porin (protein transmembran) kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga membuat sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dan menyebabkan bakteri mati atau terhambat (Retnowati *et al.*, 2011).

Fraksi *aquadestilata* memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi diklorometana sehingga fraksi diklorometana diketahui berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan fraksi *aquadestilata*, hal ini dapat dibuktikan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini diduga bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri pada fraksi *aquadestilata* memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi diklorometana seperti flavonoid, tanin dan saponin sehingga memiliki zona hambat yang dihasilkan lebih besar. Selain itu diduga bahwa diklorometana bersifat mudah menguap sehingga tidak mampu bekerja secara optimum. Menurut penelitian Darwis *et al.* (2016) proses penguapan dapat berpengaruh terhadap pelarut diklorometana. Senyawa flavonoid bekerja dengan menyebabkan kerusakan terhadap permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Bontjura *et al.*, 2015). Senyawa tanin bekerja dengan mengkerutkan dinding sel sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan

menyebabkan terganggunya permeabilitas sel sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Ngajow *et.al.*, 2013). Senyawa saponin bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis pada sel (Rahman *et.al.*, 2017). Kemampuan penghambatan pada masing-masing fraksi dapat disebabkan karena kandungan senyawa pada fraksi berbeda sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut sehingga zona hambat yang dihasilkan juga berbeda (Ngazizah *et.al.*, 2016).

Berdasarkan data hasil penelitian diatas aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi biji ketumbar dengan konsentrasi yang sama yaitu 5% memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan analisis statistika menunjukkan bahwa fraksi n-heksan terdapat perbedaan yang bermakna dengan ekstrak biji ketumbar 5% dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hal ini diduga oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada didalam ekstrak masih berupa campuran beberapa senyawa dan belum dilakukan proses pemisahan senyawa sehingga daya hambat yang dihasilkan lebih kecil, selain itu pada fraksi diduga karena senyawa yang dihasilkan sudah spesifik karena telah dilakukan proses pemisahan sehingga zona hambat yang dihasilkan lebih besar. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurlansi and Jahidin (2017) yang menyatakan bahwa kandungan metabolit aktif yang terdapat fraksi lebih tinggi jika telah dipisahkan dengan kandungan kimia yang lain. Perbedaan besarnya zona hambat juga dapat diakibatkan antara lain sedikitnya kandungan zat aktif antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak, kecepatan difusi bahan antibakteri ke dalam media, kepekaan pertumbuhan bakteri, pH lingkungan, komponen media, waktu inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme (Novita, 2016).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi *aquadestilata*, diklorometana dan n-heksana dan Ekstrak biji ketumbar mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditandai adanya zona hambat yang terbentuk.
2. Aktivitas antibakteri antara ekstrak dan fraksi biji ketumbar yang memiliki zona hambat paling kuat adalah pada fraksi n-heksan karena fraksi n-heksan bersifat non polar sehingga dapat bekerja dengan baik dalam menarik senyawa non-polar serta ada kemungkinan senyawa polar atau semipolar juga tertarik ke dalam fraksi n-heksan pada saat proses fraksinasi dan dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksan (Pratama, 2020).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan obat untuk mengetahui keefektifan biji ketumbar sebagai bahan baku obat tradisional.
2. Perlu dilakukan uji kuantitatif senyawa dalam biji ketumbar untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
4. Pemekatan ekstrak dan fraksi perlu digunakan Rotary evaporator

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina W, Nurhamidah, Dan D. H. (2017) 'Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus Communis* L.)', *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), P. Hlm. 117-122.
- Agustina, W. *Et Al.* (2012) 'Antibody Protein Hemagglutinin Subunit Pili With Mw 49, 8 Kda *Shigella Dysenteriae* Can Inhibit *Shigella Dysenteriae* Adhesion On Mice Enterocyte', *Iosr Journal Of Pharmacy*, 2(5), Pp. 13–20.
- Agustini, N. W. S., Kusmiati And Handayani, D. (2017) 'Aktivitas Antibakteri Dan Identifikasi Senyawa Kimia Asam Lemak Dari Mikroalga *Lyngbya Sp.*', Pp. 99–107.
- Amelia, F. R. (2015) 'Penentuan Jenis Tanin Dan Penetapan Kadar Tanin Dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia Speciosa* Pers.) Secara Spektrofotometri Dan Paranganometri', *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2), Pp. 1–20.
- Anggraini, R., Dwinnaliza And Mellisa, S. (2016) 'Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Yang', *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 1(2), Pp. 270–286.
- Ariani, N. And Norjannah (2017) 'Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok Mentah (*Musa Paradisiaca* Forma Typica) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Secara In Vitro', *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), Pp. 296–303.
- Ariyantini, M. D. (2017) *Digital Digital Repository Repository Universitas Universitas Jember Jember Staphylococcus Aureus Digital Digital Repository Repository Universitas Universitas Jember Jember, Skripsi.*
- Astuti, P. And Rosyana, E. (2013) 'Ekstraksi Minyak Ketumbar (*Coriander Oil*) Dengan Pelarut Etanol Dan N-Heksana', *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(1), Pp. 1–1.
- Atikah, N. (2013) 'Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum Americanum* L) Terhadap *Staphylococcus Aurereus* Dan *Candida Albicans*'.
- Atlas, R. M. (2010) *Handbook Of Microbiological Media*. Crc Press.
- Aventi (2015) 'Penelitian Pengukuran Kadar Air Buah', *Seminar Nasional Cendekiawan 2015*, Pp. 12–27.
- Ayu, Dwi P., Indrayudha, Peni., Dan Trisharyamti, I. D. K. (2013) 'Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet ('), Pp. 1–18.
- Bontjura, S., Waworuntu, O. A. And Siagian, K. V. (2015) 'Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*', *Pharmacon*, 4(4).

- Bota, W., Martosupono, M. And Rondonuwu, F. S. (2015) 'Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (Citronella Oil) Dari Tumbuhan *Cymbopogon Nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri', *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi 2015*, 1(November), Pp. 1–8.
- Bpom (2014) *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara In Vitro*. Jakarta: Bpom Ri.
- Chen, C.-J. And Huang, Y.-C. (2014) 'New Epidemiology Of Staphylococcus Aureus Infection In Asia', *Clinical Microbiology And Infection*. Elsevier, 20(7), Pp. 605–623.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (2017) 'Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing', *Clsi Supplement M100*. Clinical And Laboratory Standards Institute Wayne, Pa.
- Cobra, L. S., Amini, H. W. And Putri, A. E. (2019) 'Skirining Fitokimia Ekstrak Sokhletasi Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa*) Dengan Pelarut Etanol 96 %', 1(1), Pp. 12–17.
- Darwis, A. A., Suryadarma, P. And Rosita, E. (2016) 'Pengaruh Lama Penguapan Pelarut (Diklorometana) Dan Konsentrasi Umpan Terhadap Filtrasi Saribuah Apel Pada Membran Selulosa Asetat Mikrobial', *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 14(1), Pp. 24–29.
- Daud, A., Suriat And Nuzulyant (2019) 'Kajian Penerapan Faktor Yang Mempengaruhi Akurasi Penentuan Kadar Air Metode Thermogravimetri', *Jurnal Lutjanus*, 24(2), Pp. 11–16.
- Departemen Kesehatan Republik And Indonesia (2014) *Farmakope Indonesia Edisi V*. Edited By D. J. P. O. Dan Makanan. Direktorat Jendral Bina Kefarmasian Kefarmasian Dan Alat Kesehatan.
- Depkes, R. I. (2014) 'Profil Kesehatan Indonesia', *Jakarta: Depkes Ri*.
- Dewi, A. K. (2013) 'Isolasi, Identifikasi Dan Uji Sensitivitas Staphylococcus Aureus Terhadap Amoxicillin Dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (Pe) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta', (9), Pp. 138–150.
- Egra, S., Mardhiana, ., *Et Al.* (2019) 'Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora Mucronata*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu', *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), P. 26.
- Egra, S., -, M., *Et Al.* (2019) 'Aktivitas Antimikroba Tanaman Paku (*Stenochlaena Palustris* Dan *Pteridium Caudatum*) Terhadap Bakteri (*Ralstonia Solanacearum* Dan *Streptococcus Sobrinus*)', *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(1), Pp. 28–36.
- Endang Dwi Wulansari, Dewi Lestari, M. A. K. (2020) 'Kandungan Terpenoid Dalam Daun Ara (*Ficus Carica* L.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap

- Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus', *Pharmakon-Program Studi Farmasi, Fmipa, Universitas Sam Ratulangi*, 9, Pp. 219–225.
- Endarini, L. H. (2016) 'Farmakognisi Dan Fitokimia', *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Erikawati, D., Santosaningsih, D. And Santoso, S. (2016) 'Tingginya Prevalensi Mrsa Pada Isolat Klinik Periode 2010-2014 Di Rsud Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia', *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(2), Pp. 149–156.
- Etikasari, R., Murharyanti1, R. And Wiguna, A. S. (2017) 'Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak Sarcophyton Sp. Sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan', *Indonesia Jurnal Farmasi*, 2(1), Pp. 28–36.
- Febrianasari, F. (2018) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (Chromolaena Odorata) Terhadap Staphylococcus Aureus', *Microbiology And Infectious Diseases On The Move*, Pp. 1–242.
- Fitri, L. And Yasmin, Y. (2011) 'Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik (Isolation And Observation Of Morphology Of Chitinolytic Bacteria Colony)', 3, Pp. 20–25.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N. And Fitri, A. S. (2020) 'Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak Khm (Kadar Hambat Minimum) Dan Kbm (Kadar Bakterisidal Minimum)', *Sainteks*, 16(2), Pp. 101–108.
- Fitriani, N. R., Muryani, S. And Windarso, S. E. (2019) 'Pengaruh Formulasi Ekstrak Biji Ketumbar (Coriandrum Sativum) Sebagai Repellent Nyamuk Aedes Sp', *Jurnal Kesehatan Lingkungan: Jurnal Dan Aplikasi Teknik Kesehatan Lingkungan*, 16(2), Pp. 775–782.
- Foster, T. J. *Et Al.* (2014) 'Adhesion , Invasion And Evasion : The Many Functions Of The Surface Proteins Of Staphylococcus Aureus', *Nature Publishing Group*. Nature Publishing Group, 12(1), Pp. 49–62.
- G, A. N. W., Astuti, K. W. And Warditiani, N. K. (2012) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber Purpureum Roxb.)', *Jurnal Farmasi Udayana*, 344(4), Pp. 1–7.
- Greenwood, D. *Et Al.* (2012) *Medical Microbiology E-Book: A Guide To Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis And Control. With Student Consult Online Access*. Elsevier Health Sciences.
- Hadipoentyanti, E. And Wahyuni, S. (2017) 'Pengelompokan Kultivar Ketumbar Berdasar Sifat Morfologi', *Buletin Plasma Nutfah*, 10(1), P. 32.
- Hasanah, N. And Dori, R. S. (2019) 'Daya Hambat Ekstrak Biji Ketumbar (Coriandrum Sativum L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella Dysenteriae Metode Cakram', *Edu Masda Journal*, 3(2), Pp. 115–122.
- Hayati, L. N. *Et Al.* (2019) 'Isolasi Dan Identifikasi Staphylococcus Aureus Pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis Di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi', *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), P. 76.

- Herawati, F. And Irawati, L. (2014) 'Terapi Antibiotik Pada Infeksi Nosokomial', *Repository.Ubaya.Ac.Id*, 9(2), Pp. 15–16.
- Hermawan, D. S., Lukmayani, Y. And Dasuki., U. A. (2016) 'Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Dan Fraksi Yang Berasal Dari Buah Berenuk (Crescentia Cujete L.)'.
- Huda, C., Putri, A. E. And Sari, D. W. (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat Zibethinus Folium Terhadap Escherichia Coli', *Jurnal Sain Health*, 3(1), Pp. 7–14.
- Huljani, M. And Ahsanunnisa, R. (2019) 'Pemanfaatan Ekstrak Buah Ketumbar (Coriandrum Sativum L.) Sebagai Larvasida Nabati Nyamuk Aedes Aegypti', In *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi*.
- Ikhwan Habibi, A. *Et Al.* (2018) 'Skrining Fitokimia Ekstrak N-Heksan Korteks Batang Salam (Syzygium Polyanthum)', *J. Chem. Sci*, 7(1), Pp. 1–4.
- Imam, G. (2011) 'Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program Ibm Spss 19', *Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro*.
- Indonesia, K. K. R. (2017) *Farmakope Herbal Indonesia, Pocket Handbook Of Nonhuman Primate Clinical Medicine*.
- Intan Mariam, T. (2015) 'Efektifitas Ekstrak Biji Ketumbar 3% Sebagai Obat Kumur Terhadap Akumulasi Plak Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Usu Angkatan 2011'.
- Iswara, R. D. *Et Al.* (2018) 'Isolasi Bakteri Vibrio Cholerae Pada Udang Vaname (Litopenaeus Vannamei) Terhadap Antibakteri Biji Ketumbar (Coriandrum Sativum) Rheza', 7(2).
- Jannah, N., Saleh, C. And Pratiwi, D. R. (2020) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Daun Alamanda (Allamanda Catharica L.)', Pp. 81–85.
- Jazmin, U. N., Agustina, D. And Prasetyo, R. (2018) 'Efektivitas Kombinasi Vankomisin Dan Vitamin C Terhadap Pertumbuhan Mrsa (Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus) (Effectiveness Of Vancomycin And Vitamin C Combination On Mrsa (Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus) Growth)', *Pustaka Kesehatan*, 6(1), P. 107.
- Jumiarni, W. O. And Komalasari, O. (2017) 'Eksplorasi Jenis Dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Muna Di Permukiman Kota Wuna', *Traditional Medicine Journal*, 22(1), Pp. 45–56.
- Kabera, J. N. *Et Al.* (2014) 'Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function And Pharmacological Properties', *J Pharm Pharmacol*, 2, Pp. 377–392.
- Kemenkes, R. I. (2014) 'Kementerian Kesehatan Republik Indonesia', *Pedoman Gizi Seimbang. Kemenkes Ri, Jakarta*.
- Kenneth, T. (2012) 'Online Textbook Of Bacteriology.', *Phd-Madison, Wisconsin Tozzi A., Caprioli A., Minelli F., Gianviti A., De Petris L., Edefonti A.*

- Montini G., Ferretti G., De Palo T., Gaido M., Rizzoni G.(2003). *Shiga Toxin–Producing Escherichia Coli Infections Associated With Hemolytic Uremic Syndrome*, Pp. 106–108.
- Kristian, J. *Et Al.* (2016) ‘Pengaruh Lama Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Mutu Minyak Bunga Melati Putih Menggunakan Metode Ekstraksi Pelarut Menguap (Solvent Extraction)’, *Jurnal Teknotan*, 10(2), Pp. 34–43.
- Lamadjido, S. R., Umrah, U. And Jamaluddin, J. (2019) ‘Formulasi Dan Analisis Nilai Gizi Bakso Kotak Dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*)’, *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, 5(2), Pp. 166–174.
- Latifah (2015) ‘Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga L.*)’, 151.
- Leono, L. V., Edyson And Budiarti, L. Y. (2020) ‘Perbandingan Aktivitas Daya Hambat Sediaan Tunggal Dengan Kombinasi Infus *Phyllanthus Niruri* Dan *Peperomia Pellucida* Terhadap *Staphylococcus Aureus*’, *Homeostasis*, 3(1), Pp. 75–82.
- M, G. *Et Al.* (2010) ‘Aspek Mikrobiologis Simplisia Jamu Godhog Yang Dijual Di Beberapa Pasar Tradisional Daerah Istimewa Yogyakarta’, *Laporan Pkm-P, Univesitas Sanata Dharma, Yogyakarta*, Pp. 3–9.
- Madigan, M. T. *Et Al.* (2012) ‘Brock Biologu Of Mcroorganism 13th Ed’. Benjamin Cummings, San Fransisco: Xxvii+ 1155hlm.
- Mahmudah, F. L. And Atun, S. (2017) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Temukunci (*Boesenbergia Pandurata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*’, 22(1), Pp. 59–66.
- Malangngi, L., Sangi, M. And Paendong, J. (2012) ‘Penentuan Kandungan Tanin Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea Americana Mill.*)’, *Jurnal Mipa*, 1(1), P. 5.
- Marjoni, R. M. (2016) ‘Dasar-Dasar Fitokimia. Cv’, *Trans Info Media. Jakarta Timur*.
- Maulida, D. And Zulkarnaen, N. (2010) ‘Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, N – Heksana, Aseton, Dan Etanol’, *Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik*, Pp. 1–8.
- Maulitasari, S. S. (2014) ‘Identifikasi Cemaran *Staphylococcus Aureus* Pada Daging Ayam Yang Di Jual Di Pasar Tradisional Dan Modern Di Sekitar Kampus Institut Pertanian Bogor’, *Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor*.
- Maurya, I. K. *Et Al.* (2011) ‘Antifungal Activity Of Novel Synthetic Peptides By Accumulation Of Reactive Oxygen Species (Ros) And Disruption Of Cell Wall Against *Candida Albicans*’, *Peptides*. Elsevier Inc., 32(8), Pp. 1732–1740.
- Mpila, D. ., Fatimawali And Wiyono, W. I. (2012) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Daun

- Mayana (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In-Vitro', *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (Coleus Atropurpureus [L] Benth) Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli Dan Pseudomonas Aeruginosa Secara In-Vitro*, P. 13.
- Muhamad, Z. K. (2014) 'Uin Syarif Hidayatullah Jakarta', (September).
- Mukhriani (2014) 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif', *Jurnal Agripet*, 7(2), P. 76.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W. And Sarjono, P. R. (2017) 'Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata Cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram', *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), Pp. 130–135.
- Mulyatni, A. S., Budiani, A. And Taniwiryono, D. (2016) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Terhadap *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, Dan *Staphylococcus Aureus*', *E-Journal Menara Perkebunan*, 80(2), Pp. 77–84.
- Musnina, W. O. S. *Et Al.* (2019) 'Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Dan Fraksi Organik Rimpang Wualae (*Etlingera Elatior* (Jack) R.M. Smith)', *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 5(1), Pp. 1–6.
- Nafisah, M., Tukiran, S. And Hidayati, N. (2014) 'Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae Hirtae*)', In *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, Pp. 281–282.
- Nasional, B. S. (2015) 'Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 9 Penentuan *Staphylococcus Aureus* pada Produk Perikanan.'
- Ngajow, M., Abidjulu, J. And Kamu, V. S. (2013) 'Antibacterial Effect Of Matoa Stem (*Pometia Pinnata*) Peels Extract To *Staphylococcus Aureus* Bacteria In Vitro', *Jurnal Mipa Unsrat*, 2(2), Pp. 128–132.
- Ngazizah, F. N., Ekowati, N. And Septiana, A. T. (2016) 'Potensi Daun Trembilungan (*Begonia Hirtella* Link) Sebagai Antibakteri Dan Antifungi', *Biosfera*, 33(3), Pp. 126–133.
- Ningsih, A. P., Nurmiati And Agustien, A. (2013) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa Paradisiaca* Linn.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*', *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J.Bio Ua.)*, 2(3), Pp. 207–213.
- Ningsih, D. R. And Zufahair, K. D. (2016) 'Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri', *Jurnal Molekul*, 11(1), Pp. 101–111.
- Noer, S. F. (2011) 'Pengaruh Kadar Etanol Dalam Sediaan Gel Antiseptika Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Thyposa*', *Program Studi Farmasi F. Mipa, Universitas Islam Makassar, Makassar. Iltek*, 6.
- Novita, W. (2016) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L)

- Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara In Vitro', *Jmj*, 4(2), Pp. 140–155.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F. And Ghazali, M. (2015) 'Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice', *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), Pp. 24–30.
- Nurlansi And Jahidin (2017) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Fraksi Etilasetat Daun Ketepeng Cina (*Casia Alata* L)', *The Japanese Journal Of Rehabilitation Medicine*, 2(2), Pp. 13–18.
- Nurviana, V. (2016) 'Profil Farmakognosi Dan Skrining Fitokimia Dari Kulit, Daging, Dan Biji Buah Limus (*Mangifera Foetida* Lour)', *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 16(1), P. 136.
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J. And Elya, B. (2018) 'Identifikasi Kandungan Saponin Dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria Rubra* L.) Dan Daya Surfaktan Dalam Sediaan Kosmetik', *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), Pp. 85–93.
- Oktiarni, D., Manaf, S. And Suripno (2012) 'Pengujian Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* Linn .) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Mencit (*Mus Musculus*)', *Gradien Journal*, 8(1), Pp. 752–755.
- Pakpahan, M., Ekowati, C. N. And Handayani, K. (2013) 'Karakterisasi Fisiologi Dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus Thuringiensis* Dari Tanah Naungan Di Lingkungan Universitas Lampung', *Jurusan Biologi Fmipa Universitas Lampung. Lampung. Hal*, Pp. 751–759.
- Pathak Nimish, L. *Et Al.* (2011) 'Phytopharmacological Properties Of Coriander Sativum As A Potential Medicinal Tree: An Overview', *J Appl Pharm Sci*, 1(4), Pp. 20–25.
- Pratama, Y. (2020) 'Studi Aktivitas Antibakteri Dari Nanoemulsi Fraksi Ekstrak Batang Pucuk Idat (*Cratoxylum Glaucum*)'. Universitas Bangka Belitung.
- Putra, A. A. B. *Et Al.* (2014) 'Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa Paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, Dan Sokletasi', *Journal Of Chemistry*, 8, Pp. 113–119.
- Putri, M. H., Sukini And Yodong (2017) 'Mikrobiologi'. Available At: <https://jurnal.umj.ac.id>.
- Putri, Z. F. (2010) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Terhadap *Propionibacterium Acne* Dan *Staphylococcus Aureus* Multiresisten'. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahmadani, F. (2015) 'Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lanea Coromandolica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Helicobacter Pylori*, *Pseudomonas Aeruginosa*.' Uin Syarif Hidayatullah Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, 2015.

- Rahman, F. A., Haniastuti, T. And Utami, T. W. (2017) 'Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Pada *Streptococcus Mutans Atcc 35668*', *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), P. 1.
- Rastina, Sudarwanto, M. And Wientarsih, I. (2015) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya Koenigii*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, Dan *Pseudomonas Sp.*', *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal Of Veterinary Sciences*, 9(2), Pp. 185–188.
- Ratna, Y. R. D. *Et Al.* (2015) 'Daya Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi-Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale L .*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Sensitif Dan Multiresisten (Antibacterial Activity Of Extract And Fractions Of Cashew Leaves (*Anacardium Occidentale L .*) Aga', *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), Pp. 103–110.
- Retnowati, Y., Bialangi, N. And Posangi, N. W. (2011) 'Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*)', *Sainstek*, 6(2).
- Rijayanti, R. P., Luliana, S. And Trianto, H. F. (2014) 'In Vitro Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extracts Bacang Mango (*Mangifera Foetida L.*) Leaves Against *Staphylococcus Aureus*', *Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura*, 1(1), Pp. 10–12.
- Rina, W., Guswandi And Harrizul, R. (2014) 'Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto', *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), Pp. 126–133.
- Rizqa, O. D. (2010) 'Standardisasi Simplisia Daun *Justicia Gendarussa* Burm F . Dari Berbagai Tempat Tumbuh', *Departemen Farmakognosi Dan Fitokimia Universitas Airlangga*.
- Rondonuwu, G., Kepel, B. J. And Widhi, B. (2014) 'Gambaran Bakteri Resistensi Hgcl2 Dan Fenil Merkuri Yang Diambil Dari Feses, Urin, Dan Karang Gigi Pada Individu Yang Tinggal Di Daerah Pesisir Pantai Di Desa Kema II', 2(November).
- Roslizawaty *Et Al.* (2013) 'Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia Sp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*', *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(2), Pp. 91–94.
- Ruri Ayudya, H., Suwendar And Hazar, S. (2016) 'Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Ketumbar (*Coriandrum Sativum*) Terhadap *Propionibacterium Acnes*', 2, Pp. 788–793.
- S., B. *Et Al.* (2014) 'Coriander (*Coriandrum Sativum L.*): Processing, Nutritional And Functional Aspects', *African Journal Of Plant Science*, 8(1), Pp. 25–33.
- Sa'adah, H. And Nurhasnawati, H. (2015) 'Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana*)

- Merr) Menggunakan Metode Maserasi', *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), Pp. 149–153.
- Salim, A. N., Sumardianto, S. And Amalia, U. (2018) 'Efektivitas Serbuk Simplisia Biji Pepaya Sebagai Antibakteri Pada Udang Putih (*Penaeus Merquensis*) Selama Penyimpanan Dingin', *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), P. 188.
- Santosa, H., Sari, W. And Handayani, N. A. (2018) 'Ekstraksi Saponin Dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha Untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker', *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(2).
- Sapri, Fitriana, A. And Narulita, R. (2014) 'Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Dengan Metode Maserasi', In *Prosiding Seminar Kimia*.
- Sari, A. (2017) 'Ekstraksi Cair-Cair Menggunakan Pengkelat Edta Untuk Meningkatkan Kadar Zingibern Dalam Minyak Atsiri Jahe (Liquid-Liquid Extraction Using Edta Placer To Increase Zingibern Level In Ginger Essential Oil)'. Undip.
- Sari, A. U. *Et Al.* (2016) 'Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*', Pp. 20–21.
- Sariadji, K., Sembiring, M. And Litbangkes, B. (2019) 'Kajian Pustaka : Uji Kepekaan Antibiotik Pada *Corynebacterium Diphtheriae*', *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 8, Pp. 121–133.
- Savitri, I., Suhendra, L. And Wartini, N. M. (2017) 'Pengaruh Jenis Pelarut Pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak *Sargassum Polycystum*', *Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), Pp. 93–101.
- Sembiring, B. (2010) 'Status Teknologi Pasca Panen Sambiloto (*Andrographis Paniculata Needs*)', *Jurnal Farmasi*, Pp. 134–144.
- Sepriani, O., Nurhamidah And Handayani, D. (2020) 'Potensi Ekstrak Tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium Dc.*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus*', *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(2), Pp. 133–139.
- Septiani, S., Dewi, E. N. And Wijayanti, I. (2017) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea Rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* (Antibacterial Activities Of Seagrass Extracts (*Cymodocea Rotundata*) Against *Staphylococcus Aureus* And *Escherichia Coli*)', *Saintek Perikanan : Indonesian Journal Of Fisheries Science And Technology*, 13(1), P. 1.
- Sernita, Irnawati And Syamsinar (2019) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksana Dan Etanol Daun Ceremai (*Phyllanthus Acidus L.*) Skeels Terhadap *Salmonella Thypi*', *Biowallacea : Jurnal Penelitian Biologi*

(*Journal Of Biological Research*), 6(1), Pp. 900–910.

- Soedarto (2015) 'Mikrobiologi Kedokteran', *Jakarta: Cv. Sagung Seto*.
- Sogandi, Darma, W. S. T. And Jannah, R. (2019) 'Potensi Senyawa Antibakteri Dari Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza Glabra L*) Terhadap *Bacillus Cereus*', *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 22(4), Pp. 105–111.
- Soleha, T. U. (2015) 'Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik', *Juke Unila*, 5(9), P. 120.
- Sriwanti, E., Yuswantina, R. And Luhurningtyas, F. P. (2020) 'Uji Aktivitas Ekstrak Terpurifikasi Jahe Merah (*Zingiber Officinale Var Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*', *Journal Of Chemical Information And Modeling*.
- Sugiyono (2013) *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, Dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Sulastri, E., Oktaviani, C. And Yusriadi, Y. (2015) 'Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan Dan Uji Aktivitas Antioksidan', *Jurnal Pharmascience*, 2(2), Pp. 1–14.
- Sulistiyaningsih, R. (2010) 'Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Staphylococcus Aureus* Resisten Metisilin (Mrsa)', *Lpm. Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran*.
- Sumitriasih, N. L., Ridhay, A. And Indriani (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat Dan Etanol Kulit Batang Kayu Eboni (*Diospyros Celebica Bakh.*) Menggunakan Metode Difusi', *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), Pp. 233–239.
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M. And Jambe, A. A. G. N. A. (2015) 'Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia Pinnata*)', Pp. 1–10.
- Suyasa, I. B. O. And Mastra, N. (2020) 'Gambaran Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa) Pada Petugas Kesehatan Rsud Wangaya Kota Denpasar', 8(7), Pp. 46–52.
- Syahrurachman (2010) 'Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran', *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.
- Tammi, A. (2015) 'Aktifitas Antibakteri Buah Makasar (*Brucea Javanica*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*', Pp. 99–103.
- Tiwari, P. *Et Al.* (2011) 'Phytochemical Screening And Extraction: A Review', *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), Pp. 98–106.
- Toelle, N. N. And Lenda, V. (2014) 'Identifikasi Dan Karakteristik *Staphylococcus Sp .* Dan *Streptococcus Sp .* Dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial (Identification And Characteristics Of *Staphylococcus Sp .* And *Streptococcus Sp .* Infection Of Ovary In Commercial Layers)', *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(7), Pp. 32–37.
- Utami, M., Widiawati, Y. And Hidayah, Hexa Apriliani (2013) 'Keragaman Dan

- Pemanfaatan Simplisia Nabati Yang Diperdagangkan Di Purwokerto', *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 30(1), Pp. 15–24.
- Utomo, S. (2016) 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut (N-Heksana) Terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit', *Jurnal Konversi*, 5(1), P. 39. Doi: 10.24853/Konversi.5.1.39-47.
- Vera, A. *Et Al.* (2017) 'Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Stevia (Stevia Rebaudiana Bertoni) Pada Konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% Dan 80% Terhadap Streptococcus Mutans (In Vitro)', *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 1(1), Pp. 9–14.
- Wahdaningsih, S., Untari, E. K. And Fauziah, Y. (2014) 'Antibakteri Fraksi N-Heksana Kulit *Hylocereus Polyrhizus* Terwahdaningsih, S., Untari, E. K., & Fauziah, Y. (2014). Antibakteri Fraksi N-Heksana Kulit *Hylocereus Polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Propionibacterium Acnes.*', *Pharmaceutical Sciences And Research*, 1(3), Pp. 180–193.
- Wahyuni, R. M. *Et Al.* (2018) 'Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen Pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus Sumatrensis*) Di Suaka Rhino Sumatera (Srs), Taman Nasional Way Kambas (Tnwk), Lampung', *Jimvet*, 2(4), Pp. 474–487.
- Wala, M. E., Suryanto, E. And Wewengkang, D. S. (2015) 'Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya Fraksi Dari Ekstrak Lamun (*Syringodium Isoetifolium*)', *Pharmacon*, 4(4), Pp. 282–289.
- Widodo, Lestanto Unggul., Kusharyati, D. F. (2013) *Praktikum Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Wuryandari, T., Iskanto, B. And Ismi, R. (2010) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sisik Naga (*Drymoglossum Piloselloides* (L) Presl) Terhadap *Shigella Dysenteriae* Atcc 9361 Dengan Metode Soxhletasi Dan Perkolasi', *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(2), Pp. 51–56.
- Yasjudani (2017) 'Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (*Swietenia Mahagonil.*) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen', *Universitas Nusantara Pgri Kediri*, 01, Pp. 1–7.
- Yulia, M., Anggraini, R. And Farizal, F. (2020) 'Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Buah Ketumbar (*Coriandrum Sativum* Linn) Terhadap *Artemia Salina* Leach Dengan Uji Bslt (Brine Shrimp Lethality Test)', *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), Pp. 137–146.
- Yusriana, C. S., Budi, C. S. And Dewi, T. (2014) 'Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*', *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2), Pp. 1–7.


PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Labor No 87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/478A/102.7/2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Ketumbar**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : ROISATUL HAMIDAH / 1713206026
 LUCIANA DEWI KHABIBAH / 1713206018
 Fakultas : S1 FARMASI STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULLUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman ketumbar

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Umbellales
Suku	: Umbelliferae
Marga	: Coriandrum
Jenis	: <i>Coriandrum sativum</i> L.
Nama umum	: Keutumba (Aceh), Ketumbar (Gayo), Hatumbar (Batak Toba), Penyijang (Kerinci), Katumba (Minangkabau), Ketumbar (Melayu), Katuancar (Sunda) Ketumbar (Jawa Tengah), Katambar (Madura), Katumbuh (Bali), Katumba (Bima), Katumbai (Gorontalo), Katumbare (Makassar), Katumbare (Bugis).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-244b-243b-250b-248b-249b-266b-267a-268a-269b.

2. Morfologi
 Habitus: Semak, semusim, tinggi ± 1 m. Batang: Berkayu, lunak, beralur, berlubang, percabangan dichotomi, hijau. Daun: Majemuk, berbagi menyirip, berselodang, tepi daun berwarna putih, hijau keputih-putihan. Bunga: Majemuk, bentuk payung, tangkai panjang 5-10 cm, putih, kelopak terdiri dari 5 lembar lepas satu sama lain, panjang 2-3 mm, hijau, mahkota terdiri dari 5 daun mahkota putih atau merah muda. Buah: Kotak, bulat, masih muda hijau setelah tua kuning kecoklatan. Biji: Bulat, coklat. Akar: Tunggai, bulat, bercabang, putih.

3. Bagian yang digunakan : Biji.
 4. Penggunaan : Penelitian.
 5. Daftar Pustaka
 • Syamsulhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 • Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 16 September 2020

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
 MATERIA MEDICA BATU


 ACHMAD M. ABUR, SKM, M.Kes.
 PEMBINA
 NIP. 19680203 199203 1 004

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Biji Ketumbar (*Corinadrum Sativum L*)

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

1. *Coriandrum sativum* L



Biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L)



Serbuk simplisia biji ketumbar

2. Pembuatan Ekstrak Ketumbar



Proses Maserasi



Penyaringan Ekstrak



Hasil Maserat

3. Fraksinasi Biji Ketumbar



Proses Fraksinasi



Hasil Fraksinasi

4. Skrining Fitokimia

Skrining Ekstrak Biji Ketumbar



(a) Terpenoid



(b) Flavonoid



(c) Tanin



(d) Saponin

Skrining Fraksi Biji Ketumbar



Terpenoid



Flavonoid



Tannin



Saponin

5. Pembuatan suspensi bakteri



Peremajaan Bakteri *Staphylococcus reus*



Suspensi bakteri *Staphylococcus Aureus*

6. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC25923
KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451; Faksimili : (031) 5020388
 Website : bbksurabaya.id; Surat elektronik : bbksub@yahoo.co.id


Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monicca Vabbella Damayanti
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir
 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :
 Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

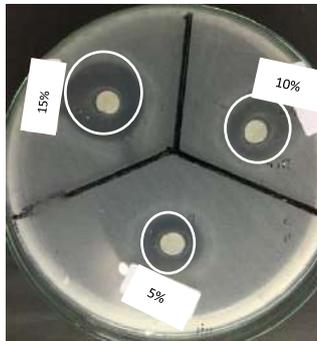
No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengecatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Manitol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik


 dr. Titiek S. M. Ked Klin, Sp.MK
 NIP: 198207262010122002

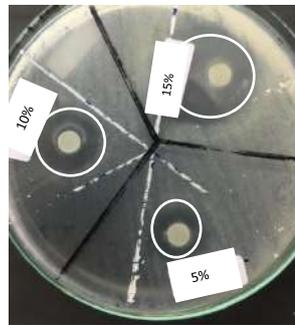
 Management
 System
 ISO 9001:2015
 www.bbksurabaya.id
 ID: 1102000001


7. Orientasi Ekstrak Biji Ketumbar

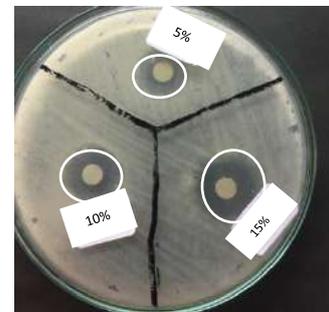
7.1 Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak biji ketumbar



Replikasi I

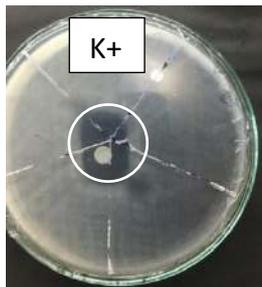


Replikasi II

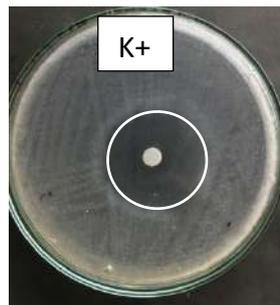


Replikasi III

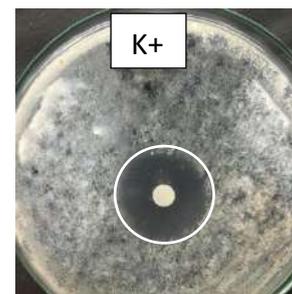
7.2 Kontrol Positif



Replikasi I

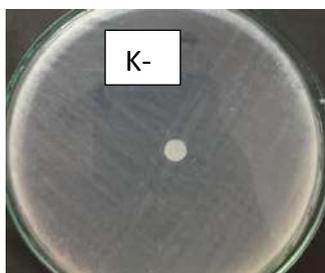


Replikasi II

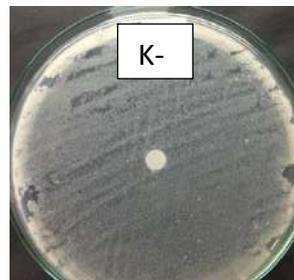


Replikasi III

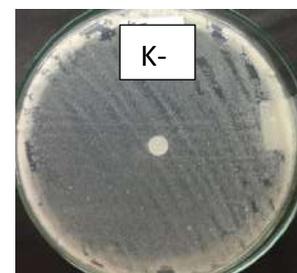
7.3 Kontrol Negatif



Replikasi I



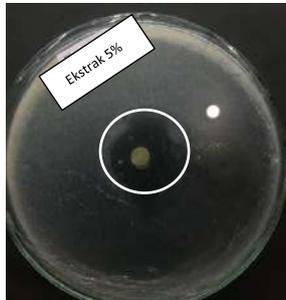
Replikasi II



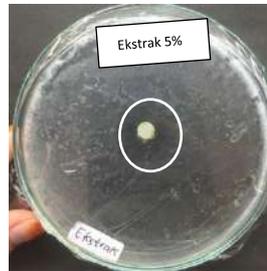
Replikasi III

8. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Ketumbar 5%

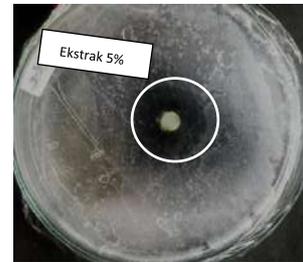
8.1 Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji ketumbar 5%



Replikasi I

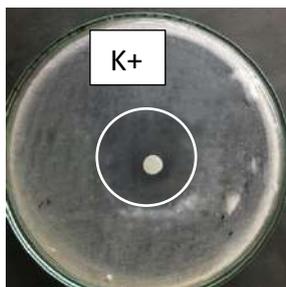


Replikasi II

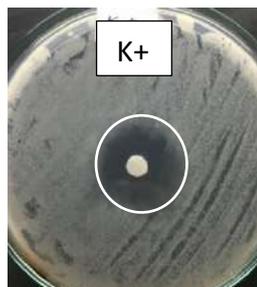


Replikasi III

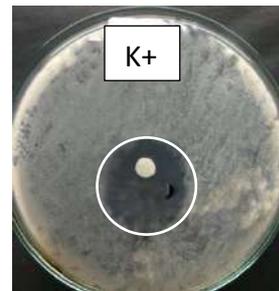
8.2 Kontrol positif



Replikasi I

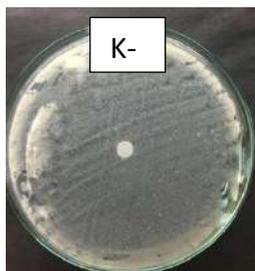


Replikasi II

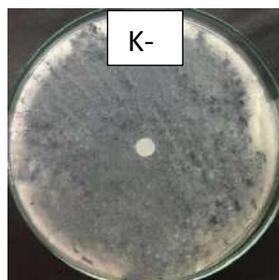


Replikasi III

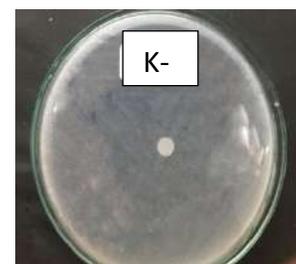
8.1 Kontrol Negatif



Replikasi I



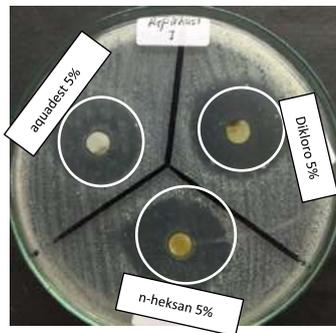
Replikasi II



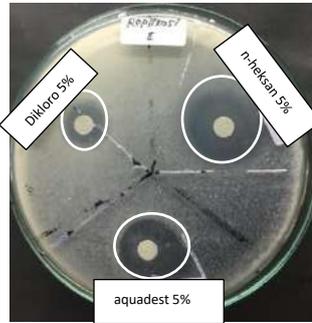
Replikasi III

9. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Biji Ketumbar 5%

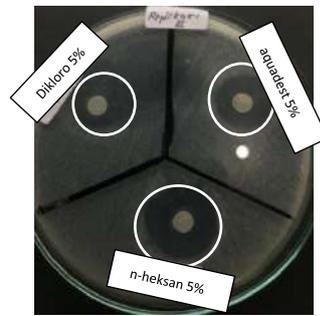
9.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi



Replikasi I

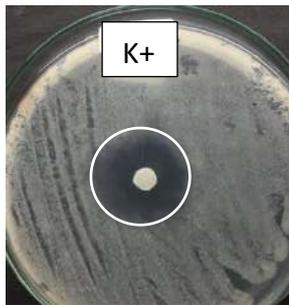


Replikasi II

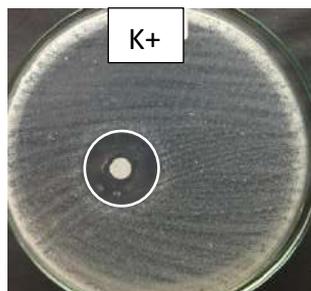


Replikasi III

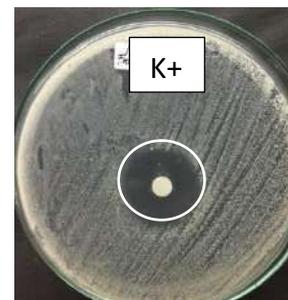
9.2 Kontrol positif



Replikasi I

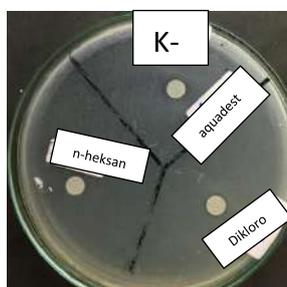


Replikasi II

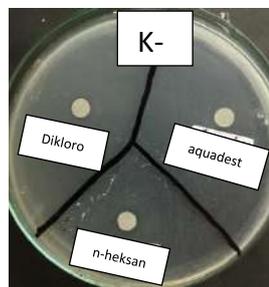


Replikasi III

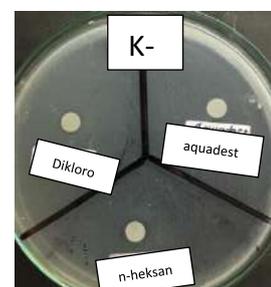
9.3 Kontrol Negatif



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media

1. Pembuatan *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,08 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Simplisia

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Biji ketumbar	10 gr	9,08 g	9,2%

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar air (\%)} &= \frac{10\text{g} - 9,08}{10\text{g}} \times 100\% \\ &= 9,2\%\end{aligned}$$

2. Rendemen ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Biji Ketumbar	500 gr	60 gr	12%

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{60\text{ g}}{500\text{ g}} \times 100\% \\ &= 12\%\end{aligned}$$

3. Rendemen Fraksi

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
N-heksan	5 gr	2,31 g	46,2%
<i>Aquadestilata</i>	5 gr	1,46 g	29,2%
Diklorometana	5 gr	1,18 g	23,6%

Bobot awal ekstrak

$$\% \text{ Rendemen n-heksan} = \frac{2,31 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 46,2\%$$

$$\% \text{ Rendemen } \textit{Aquadestilata} = \frac{1,46 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 29,2\%$$

$$\% \text{ Rendemen Diklorometana} = \frac{1,18 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 23,6\%$$

Lampiran 5. Pembuatan seri konsentrasi

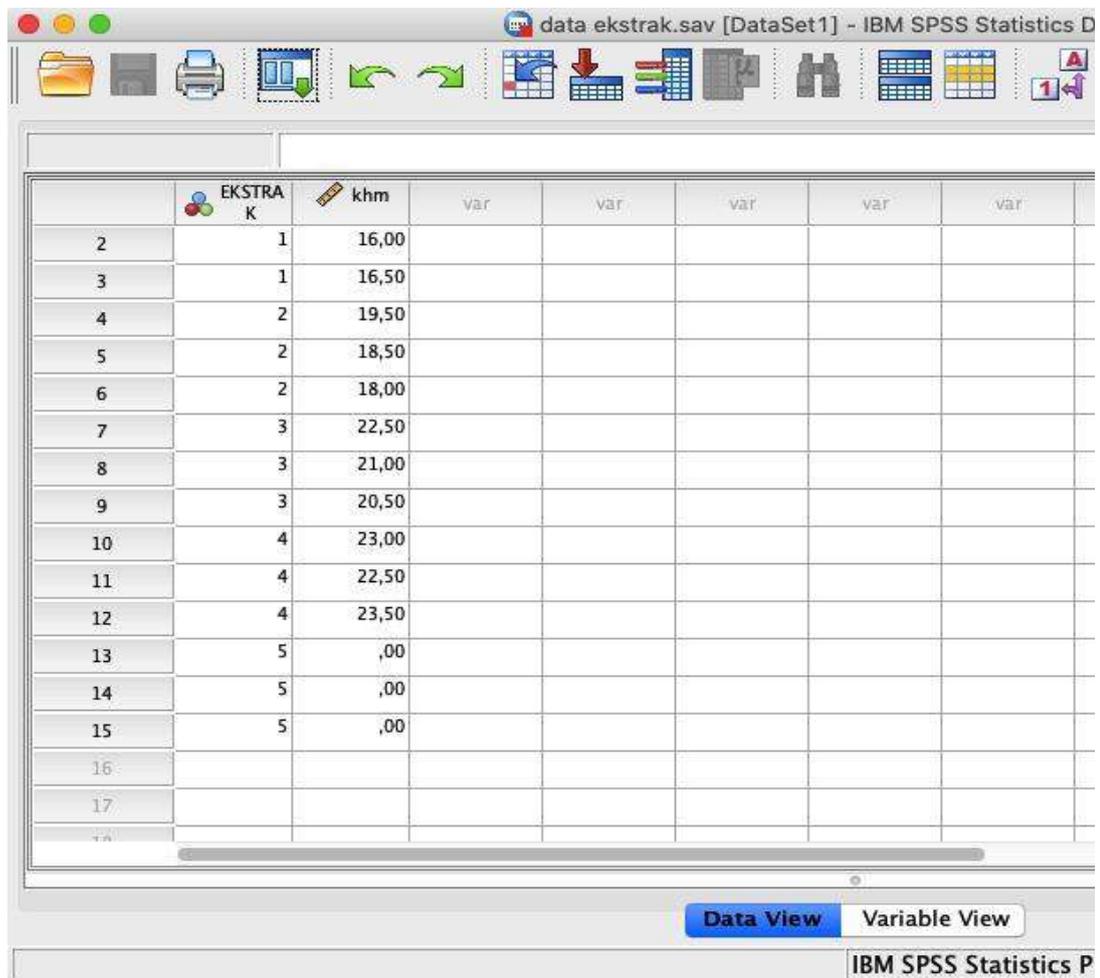
$$\begin{aligned} 1. \text{ Konsentrasi } 5\% &= \frac{5 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times \text{volume} \\ &= \frac{5 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Konsentrasi } 10\% &= \frac{10 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times \text{volume} \\ &= \frac{10 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ Konsentrasi } 15\% &= \frac{15 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times \text{volume} \\ &= \frac{15 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Analisis Statistika Orientasi Ekstrak

1. Tabel Input Data



The screenshot displays the IBM SPSS Statistics interface in Data View. The window title is "data ekstrak.sav [DataSet1] - IBM SPSS Statistics D". The data is presented in a table with the following structure:

	EKSTRA K	khm	var	var	var	var	var
2	1	16,00					
3	1	16,50					
4	2	19,50					
5	2	18,50					
6	2	18,00					
7	3	22,50					
8	3	21,00					
9	3	20,50					
10	4	23,00					
11	4	22,50					
12	4	23,50					
13	5	,00					
14	5	,00					
15	5	,00					
16							
17							

At the bottom of the window, there are buttons for "Data View" (which is selected) and "Variable View". The text "IBM SPSS Statistics P" is visible in the bottom right corner.

2. Uji Normalitas Data

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona	Ekstrak 5%	0,253	3	.	0,964	3	0,637
Hambat	Ekstrak 10%	0,253	3	.	0,964	3	0,637
	Ekstrak 15%	0,292	3	.	0,923	3	0,463
	Kontrol Positif	0,175	3	.	1,000	3	1,000
	Kontrol Negatif	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona	Based on Mean	2,593	4	10	0,101
Hambat	Based on Median	0,821	4	10	0,540
	Based on Median and with adjusted df	0,821	4	5,765	0,558
	Based on trimmed mean	2,428	4	10	0,116

4. Rata-Rata Zona Hambat Orientasi Ekstrak

Descriptives						
Sampel	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 5%	3	15,8333	0,76376	0,44096	13,9360	17,7306
Ekstrak 10%	3	18,6667	0,76376	0,44096	16,7694	20,5640
Ekstrak 15%	3	21,3333	1,04083	0,60093	18,7478	23,9189
Kontrol Positif	3	23,0000	0,50000	0,28868	21,7579	24,2421
Kontrol Negatif	3	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000
Total	15	15,7667	8,56043	2,21029	11,0261	20,5073

5. Uji *One Way ANOVA*

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1020,933	4	255,233	510,467	0,000
Within Groups	5,000	10	0,500		
Total	1025,933	14			

6. Analisis Post Hoc dengan uji Multikomparasi

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Zona Hambat						
Tukey HSD						
(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)		Sig.	95% Confidence Interval	
			Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 5%	Ekstrak 10%	-2,83333*	,57735	0,004	-4,7334	-,9332
	Ekstrak 15%	-5,50000*	,57735	0,000	-7,4001	-3,5999
	Kontrol Positif	-7,16667*	,57735	0,000	-9,0668	-5,2666
	Kontrol Negatif	15,83333*	,57735	0,000	13,9332	17,7334
Ekstrak 10%	Ekstrak 5%	2,83333*	,57735	0,004	,9332	4,7334
	Ekstrak 15%	-2,66667*	,57735	0,007	-4,5668	-,7666
	Kontrol Positif	-4,33333*	,57735	0,000	-6,2334	-2,4332
	Kontrol Negatif	18,66667*	,57735	0,000	16,7666	20,5668
Ekstrak 15%	Ekstrak 5%	5,50000*	,57735	0,000	3,5999	7,4001
	Ekstrak 10%	2,66667*	,57735	0,007	,7666	4,5668
	Kontrol Positif	-1,66667	,57735	0,093	-3,5668	,2334
	Kontrol Negatif	21,33333*	,57735	0,000	19,4332	23,2334
Kontrol Positif	Ekstrak 5%	7,16667*	,57735	0,000	5,2666	9,0668
	Ekstrak 10%	4,33333*	,57735	0,000	2,4332	6,2334
	Ekstrak 15%	1,66667	,57735	0,093	-,2334	3,5668
	Kontrol Negatif	23,00000*	,57735	0,000	21,0999	24,9001

Kontrol	Ekstrak 5%	-15,83333*	,57735	0,000	-17,7334	-13,9332
Negatif	Ekstrak 10%	-18,66667*	,57735	0,000	-20,5668	-16,7666
	Ekstrak 15%	-21,33333*	,57735	0,000	-23,2334	-19,4332
	Kontrol	-23,00000*	,57735	0,000	-24,9001	-21,0999
	Positif					

7. Tabel Subset

Zona Hambat					
Tukey HSD ^a					
Sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	0,0000			
Ekstrak 5%	3		15,8333		
Ekstrak 10%	3			18,6667	
Ekstrak 15%	3				21,3333
Kontrol Positif	3				23,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 7 Analisis Statistik Ekstrak Dan Fraksi Biji Ketumbar

1. Tabel Input Data

	fraksi	kkm	v&f						
1	1,00	23,00							
2	1,00	21,50							
3	1,00	22,50							
4	2,00	21,50							
5	2,00	18,50							
6	2,00	17,00							
7	3,00	15,50							
8	3,00	16,00							
9	3,00	16,50							
10	4,00	24,00							
11	4,00	22,50							
12	4,00	23,50							
13	5,00	,00							
14	5,00	,00							
15	5,00	,00							
16	6,00	,00							
17	6,00	,00							
18	6,00	,00							
19	7,00	,00							
20	7,00	,00							

2. Uji normalitas data

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona	K- ekstrak	.	3	.	.	3	.
Hambat	K+ ekstrak	0,292	3	.	0,923	3	0,463
	ekstrak 5%	0,219	3	.	0,987	3	0,780
	fraksi n-heksan	0,253	3	.	0,964	3	0,637
	fraksi aquadest	0,253	3	.	0,964	3	0,637
	fraksi diklorometana	0,175	3	.	1,000	3	1,000
	K- n-heksan	.	3	.	.	3	.
	K- aquadest	.	3	.	.	3	.
	K- diklorometana	.	3	.	.	3	.
	K+ fraksi	0,253	3	.	0,964	3	0,637

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Zona	Based on Mean	5,188	9	20	0,051
Hamb	Based on Median	1,927	9	20	0,106
at	Based on Median and with adjusted df	1,927	9	4,276	0,066
	Based on trimmed mean	4,903	9	20	0,057

4. Rata-Rata Zona Hambat Ekstrak dan Fraksi Biji Ketumbar

Descriptives						
Sampel	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
					K- ekstrak	3
K+ ekstrak	3	23,1667	1,04083	0,60093	20,5811	25,7522
ekstrak 5%	3	16,2333	0,25166	0,14530	15,6082	16,8585
fraski n-heksan	3	22,3333	0,76376	0,44096	20,4360	24,2306
fraksi aquadest	3	19,0000	2,29129	1,32288	13,3081	24,6919
fraksi diklorometana	3	16,0000	0,50000	0,28868	14,7579	17,2421
K- n-heksan	3	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000
K- aquadest	3	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000
K- dikorometana	3	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000
K+ fraksi	3	23,3333	0,76376	0,44096	21,4360	25,2306
Total	30	12,0067	10,29251	1,87915	8,1634	15,8500

5. Uji *One Way ANOVA*

ANOVA					
Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3056,512	9	339,612	434,658	0,000
Within Groups	15,627	20	,781		
Total	3072,139	29			

6. Analisis Post Hoc dengan Uji Multikomparasi

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

Tukey HSD

(I)				
Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
K- ekstrak	K+ ekstrak	-23,16667*	,72173	0,000
	ekstrak 5%	-16,23333*	,72173	0,000
	fraski n-heksan	-22,33333*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-19,00000*	,72173	0,000
	fraksi diklorometana	-16,00000*	,72173	0,000
	K- n-heksan	,00000	,72173	1,000
	K- aquadest	,00000	,72173	1,000
	K- diklorometana	,00000	,72173	1,000
	K+ fraksi	-23,33333*	,72173	0,000
	K+ ekstrak	K- ekstrak	23,16667*	,72173
ekstrak 5%		6,93333*	,72173	0,000
fraski n-heksan		,83333	,72173	0,971
fraksi aquadest		4,16667*	,72173	0,000
fraksi diklorometana		7,16667*	,72173	0,000
K- n-heksan		23,16667*	,72173	0,000
K- aquadest		23,16667*	,72173	0,000
K- diklorometana		23,16667*	,72173	0,000
K+ fraksi		-,16667	,72173	1,000
ekstrak 5%		K- ekstrak	16,23333*	,72173
	K+ ekstrak	-6,93333*	,72173	0,000
	fraski n-heksan	-6,10000*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-2,76667*	,72173	0,027
	fraksi diklorometana	,23333	,72173	1,000
	K- n-heksan	16,23333*	,72173	0,000
	K- aquadest	16,23333*	,72173	0,000
	K- diklorometana	16,23333*	,72173	0,000
	K+ fraksi	-7,10000*	,72173	0,000
	fraski n- heksan	K- ekstrak	22,33333*	,72173
K+ ekstrak		-,83333	,72173	0,971

	ekstrak 5%	6,10000*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	3,33333*	,72173	0,005
	fraksi	6,33333*	,72173	0,000
	diklorometana			
	K- n-heksan	22,33333*	,72173	0,000
	K- aquadest	22,33333*	,72173	0,000
	K- dikorometana	22,33333*	,72173	0,000
	K+ fraksi	-1,00000	,72173	0,918
fraksi	K- ekstrak	19,00000*	,72173	0,000
aquadest	K+ ekstrak	-4,16667*	,72173	0,000
	ekstrak 5%	2,76667*	,72173	0,027
	fraksi n-heksan	-3,33333*	,72173	0,005
	fraksi	3,00000*	,72173	0,014
	diklorometana			
	K- n-heksan	19,00000*	,72173	0,000
	K- aquadest	19,00000*	,72173	0,000
	K- dikorometana	19,00000*	,72173	0,000
	K+ fraksi	-4,33333*	,72173	0,000
fraksi	K- ekstrak	16,00000*	,72173	0,000
diklorom	K+ ekstrak	-7,16667*	,72173	0,000
etana	ekstrak 5%	-,23333	,72173	1,000
	fraksi n-heksan	-6,33333*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-3,00000*	,72173	0,014
	K- n-heksan	16,00000*	,72173	0,000
	K- aquadest	16,00000*	,72173	0,000
	K- dikorometana	16,00000*	,72173	0,000
	K+ fraksi	-7,33333*	,72173	0,000
K- n-	K- ekstrak	,00000	,72173	1,000
heksan	K+ ekstrak	-23,16667*	,72173	0,000
	ekstrak 5%	-16,23333*	,72173	0,000
	fraksi n-heksan	-22,33333*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-19,00000*	,72173	0,000
	fraksi	-16,00000*	,72173	0,000
	diklorometana			
	K- aquadest	,00000	,72173	1,000
	K- dikorometana	,00000	,72173	1,000
	K+ fraksi	-23,33333*	,72173	0,000
K-	K- ekstrak	,00000	,72173	1,000
aquadest	K+ ekstrak	-23,16667*	,72173	0,000
	ekstrak 5%	-16,23333*	,72173	0,000

	fraski n-heksan	-22,33333*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-19,00000*	,72173	0,000
	fraksi diklorometana	-16,00000*	,72173	0,000
	K- n-heksan	,00000	,72173	1,000
	K- diklorometana	,00000	,72173	1,000
	K+ fraksi	-23,33333*	,72173	0,000
K-	K- ekstrak	,00000	,72173	1,000
dikorome	K+ ekstrak	-23,16667*	,72173	0,000
tana	ekstrak 5%	-16,23333*	,72173	0,000
	fraski n-heksan	-22,33333*	,72173	0,000
	fraksi aquadest	-19,00000*	,72173	0,000
	fraksi diklorometana	-16,00000*	,72173	0,000
	K- n-heksan	,00000	,72173	1,000
	K- aquadest	,00000	,72173	1,000
	K+ fraksi	-23,33333*	,72173	0,000
K+ fraksi	K- ekstrak	23,33333*	,72173	0,000
	K+ ekstrak	,16667	,72173	1,000
	ekstrak 5%	7,10000*	,72173	0,000
	fraski n-heksan	1,00000	,72173	0,918
	fraksi aquadest	4,33333*	,72173	0,000
	fraksi diklorometana	7,33333*	,72173	0,000
	K- n-heksan	23,33333*	,72173	0,000
	K- aquadest	23,33333*	,72173	0,000
	K- diklorometana	23,33333*	,72173	0,000

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

7. Tabel Subset

Zona Hambat					
Tukey HSD ^a					
Sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K- ekstrak	3	0,0000			
K- n-heksan	3	0,0000			
K- aquadest	3	0,0000			
K- dikorometana	3	0,0000			
fraksi	3		16,0000		
diklorometana					
ekstrak 5%	3		16,2333		
fraksi aquadest	3			19,0000	
fraski n-heksan	3				22,3333
K+ ekstrak	3				23,1667
K+ fraksi	3				23,3333
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,918

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

