

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT

96% DAUN MYANA (*Coleus arthropurpureus* L. Benth)

TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI

Staphylococcus aureus



AYU KUMALASARI

PROGRAM STUDI S I FARMASI

STIKes KARYA PUTRA BANGSA

TULUNGAGUNG

2018

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
96% DAUN MYANA (*Coleus arthropurpureus* L. Benth)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

AYU KUMALASARI

NIM : 1413206008

**PROGRAM STUDI S I FARMASI
STIKes KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2018

Lembar Pengesahan

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT
96% DAUN MYANA (*Coleus arthropurpureus* L. Benth)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Dibuat untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa**

2018

Oleh:

AYU KUMALASARI

NIM: 1413206008

Skripsi ini telah disetujui

Tanggal 11 Mei 2018 oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,

**Afidatul Muadifah S.Si.,M.Si
NIP. 18.91.01.16**

**Dara Pranidya T.,S.Farm.,Apt
NIP. 18.89.01.15**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Ayu Kumalasari

NIM : 1413206008

Program Studi : S1 Farmasi

menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis dengan judul:

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN MYANA (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini menggunakan data fiktif atau merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tulungagung, 31 Juli 2018

Ayu Kumalasari

NIM: 1413206008

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmad dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat 96% Daun Myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*" tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari berbagai pihak yang telah membantu dan mendukung. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu dr.Denok Sri Utami selaku Ketua STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberikan motivasi terbaik kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Ibu Tri Anita Sari, S.Farm.,Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
3. Ibu Rosalina Djatmika S.Si.,M.Si.,M.Sc selaku pembimbing utama yang telah memberikan ilmu dan bimbingan serta motivasi pada penulis selama penelitian.
4. Ibu Afidatul Muadifah S.Si.,M.Sc selaku pembimbing serta yang telah memberikan semangat, ilmu, dan bimbingan pada penulis selama penelitian.
5. Seluruh dosen, staff, karyawan Program Studi Farmasi STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
6. Bu Retno, Bu Dyah, Bu Reni selaku asisten laboratorium di STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah banyak memberikan bantuan kepada penulis saat penelitian berlangsung.

7. Kedua orang tua, Ibu Sipin Lestari dan Ayah Alm. Supani, serta keempat kakak-kakakku yang telah memberikan kasih sayang, do'a dan dukungan baik moril serta materil.
8. Teman-teman Farmasi Angkatan 2014 terima kasih atas ilmu, dukungan, saran serta kritik kepada penulis.
9. Teman D3 Ahli Teknologi Laboratorium Medis Angkatan 2014 terima kasih atas ilmu, saran, dan motivasi kepada penulis.
10. Yudi Iswanto yang selalu sabar memberi motivasi, dan kritik kepada penulis.
11. Arisa Nur Fadilah, Alfi Mardiana, Yayuk Winarsih dan Zaidatun Ni'mah yang telah banyak membantu dan memberikan semangat.
12. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, membantu dalam penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang bersifat membangun, demi tercapai kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap penelitian ini semoga bermanfaat bagi kalangan akademis, masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan.

Tulungagung, 31 Juli 2017

Penulis

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT 96% DAUN MYANA (*Coleus atropurpureus* L. Benth) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Salah satu obat tradisional yang digunakan masyarakat luas yaitu daun myana atau biasa disebut dengan daun iler. Daun tersebut dapat mengobati beberapa penyakit salah satunya penyakit bisul, karena di dalam daun myana mengandung senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid. Bisul merupakan penyakit peradangan yang ditandai dengan adanya abses bernanah. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri penyebab timbulnya bisul. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat 96% daun myana terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan untuk mengetahui jumlah konsentrasi hambat minimum ekstrak etil asetat 96% daun myana dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan ekstraksi secara maserasi dan dengan menggunakan metode difusi cakram dalam mengamati diameter zona hambat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun myana yang diperoleh dari kota Batu-Malang dan dideterminasi di Materia Medika Batu-Malang.

Berdasarkan hasil yang didapat dari 3 konsentrasi secara berturut-turut konsentrasi 15%, 25%, 35%, kontrol positif Tetrasiklin dan kontrol negatif etilasetat. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada konsentrasi 25% sebesar 12,80 mm, konsentrasi 25% sebesar 17,00 mm dan konsentrasi 35% sebesar 39,60 mm. Sehingga konsentrasi daya hambat minimum ditunjukkan oleh ekstrak dengan konsentrasi 15% yaitu sebesar 12,80 mm.

ABSTRACT

TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHYL ACETATE EXTRACT 96% MYANA LEAF (*Coleus sthropurpureus* L. Benth) TO GROWTH OF *Staphylococcus aureus* BACTERIA

Traditional medicines are ingredients or ingredients in the form of plant materials, animal materials, mineral materials, galenic preparation or mixture of these, traditionally use for experimental treatment. One of the plants used for traditional medicine using myana or iler leaf that contains flavonoids, saponins, alkaloids, and tannins as antibacterials. This study was conducted to determine the antibacterial activity of myana leaf inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria and to determine the minimum inhibitory concentration of myana leaf. *Staphylococcus aureus* are bacteria that cause ulcer disease. The extraction was conducted by maceration method using 96% ethyl acetate as semipolar solvent. This research was experimental using disc diffusion method, with 3 treatment of ethyl acetate leaf of myana concentration 15%, concentration 25%, and concentration 35%. In this study the results obtained are 14,00 mm, 18,00 mm and 43,00 mm respectively. This shows that myana leaf ethyl acetate extract has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. The ethyl acetate extract of myana leaf also has a minimum inhibitory concentration of 15% concentration.

Keyword : Traditional Medicines, 96% Ethyl Acetate Extract Myana Leaf, Antibacterial Activity, Disc Diffusion, and *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pengertian Obat Tradisional	4

2.2 Tumbuhan Myana (Coleus atropurpureus L. Benth)	4
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Myana (Coleus atropurpureus L. Benth)	4
2.2.2 Morfologi Tumbuhan Myana (Coleus atropurpureus L. Benth)5	
2.2.3 Kandungan Senyawa Kimia Sebagai Antibakteri	6
2.2.4 Khasiat Tumbuhan Myana (Coleus Atropurpureus L. Benth) .	7
2.3 Simplisia	7
2.3.1 Pengertian Simplisia	7
2.3.2 Syarat-syarat Simplisia	8
2.3.3 Persiapan Simplisia	9
2.4 Ekstraksi	9
2.4.1 Pengertian Ekstraksi	9
2.4.2 Metode Ekstraksi	10
2.4.3 Pelarut Ekstraksi	12
2.5 Bakteri	13
2.5.1 Pengertian Bakteri	13
2.5.2 Penggolongan Bakteri.....	13
2.6 Bakteri Staphylococcus aureus	14
2.6.1 Klasifikasi	14
2.6.2 Morfologi	15
2.7 Antibakteri	16
2.7.1 Pengertian Antibakteri.....	16
2.7.2 Mekanisme Kerja	16
2.8 Uji Aktivitas Antibakteri	17
2.8.1 Metode Pengenceran.....	17

2.8.2 Metode Difusi Agar	17
2.8.3 Metode Dilusi.....	18
2.9 Antibakteri Pembanding	18
BAB III METODOLOGI	19
3.1 Bahan Penelitian	19
3.2 Alat Penelitian.....	19
3.3 Populasi Penelitian	19
3.4 Sampel Penelitian.....	19
3.5 Variabel Penelitian	20
3.6 Metode Penelitian.....	20
3.6.1 Preparasi Sampel	20
3.6.3 Uji Kadar Air.....	21
3.6.4 Uji Penapisan Senyawa Metabolit Sekunder	21
3.6.4.1 Identifikasi Alkoloid.....	21
3.6.4.2 Identifikasi Flavonoid.....	21
3.6.4.3 Identifikasi Triterpenoid dan Steroid.....	21
3.6.4.4 Identifikasi Tanin.....	22
3.6.4.5 Identifikasi Saponin.....	22
3.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri	22
3.6.5.1 Sterilisasi Alat	22
3.6.5.2 Pembuatan Media Agar NA	22
3.6.5.3 Peremajaan Bakteri	22
3.6.5.4 Pengenceran Bakteri	22
3.6.5.5 Cara Isolasi dengan Menggunakan Tehnik Tuang	23
3.6.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram.....	23

3.6.5.7 Pengukuran Zona Hambat.....	23
3.7 Analisis Hasil	24
3.8 Kerangka Penelitian.....	25
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	27
4.1 Determinasi tumbuhan	27
4.2 Karakteristik ekstrak etil asetat daun myana	27
4.3 Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun myana	27
BAB V PEMBAHASAN	30
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	45
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1 Hasil karakteristik ekstrak etil asetat daun myana.....	27
Tabel IV.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun myana	27
Tabel IV.3 Hasil berat cawan kosong uji kadar air daun myana.....	28
Tabel IV.4 Hasil berat cawan dan sampel uji kadar air	28
Tabel IV.5 Data proses pembuatan ekstrak etil asetat daun myana	28
Tabel IV.6 Kriteria kekuatan zona daya hambat daun myana	29
Tabel IV.7 Hasil uji SPSS One Way Anova keseluruhan	29
Tabel IV.8 One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	30
Tabel IV.9 Test of Homogeneity of Variation	30
Tabel IV.10 One Way Anova.....	30
Tabel IV.11 Hasil skrining fitokimia.....	38
Tabel IV.12 Data hasil One Way Anova	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun miana	15
Gambar 2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Gambar 2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> dalam sampel dahak.....	15
Gambar 5.1 Reaksi hidrolisis Bismuth	27
Gambar 5.2 Reaksi Uji Alkaloid	38
Gambar 5.3 Reaksi Uji Alkaloid dengan reagen Mayer	38
Gambar 5.4 Reaksi Terpenoid.....	39
Gambar 5.5 Mekanisme Pembentukan Garam Flavilium	40
Gambar 5.6 Reaksi antara Tanin dan FeCl ₃	41
Gambar 5.7 Diameter zona hambat	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian	51
Lampiran 2 Preparasi Sampel	52
Lampiran 3 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat 96% Daun Myana	53
Lampiran 4 Uji Alkaloid.....	54
Lampiran 5 Uji Flavonoid.....	55
Lampiran 6 Uji Saponin.....	55
Lampiran 7 Uji Terpenoid.....	56
Lampiran 8 Uji Tanin	57
Lampiran 9 Pembuatan Reagen.....	57
Lampiran 10 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Myana.....	60
Lampiran 11 Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil Asetat Daun Myana	62
Lampiran 12 Pembuatan Media Agar.....	62
Lampiran 13 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat Daun Myana	63
Lampiran 14 Dokumentasi Penelitian	64
Lampiran 15 Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan	71

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan bahan-bahan alami yang berasal dari tumbuhan (herbal) untuk mengobati berbagai penyakit sebenarnya bukan merupakan hal yang baru bagi masyarakat Indonesia. Meskipun telah tergeser oleh adanya modernisasi di bidang kesehatan, tetapi pada kenyataannya obat-obatan herbal tidak kalah ampuh untuk mengobati penyakit. Bahkan, obat-obatan herbal juga cenderung lebih murah. Oleh karena itu tidak mengherankan bila tren obat-obatan herbal kembali marak di kalangan masyarakat Indonesia (Anwar, 2010).

Banyak jenis tumbuhan yang telah diselidiki kekayaan kimianya, salah satunya adalah tumbuhan myana. Tumbuhan myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) merupakan tumbuhan hias yang biasa ditanam di pekarangan rumah, tetapi dibalik fungsinya sebagai tumbuhan hias, tumbuhan myana mempunyai manfaat bagi kesehatan karena tumbuhan myana mengandung zat antibakteri (Deby, dkk., 2012). Senyawa tersebut antara lain flavonoid, tanin, dan saponin yang bisa larut dalam air dan dapat bekerja merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel (Sunaryono, 2005).

Senyawa flavonoid terbukti secara empirik sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik, dan antihipertensi. Sedangkan saponin merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan tumbuhan sebagai antivirus, antibakteri, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Ersam, 2001). Tanin merupakan senyawa fenol yang memiliki daya antiseptik. Efek antibakteri dari tanin yaitu melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik (Ersam, 2001).

Pada tubuh manusia terdapat berbagai mikroorganisme dengan kondisi tertentu, mikroorganisme tersebut dapat menginfeksi berbagai jaringan tubuh manusia. *Staphylococcus aureus* diketahui sebagai bakteri penyebab berbagai infeksi kulit dan jaringan lunak yang mampu mengancam jiwa, salah satunya

bisul (Irianto, 2007). Bisul merupakan tonjolan yang berisi nanah akibat dari infeksi bakteri yang menyebabkan inflamasi pada folikel rambut atau jaringan subkutan dan sekitarnya. Ini terjadi karena *Staphylococcus aureus* menginfeksi melalui luka atau goresan pada kulit (Rostinawati, 2009).

Penelitian terkait penggunaan tumbuhan myana sebagai antibakteri masih jarang dilakukan. Tetapi ada beberapa penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut etanol membuktikan bahwa tumbuhan myana mempunyai aktivitas antibakteri (Deby, dkk., 2012). Berdasarkan hal tersebut peneliti mencoba melakukan penelitian mengenai kemampuan aktivitas antibakteri tumbuhan myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pelarut yang berbeda yaitu etil asetat 96%.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, peneliti merumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat tumbuhan myana (*Coleus arthropurpureus* L. benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Berapakah konsentrasi hambat minimum ekstrak etil asetat tumbuhan myana (*Coleus arthropurpureus* L. benth) terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat tumbuhan myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui jumlah konsentrasi hambat minimum ekstrak etil asetat tumbuhan myana (*Colues arthropurpureus* L. benth) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Upaya meningkatkan informasi kefarmasian terutama mengenai bahan alam sebagai sarana pengobatan herbal.
2. Memberikan informasi kepada tenaga kefarmasian lain dan peneliti berikutnya. agar dapat memberikan informasi dan pelaksanaan yang tepat khususnya mengenai bahan alam sebagai pengobatan

1.5 Hipotesis

1. Ekstrak etil asetat tumbuhan myana mempunyai aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Ekstrak etil asetat tumbuhan myana mempunyai konsentrasi hambat minimum yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian Obat Tradisional

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Obat tradisional dibuat atau diramu dari bahan tumbuh-tumbuhan, bahan hewan, sediaan sarian (galenik), atau campuran bahan-bahan tersebut. Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Obat tradisional merupakan salah satu warisan budaya bangsa Indonesia yang telah digunakan selama berabad-abad untuk pemeliharaan dan peningkatan serta pencegahan dan pengobatan penyakit. Berdasarkan bukti secara turun-temurun dan pengalaman (empiris), obat tradisional hingga kini masih digunakan oleh masyarakat di Indonesia dan di negara lain. Sebagai warisan budaya bangsa yang telah terbukti banyak memberi kontribusi pada pemeliharaan kesehatan (Depkes RI, 2008).

2.2 Tumbuhan Myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

Nama umum tumbuhan myana yaitu iler. Tumbuhan ini dikenal masyarakat Indonesia dengan nama daerah masing-masing seperti si gresing (batak), adang-adang (palembang), plado (sumbar), jawer kotok (sunda), iler atau kentangan (jawa), saru-saru (bugis), dan majana (madura) (Dalimartha, 2008).

Dari sistem taksonomi, tumbuhan myana dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Gens	: Coleus
Spesies	: <i>Coleus atropurpureus</i> L. Benth (Dalimartha, 2008)



Gambar 2.1 Tumbuhan Myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)
(Dalimartha, 2008)

2.2.2 Morfologi Tumbuhan Myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

Tumbuhan myana tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1500 meter di atas permukaan laut dan merupakan tanaman semusim. Umumnya tumbuhan ini ditemukan pada tempat yang lembab dan terbuka seperti pematang sawah, tepi jalan pedesaan di kebun-kebun yang digunakan sebagai tanaman hias atau tanaman obat (Iler, 2012).

Tumbuhan ini memiliki batang herba, tegak atau berbaring pada pangkalnya dan merayap tinggi berkisar 30-150cm, merupakan kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daunnya tergolong daun tunggal, helaian daun berbentuk hati, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung dan setiap tepiannya dihiasi oleh lekuk-lekuk tipis yang bersambungan. Tangkai daun mempunyai panjang 3-4cm yang memiliki warna beraneka ragam dan ujungnya meruncing dengan tulang daun menyirip berupa alur. Batang bersegi empat dengan alur yang dalam pada masing-masing sisinya, berambut,

bercabang banyak, dan berwarna ungu kemerahan. Permukaan daun mengkilap dan berambut halus dengan panjang 7-11cm, lebar 3-6cm berwarna ungu kecoklatan sampai kehitaman dengan tepi daun hijau. Bunganya berbentuk untaian bunga bersusun, muncul pada tangkai batang dengan warna putih dan bersifat dingin. Tumbuhan ini juga memiliki buah keras seperti telur tetapi licin. Jika seluruh bagian diremas akan mengeluarkan bau yang harum. Untuk memperbanyak tanaman ini dapat dilakukan dengan cara stek batang dan biji (Yuniarti, 2008).

2.2.3 Kandungan Senyawa Kimia Sebagai Antibakteri

Tumbuhan myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) memiliki beberapa kandungan senyawa kimia seperti minyak atsiri, fenol, tannin, phytosterol, kalsium oksalat, peptik substance, alkaloid, etil asetat, metal augenol, timol karvakol, mineral, flavonoid dan saponin (Dalimartha, 2008). Tetapi hanya beberapa senyawa kimia saja yang dapat digunakan sebagai antibakteri yaitu tannin, saponin, dan flavonoid. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan di alam. Saponin terdiri dari gugus-gugus gula yang berkaitan dengan aglikon dan sapogen. Saponin memiliki sifat antibakteri dan antivirus yang berkhasiat sebagai antikanker, antitumor, dan penurunan kolesterol (Mardiana, 2013).

Saponin juga memiliki sifat seperti deterjen yang mampu meningkatkan penetrasi zat-zat toksin karena dapat melarutkan bahan lipofilik dalam air. Selain itu, saponin dapat mengiritasi mukosa saluran cerna dan memiliki rasa pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva yang ada di dalam perut, kemudian larva akan mati kelaparan (Gunawan, 2004). Saponin memiliki efek yang kuat jika digunakan sebagai insektisida karena sifatnya yang sitotoksik dan hemolitik (Chaieb, 2010). Biasanya digunakan dalam aktivitas penolak serangga dengan cara menimbulkan masalah pencernaan dan kecacatan pada serangga. Rasa pahit dari saponin membuat serangga ini menjadi tidak menyukai makanannya (Geyter et al., 2007).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tumbuhan. Selain berperan sebagai antibakteri, flavonoid

juga berperan sebagai antioksidan. Aktivasi antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam. Senyawa-senyawa ini mempunyai zat warna merah, jingga, biru dan juga kuning (Susetya, 2012).

2.2.4 Khasiat Tumbuhan Myana (*Coleus Atropurpureus* L. Benth)

Tumbuhan myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit hepatitis, menurunkan demam, batuk, dan influenza. Selain itu tumbuhan myana berkhasiat sebagai penetral racun, menghambat pertumbuhan bakteri, mempercepat pematangan bisul, pembunuh cacing, wasir, peluruh haid, sebagai antikoagulan, mengatasi gangguan pencernaan makanan, radang paru, gigitan ular berbisa dan serangga (Dalimartha, 2008). Akarnya berkhasiat untuk mengatasi perut mulas dan diare. Tumbuhan myana juga dapat menyembuhkan radang telinga, dan mengeluarkan cacing gelang dari perut. Ibu hamil dilarang mengkonsumsi tumbuhan myana karena dapat menyebabkan keguguran (Yuniarti, 2008).

2.3 Simplisia

2.3.1 Pengertian Simplisia

Bahan-bahan ramuan obat tradisional seperti bahan tumbuh-tumbuhan, bahan hewan, sediaan sarian atau galenik yang memiliki fungsi, pengaruh serta khasiat sebagai obat, dalam pengertian umum kefarmasian bahan yang digunakan sebagai simplisia. Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan (Ditjen POM, 1994).

Simplisia atau herbal merupakan bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Ditjen POM, 2008). Menurut Material Medika, simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori yaitu:

1. Simplisia nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia.

2. Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

eringan simplisia tidak lebih dari 60°C (Ditjen POM, 2008).

3. Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan merupakan simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (MMI, 1995).

2.3.2 Syarat-syarat Simplisia

Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

- a. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
- b. Kadar air, harus kurang dari 10%.
- c. Adanya keseragaman bobot.
- d. Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.
- e. Aflatoksin total, kadar aflatoksin total (B1, B2, G1, dan G2) $\leq 20 \mu\text{g/kg}$ dengan syarat B1 $\leq 5 \mu\text{g/kg}$.
- f. Cemaran logam berat
 - Pb : $\leq 10 \text{ mg/kg}$
 - Cd : $\leq 0,3 \text{ mg/kg}$
 - As : $\leq 5 \text{ mg/kg}$
 - Hg : $\leq 0,5 \text{ mg/kg}$

g. Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2014).

2.3.3 Persiapan Simplisia

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

1. Pengumpulan bahan baku: kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah dilakukan pencucian dan perajangan.
3. Pencucian: dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih.
4. Perajangan.
5. Pengeringan: mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia.
6. Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengepakan.
8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Depkes, 1985).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung

dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Prinsip metode ekstraksi adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut (Khopkar dalam Muafidah, 2013).

2.4.2 Metode Ekstraksi

Menurut prosesnya ekstraksi dapat dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi kontinyu, dimana pelarut yang sama digunakan secara berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai dan biasanya alat yang digunakan yaitu alat soklet. Ekstraksi yang kedua yaitu ekstraksi bertahap, ekstraksi ini selalu menggunakan pelarut baru sampai ekstraksi selesai dan yang biasa digunakan yaitu corong pisah. Tehniknya cukup dengan penambahan pelarut yang tidak bercampur dengan pelarut yang pertama melalui corong pisah, kemudian dilakukan pengocokan sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi pada kedua pelarut. Setelah didiamkan beberapa saat akan terbentuk dua lapisan. Kesempurnaan ekstraksi tergantung banyaknya ekstraksi yang dilakukan (Yazid, 2005).

Pembagian metode ekstraksi menurut Ditjen POM tahun 2000 yaitu:

1. Ekstraksi dengan metode panas:

a. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak yang kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan yang kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu pada temperatur 40-50°C.

d. Infundasi

Infundasi merupakan proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat yang kandungan zat aktifnya larut dalam air. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit.

e. Dekok

Dekok merupakan infus pada waktu yang lebih lama dengan titik didih air pada temperatur 90-100°C selama 30 menit.

2. Maserasi dengan metode dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan diluar sel. Maka larutan terpekat didesak keluar.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru. Umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan maserasi karena aliran penyarinya menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi nyari dengan larutan yang konsentrasinya rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Selain itu aliran cairan penyari pada perkolasi menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.

2.4.3 Pelarut Ekstraksi

Pelarut minyak atau lemak yang biasa digubakan dalam proses ekstraksi antara lain:

1. Etanol

Sering digunakan sebagai pelarut dalam laboratorium. Etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert, sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Pelarut ini juga memiliki titik didih yang rendah, sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi (Guenther, 1987).

2. n-Heksana

Merupakan pelarut yang paling ringan dalam mengangkat minyak yang terkandung dalam biji-bijian dan mudah menguap, sehingga memudahkan untuk refluks. Pelarut ini memiliki titik didih antara 65-70°C (Guenther, 1987).

3. Isopropanol

Jenis pelarut polar yang memiliki massa jenis 0,789 g/ml. Pelarut ini mirip dengan ethanol yang memiliki kelarutan yang relatif tinggi. Isopropanol memiliki titik didih 81-82°C (Guenther, 1987).

4. Etil Asetat

Merupakan jenis pelarut yang bersifat semipolar. Pelarut ini memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77°C sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi (Guenther, 1987).

5. Aseton

Aceton larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter, dan lain-lain. Aceton juga merupakan pelarut yang penting, biasanya digunakan untuk membuat plastik, serat, obat-obatan, dan senyawa kimia lainnya (Guenther, 1987).

6. Metanol

Metanol merupakan pelarut yang paling penting banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam (Guenther, 1987).

Dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi dicari pelarut yang memiliki kelarutan yang baik. Dari data kelarutan yang diteliti oleh Ari Diana, dkk.

menunjukkan bahwa pelarut yang dapat melarutkan secara sempurna antara lain butanol, n-heksan, etil asetat, CCl₄ dan kloroform. Namun pelarut yang baik tidak hanya melarutkan minyak saja tetapi juga tersedia dalam jumlah banyak, harganya ekonomis dan memiliki tingkat keamanan yang tinggi (Susanti, 2012).

2.5 Bakteri

2.5.1 Pengertian Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Irianto, 2006) adalah:

- a. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
- b. Sumber karbon
- c. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis protein dan asam-asam nukleat.
- d. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion, dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
- e. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolik esensial.

2.5.2 Penggolongan Bakteri

Untuk memahami beberapa kelompok organisme, diperlukan klasifikasi. Tes biokimia dan pewarnaan gram merupakan kriteria yang efektif untuk mengetahui klasifikasi bakteri. Hasil pewarnaan dapat mencerminkan perbedaan dasar pada sel bakteri, sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif (Jawetz, 2004).

Bakteri gram negatif berbentuk batang. Habitatnya pada usus manusia dan usus binatang. Bakteri gram negatif disebut juga dengan Enterobacteriaceae yang meliputi Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, dan Proteus. Beberapa organisme seperti Escherichia coli merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti Salmonella dan Shigella merupakan patogen yang umum bagi manusia (Jawetz, 2004).

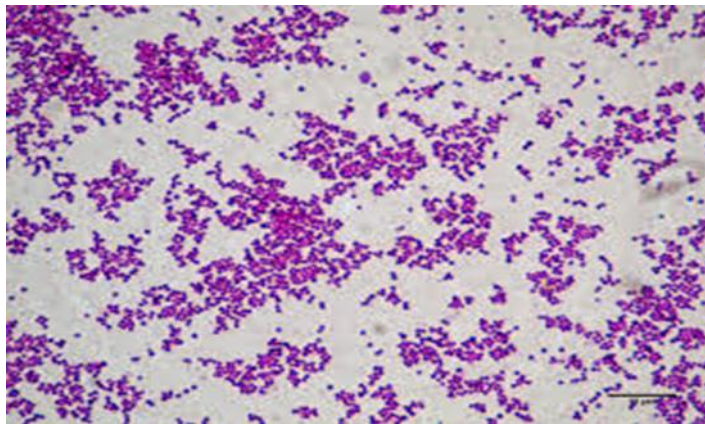
Bakteri gram positif merupakan bakteri pembentuk spora misalnya spesies Bacillus dan Clostridium. Kedua spesies ini terdapat di mana-mana dalam membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Adapun bakteri gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies Corynebacterium, Listeria, Propionibacterium, dan Actinomyces. Spesies Staphylococcus dan Streptococcus juga merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, biasanya berbentuk menggerombol (Jawetz, 2004).

2.6 Bakteri Staphylococcus aureus

2.6.1 Klasifikasi

Klasifikasi Staphylococcus aureus menurut Losenbach pada tahun 1884 yaitu:

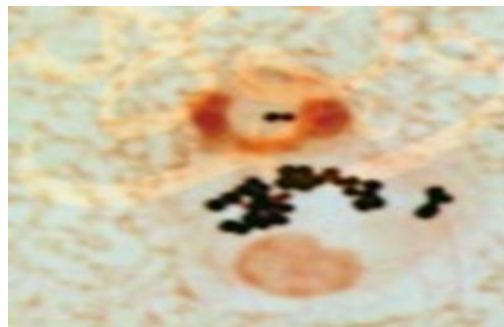
Domain	: Bacteria
Kerajaan	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Losenbach, 1884)



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* (Losenbach, 1884).

2.6.2 Morfologi

Staphylococcus aureus berasal dari kata “Staphele” dalam bahasa Yunani yang berarti anggur dan kata “aureus” dalam bahasa latin yang berarti emas. Nama ini diberikan berdasarkan bentuk sel-sel bakteri jika dilihat di bawah mikroskop dan warna keemasan yang terbentuk saat tumbuh pada suatu media. Bakteri ini pertama kali dibiakan oleh Pasteur dan Koch, selanjutnya diteliti secara terperinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an (Lowy, 2014).



Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* dalam sampel dahak (Lowy, 2014).

Staphylococcus aureus (*S. Aureus*) merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, mempunyai diameter 0,7-1,2 μm . Bakteri ini tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak beraturan seperti buah anggur. *S. Aureus* tidak membentuk spora dan fakultatif bersifat anaerob. Bakteri ini tidak dapat bergerak dan dapat tumbuh pada suhu 15-45°C. Bakteri ini mempunyai suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar 20-25°C.

Staphylococcus aureus mengandung polisakarisa dan protein yang berfungsi sebagai antigen (Jewetz at al., 2008).

Staphylococcus aureus tumbuh pada media cair dan padat seperti NA (Nutrien Agar) dan BAP (Blood Agar Plate) dan dengan aktif melakukan metabolisme, mampu menfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmern dari putih hingga kuning. Pada pembedahan cair menyebabkan kekeruhan yang merata tidak membentuk pigmen (Dowshen et al., 2002).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan ada yang bersifat membunuh bakteri. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakterimasing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Suryaningrum, 2009).

2.7.2 Mekanisme Kerja

Mekanisme kerja antibakteri yaitu sebagai berikut:

- a. Kerusakan pada dinding sel. Bakteri memiliki lapisan luar yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya.
- b. Perubahan permeabilitas sel. Beberapa antibiotik mampu merusak atau memperlemah fungsi ini yaitu dengan memelihara integritas komponen-kompenen seluler.
- c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat, sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

d. Penghambatan kerja enzim. Setiap enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat, ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel (Suryaningrum 2009).

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri yaitu untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz dkk., 2001). Macam-macam metode uji aktivitas antibakteri antara lain:

- a. Metode pengenceran
- b. Difusi agar
- c. Metode dilusi

2.8.1 Metode Pengenceran

Pengenceran adalah suatu kegiatan untuk mengencerkan larutan yang bertujuan untuk memperoleh contoh dengan jumlah mikroba terbaik untuk dapat dihitung yaitu antara 30-300 sel mikroba per ml (Cahaya, 2011). Pengenceran merupakan proses yang dilakukan untuk menurunkan atau memperkecil konsentrasi larutan dengan menambah zat pelarut ke dalam larutan, sehingga volume berubah (Wardhaniah, dkk., 2007).

2.8.2 Metode Difusi Agar

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Piringan yang berisi agen antibakteri diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu:

- a. Cara Kirby Bauer

Cara ini dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri. Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher dan Mc Pherson, 2004).

b. Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

2.8.3 Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahi dengan bakteri uji (Pratiwi, 2008).

Metode ini serupa dengan dilusi cair tetapi menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini ialah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Pratiwi, 2008).

2.9 Antibakteri Pemandangan

Dalam penelitian ini menggunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif, karena antibakteri ini mempunyai spektrum luas sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Besarnya daerah hambat yang dibentuk oleh tetrasiklin disesuaikan dengan kriteria CSLI (Clinical Laborator Standart Institute). Jika daerah hambat ≥ 19 mm dikatakan sensitif, dan jika ≤ 14 mm maka dikatakan resisten. Jadi jika diameternya diantara 14 mm sampai 19 mm dikatakan intermediete terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Jennings, Spring B., 2009 dalam Yusriana, 2014).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etil asetat 96%, media Nutrient Agar, NaCl, aquadest, tumbuhan myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth), *Staphylococcus aureus*, antibiotik Tetrasiklin (Tetrasanbe), pereaksi Wagner, Mayer dan Dragendorf, serbuk FeCl₃, HCl, dan H₂SO₄.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat kaca (Pirex), pipet tetes, blender (National), ayakan, pengaduk, oven, cawan petri, inkubator, labu ekstraksi, LAF, termometer, autoclaf, mistar berskala, alat fotografi, spatula, dan timbangan analitik.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri dari obyek atau subyek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2008). Populasi dalam penelitian ini yaitu tumbuhan myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) yang tumbuh di sekitar kota Batu, Malang.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel merupakan bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2008). Sampel dalam penelitian ini yaitu tumbuhan myana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) yang berusia lima bulan, yang diambil dari tangkai ketiga dari batangnya, yang sudah dideterminasi di Laboratorium Materia Medika Batu, Malang dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diperoleh dari BBLK Surabaya.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2008).

a. Variabel Independen

Variabel independen (bebas) pada penelitian ini adalah ekstrak daun myana dengan konsentrasi 15%, 25%, dan 35%.

b. Variabel Dependen

Variabel dependen atau terikat dalam penelitian ini yaitu aktivitas hambat minimum bakteri *Staphylococcus aureus*.

c. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah media, sterilisasi alat dan bahan, suhu dan waktu inkubasi, dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

Daun myana yang sudah disortir dicuci dengan air mengalir. Lalu ditiriskan dan dirajang kecil-kecil sekitar 1-2 cm. Ditimbang sampel basah sebanyak 4 kg. Selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari. Langkah terakhir ditimbang simplisia kering dan dihaluskan sampai terbentuk serbuk halus. Dilakukan pengayakan dan simplisia siap diekstraksi (Ningsih, dkk., 2013).

3.6.2 Ekstraksi Daun Myana dengan Etil Asetat secara Maserasi

Ditimbang simplisia halus daun myana sebanyak 400 gram. Lalu direndam dengan pelarut etil asetat di dalam botol maserasi yang tertutup rapat dan dibiarkan selama 5 hari pada temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari langsung. Sesekali dilakukan pengadukan. Setelah 5 hari disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat ditampung dalam penampungan atau botol maserasi. Ampas disimpan dalam wadah lainva dan dimaserasi kembali dengan etil asetat secara berulang sebanyak 3 kali. Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan

menggunakan oven pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Ningsih, dkk., 2013).

3.6.3 Uji Kadar Air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukan kurang lebih 10 gram ekstrak dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

Uji kadar air dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{bobot simplisia sebelum di oven} - \text{bobot simplisia setelah di oven}}{\text{Bobot simplisia sebelum di oven}} \times 100\%$$

(Depkes RI, 2000)

3.6.4 Uji Penapisan Senyawa Metabolit Sekunder

Penapisan golongan senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di setiap ekstrak.

3.6.4.1 Identifikasi Alkaloid

Diambil 0,5 gram ekstrak pekat etil asetat. Ditambah 1 ml HCl 2%. Lalu ditambah 9 ml aquadest dan dipanaskan selama 2 menit. Didinginkan, kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian. Masing- masing ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf. Jika positif terjadi endapan putih pada pereaksi Mayer, berwarna coklat kemerahan pada pereaksi Wagner dan berwarna jingga pada pereaksi Dragendorf (Setyowati, dkk., 2014).

3.6.4.2 Identifikasi Flavonoid

Dilarutkan ekstrak pekat etil asetat dalam methanol panas. Ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg, dan ditambah 1 ml HCl pekat. Jika terbentuk warna jingga berarti positif mengandung flavonoid (Setyowati, dkk., 2014).

3.6.4.3 Identifikasi Triterpenoid dan Steroid

Dilarutkan ekstrak pekat etil asetat daun myana dalam 0,5 ml kloroform. Ditambah 0,5 ml anhidra asetat. Lalu ditetesi 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Positif triterpenoid jika terbentuk warna coklat kemerahan dan warna hijau mengandung steroid (Setyowati, dkk., 2014).

3.6.4.4 Identifikasi Tanin

Dilarutkan ekstrak etil asetat daun myana ke dalam 10 ml aquadest, lalu disaring. Filtratnya ditetesi dengan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan jika terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati, dkk., 2014).

3.6.4.5 Identifikasi Saponin

Dilarutkan ekstrak etil asetat daun myana ke dalam 10 ml air panas. Dikocok selama 10 detik. Positif jika terdapat busa yang stabil (Setyowati, dkk., 2014).

3.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri

3.6.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yg akan digunakan seperti pipet, pinset, tabung reaksi, ose jarum harus disterilkan terlebih dahulu dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf alat-alat dibungkus dengan kertas payung, agar tetap steril saat dikeluarkan dari autoklaf (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.2 Pembuatan Media Agar NA

Ditimbang serbuk media agar NA sebanyak 1,68 gram. Dimasukan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan aquades sebanyak 60ml. Dipanaskan di atas api sampai serbuk agar benar-benar larut. Dilakukan pemeriksaan pH dengan kertas pH Universal. Selanjutnya media agar disterilkan dalam autoklaf pH suhu 121°C selama 15 menit. Biarkan temperatur turun sampai 45°C. Media agar siap dituangkan pada plate atau cawan petri (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.3 Peremajaan Bakteri

Tujuan peremajaan bakteri yaitu untuk merawat bakteri agar tetap baik. Digunakan media agar miring NA, lalu masing-masing media ditanami bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella* dengan cara digoreskan menggunakan ose jarum. Lalu bakteri diinkubasi pada suhu 37-38°C selama 24 jam (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.4 Pengenceran Bakteri

Disiapkan 3 tabung reaksi, masing- masing tabung reaksi berisikan 10 ml larutan NaCl fisiologis. Diambil suspensi bakteri dengan menggunakan ose pada media agar miring NA, diaduk sampai homogen. Diambil 1 ml suspensi bakteri

dari tabung 1 untuk diencerkan dalam tabung 2. Begitu selanjutnya sampai tabung ke-3 (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.5 Cara Isolasi dengan Menggunakan Tehnik Tuang

Setiap pengenceran diambil 1ml dan diletakan ke dalam petri disk. Selanjutnya dituang medium pembiakan (NA) yg telah dicairkan dan didinginkan sampai suhu 45°C. Perlahan-lahan petri disk digoyang-goyangkan dengan gerakan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja sampai bahan pemeriksaan tercampur rata. Didiamkan hingga beku (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram

Kertas cakram dicelupkan pada ekstrak daun myana dengan beberapa konsentrasi.

(15%,25%, 35%) sebanyak 5ml. Perhitungan konsentrasi:

$$15\% = 15 \text{ gram} / 100\text{ml} \times 2\text{ml} = 0,3 \text{ gram}$$

$$25\% = 25 \text{ gram} / 100\text{ml} \times 2\text{ml} = 0,5 \text{ gram}$$

$$35\% = 35 \text{ gram} / 100\text{ml} \times 2\text{ml} = 0,7 \text{ gram}$$

Keterangan: ekstrak daun myana dilarutkan dgn 5ml aquadest untuk mendapatkan konsentrasi yg diinginkan seperti di atas. Ketiga kertas cakram diletakan di atas medium yang sudah berisikan bakteri uji dan diberi tanda pada masing- masing kertas cakram. Diinkubasi selama 24 jam pd suhu 37°C. Diamati pertumbuhan bakteri untuk setiap area. Jika zona hambat belum tampak tunggu hingga 24 jam lagi (Yusriana, dkk., 2014).

3.6.5.7 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan mistar berskala/jangka sorong. Kemudian diperoleh berupa diameter (cm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter kertas cakram. Untuk mendapatkan hasil yang akurat, tiap daerah hambat dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda. Lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (Yusriana, dkk., 2014).

Besarnya daerah hambat yang terbentuk disesuaikan dengan kriteria CSLI (Clinical Laborator Standart) yaitu bila daerah hambat ≥ 19 mm dikatakan sensitif dan bila daerah hambat ≤ 14 mm maka dikatakan resisten, sedangkan antara 14

mm sampai 19 mm dikatakan intermediet terhadap pertumbuhan bakteri (Jennings, Spring B, 2009).

3.7 Analisis Hasil

Data dianalisis dengan uji statistik non parametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis dengan tingkan kemaknaan $\alpha = 0,05$. Analisis dengan uji Kruskal-Wallis bertujuan untuk menguji signifikai perbedaan rerata semua kelompok perlakuan sekaligus.

Berikut ini merupakan hipotesis dan pengambilan keputusan uji Kruskal-Wallis:

1. Hipotesis

H_0 = tidak ada perbedaan rerata seluruh kelompok perlakuan

H_1 = ada perbedaan rerata seluruh kelompok perlakuan

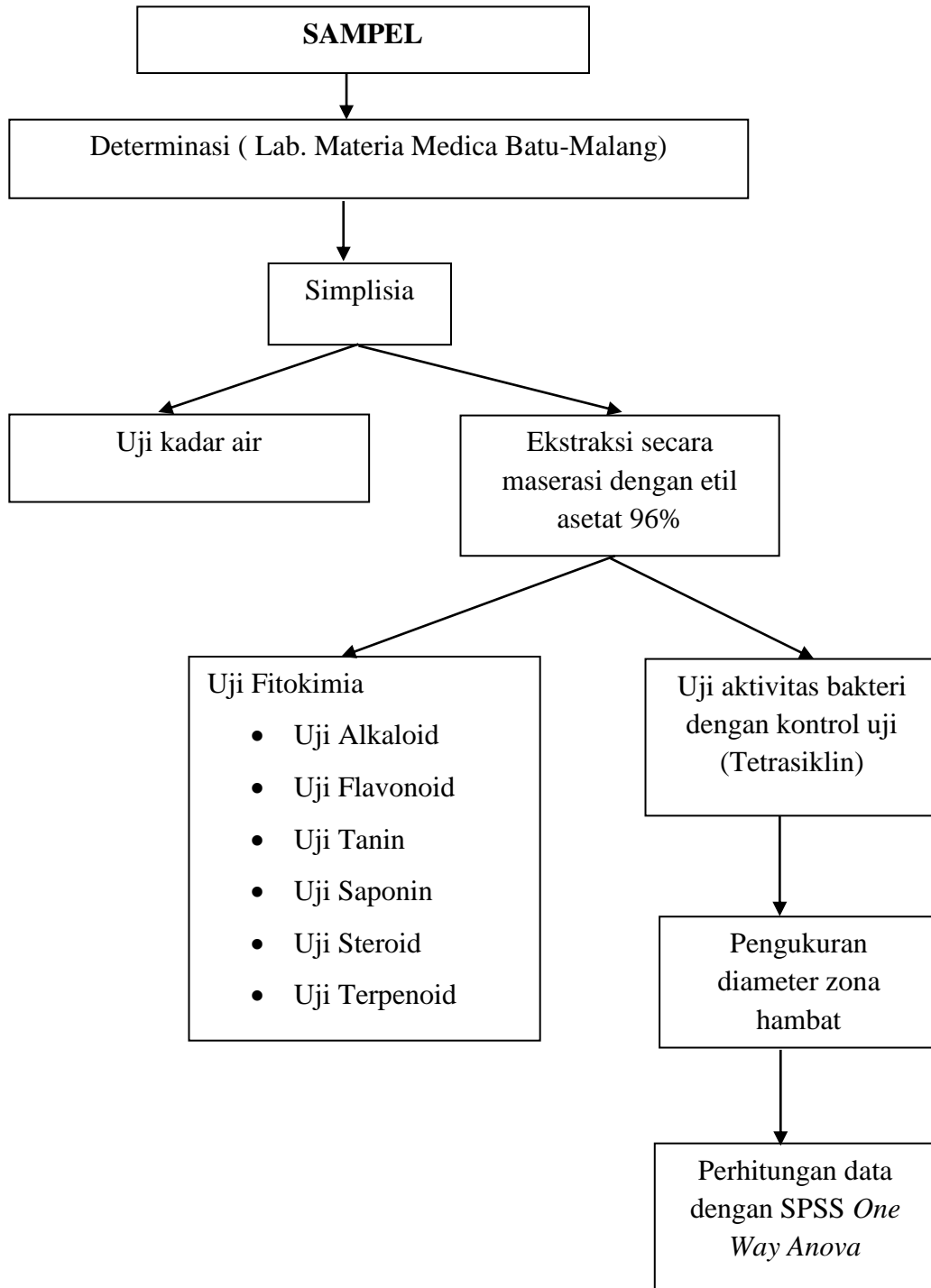
1. Pengambilan Keputusan

Apabila $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

Apabila $p > 0,05$, maka H_0 diterima

Selanjutnya data diolah menggunakan uji Regresi Linier untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri yang setara dengan tetrasiklin. Semua uji statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS for Windows (Sugiyono, 2008).

3.8 Kerangka Penelitian



3.6 Jadwal Kegiatan Penelitian

No.	Jenis Kegiatan	Tahun 2017			Tahun 2018				
		Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei
1.	Studi Pustaka	✓							
2.	Persiapan Penelitian	✓	✓						
	a. Determinasi Tanaman	✓							
	b. Pengeringan dan penyerbukan simplisia		✓	✓	✓				
	c. maserasi					✓			
3.	Penelitian laboratorium					✓			
	a. Identifikasi kandungan					✓			
	b. Orientasi penelitian					✓	✓		
4.	Pengumpulan dan analisis data						✓	✓	
5.	Penyusunan laporan						✓	✓	✓

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Determinasi tumbuhan

Hasil determinasi tumbuhan yang dilakukan di UPTD Materia Medica Batu-Malang menunjukkan bahwa tumbuhan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth. (*Lampiran*))

4.2 Karakteristik ekstrak etil asetat daun myana

Tabel IV.1 Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol daun myana

Karakteristik ekstrak	Hasil
Organoleptis	
• Bentuk	Ekstrak pekat
• Warna	Hijau kecoklatan
• Bau	Khas (tidak sedap)

4.3 Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun myana

Tabel IV.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun myana

Golongan	Hasil
Alkloid	
• Uji Wagner	+
• Uji Dragendorf	+
• Uji Mayer	+
Flavonoid	-
Tanin	+
Saponin	-
Steroid	-
Terpenoid	-

Keterangan : (+) : terkandung senyawa

(-) : tidak terkandung senyawa atau tidak terbentuk warna

4.4 Data Uji Kadar Air

Tabel IV.3 Hasil berat cawan kosong pada uji kadar air daun myana

Sampel	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
A1	84,19 g	84,14 g	84,12 g	84,12 g	84,12 g
A2	84,13 g	84,11 g	84,08 g	84,08 g	84,08 g
A3	84,17 g	84,15 g	84,13 g	84,13 g	84,13 g

Tabel IV.4 Hasil berat cawan + sampel pada uji kadar air daun myana

Sampel	Sampel Basah	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
A1	89,08 g	88,20 g	88,17 g	88,16 g	88,16 g	88,16 g
A2	89,06 g	88,18 g	88,16 g	88,14 g	88,14 g	88,14 g
A3	89,10 g	88,22 g	88,20 g	88,18 g	88,18 g	88,18 g

Kadar air terkorelasi rata-rata pada sampel daun myana :

$$17,32\% + 17,24\% + 17,28\% = 17,28\%$$

3

4.5 Data Hasil Proses Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Myana

Tabel IV.5 Data Proses Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Myana

Komponen	Massa (kg)
Berat basah daun myana	10 kg
Berat kering	900 g
Berat serbuk kasar	850 g
Berat serbuk halus	713 g
Berat serbuk untuk maserasi	400 g
Jumlah etil asetat 96%	1600 ml
Hasil ekstrak cair	850 ml
Berat cawan kosong	81,17 g
Berat cawan + ekstrak	90,84 g
Berat ekstrak	9,67 g
% Rendemen	2,15%

$$\begin{aligned}
 \text{Perhitungan : \% Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak} \times 100\%}{\text{berat sampel}} \\
 &= \frac{9,67 \text{ gram} \times 100\%}{400 \text{ gram}} \\
 &= 2,15\%
 \end{aligned}$$

4.6 Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri

Tabel IV.6 Kriteria kekuatan zona daya hambat daun myana

No.	Perlakuan	Diameter Zona Hambat			Rata-rata
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1	Ekstrak 15%	11,50 mm	13,00 mm	14,00 mm	12,80 mm
2	Ekstrak 25%	18,00 mm	18,00 mm	15,00 mm	17,00 mm
3	Ekstrak 35%	36,00 mm	40,00 mm	43,00 mm	39,60 mm
4	Kontrol (+) Tetrasiklin	60,00 mm	63,00 mm	63,50 mm	62,17 mm
5	Kontrol (-) etil asetat	00,00 mm	00,00 mm	00,00 mm	00,00 mm

4.7 Pengolahan data dengan menggunakan SPSS *One Way Anova*

Jadi pada Tabel IV.7 diketahui bahwa uji normalitas dan uji homogenitas ekstrak etil asetat daun myana \geq sig. 0.050. Sedangkan pada uji *One Way Anova* didapatkan hasil sig. 0.000 \leq sig. 0.050, maka nilai H_0 diterima yang berarti signifikan. Meskipun dengan konsentrasi yang rendah, ekstrak etil asetat daun myana mempunyai daya hambat atau mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel IV.7 Hasil uji SPSS *One Way Anova*

No.	Kategori	Sigma
1.	One-Sample Kolmogrov Smarnov Tset	0.857
2.	Test of Homogeneity of Variance	0.100
3.	<i>One Way Anova</i>	0.000

BAB V

PEMBAHASAN

Pada bab ini akan diuraikan hasil penelitian dan pembahasan mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yang dilaksanakan pada tanggal 18 Februari sampai 12 April 2018. Di dalam pembahasan ini meliputi preparasi sampel, ekstraksi daun myana dengan menggunakan pelarut etil asetat 96%, uji kadar air, uji fitokimia, dan uji aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat 96% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram.

Penelitian ini dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat daun myana dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.1 Preparasi Sampel

Daun myana yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun myana yang berasal dari tangkai ketiga sampai tangkai kedelapan, karena pada tangkai tersebut masih muda dan masih banyak mengandung senyawa metabolit sekunder daripada tangkai delapan ke bawah. Dipilih daun yang masih segar dan langsung dilakukan penyortiran untuk daun yang kering dan tidak layak pakai. Tanaman yang akan diteliti di determinasi di Materia Medika Batu Malang terlebih dahulu untuk memastikan bahwa sampel tersebut adalah daun myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth). Seluruh daun yang masih segar dengan berat ± 10 kg diambil kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah, ulat maupun debu yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Seluruh daun yang sudah bersih ditiriskan sebentar, kemudian dilakukan perajangan sekitar 1-2 cm. Ini bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan dan pemblenderan (Muadifah, 2013). Selanjutnya seluruh daun dikeringkan di bawah sinar matahari 2-3 hari agar sisa air pencucian dapat kering

(mengurangi kadar air) dan mencegah terjadinya perubahan kimia berupa reaksi enzimatis (bagian daun yang cepat membusuk sehingga dapat menghasilkan mikroorganisme yang dapat mengubah konformasi senyawa kimia yang terkandung di dalam daun tersebut) sehingga dapat disimpan lebih lama (Suastini, 2000).

Pada saat pengeringan digunakan kain jaring hitam agar daun terlindung dari sinar matahari dan agar senyawa metabolit yang terkandung di dalam daun tidak rusak. Sampel simplisia yang telah kering akan berwarna hijau kecoklatan, kemudian diblender. Untuk memperoleh sampel yang halus sesuai ukuran yang diinginkan dilakukan pemblessenderan berkali-kali sehingga dapat mempermudah jalannya proses ekstraksi. Semakin kecil bentuknya semakin besar luas permukaannya maka interaksi zat cair dalam proses ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin cepat (Voight dan Muadifah, 2013). Sebuk dengan penghalusan yang tinggi memungkinkan sel-sel yang rusak juga semakin besar, sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan senyawa secara langsung oleh bahan pelarut (Muadifah, 2013). Untuk pemblessenderan pertama diperoleh berat serbuk simplisia sebanyak 850 g, kemudian untuk pemblessenderan yang kedua diperoleh berat serbuk simplisia kering dengan serbuk lebih halus sebanyak 800 g.

Kemudian dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan 60 mesh, bertujuan untuk memaksimalkan dan memperkecil variasi interaksi antara pelarut dengan sampel. Sehingga diperoleh serbuk halus dengan ukuran yang relatif seragam (≥ 60 mesh) dengan berat ± 700 g. Serbuk inilah yang akan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat 96%.

5.2 Uji Kadar Air

Sampel penelitian yang akan dianalisis sering mengandung air yang jumlahnya tidak menentu sehingga penetapan kadar air terhadap sampel yang akan dianalisis perlu dilakukan untuk mengetahui jumlah bahan (berat kering) yang terdapat di dalam ekstrak (Zuhud, dkk., 2001). Penentuan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui kandungan zat dalam daun sebagai presentase bahan

kering dan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan. Kandungan air pada daun kering myana dihilangkan dengan cara pemanasan fisik menggunakan oven (Haryadi, 1986).

Analisis kadar air dalam penelitian ini dilakukan pada sampel serbuk kasar daun myana. Terlebih dahulu cawan petri dimasukan ke dalam oven pada suhu 60°C selama 15 menit agar cawan terbebas dari kandungan air, kemudian cawan ditimbang dengan neraca analitik. Perlakuan ini dilakukan secara terus-menerus hingga diperoleh berat cawan konstan.

Serbuk simplisia yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukan ke dalam cawan petri yang sudah diketahi beratnya, selanjutnya dimasukan ke dalam oven pada suhu 60°C selama 5 jam dan ditimbang. Sampel yang sudah kering didinginkan dan dioven kembali pada jarak 1 jam sampai terdapat perbedaan diantara keduanya. Perlakuan tersebut diulangi hingga diperoleh berat sampel konstan. Analisis dilakukan dengan 3 kali pengulangan dengan tujuan agar diperoleh data yang akurat.

Pada pengamatan menunjukkan bahwa kandungan air dalam serbuk kering myana adalah sebesar 17,28%. Hasil tersebut tidak sesuai dengan hasil normal kadar air yaitu di bawah 10%. Hal ini disebabkan karena suhu yang digunakan pada saat pengovenan tidak sesuai dengan prosedur. Suhu yang seharusnya dipakai 105-110°C melainkan bukan 60°C. Jika menggunakan suhu lebih rendah maka seharusnya waktu pengovenan lebih diperlama. Selain itu ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi tingginya kadar air yaitu perlakuan terhadap bahan pada saat proses pengeringan, tempat penyimpanan bahan yang terlalu lembab, banyaknya kandungan air pada bahan, dan ukuran partikel. Dengan adanya kadar air yang tinggi akan menyebabkan nilai rendemen rendah, ini dikarenakan senyawa aktif lebih tertarik ke dalam aquades. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Rahmawati (2008) diperoleh kadar air daun myana sebanyak 21,09%, hal ini terjadi karena beberapa faktor yang sudah dijelaskan (Rahmawati, 2008).

Kadar air yang tinggi menyebabkan mikroba lebih mudah mengalami pertumbuhan. Selain rentan kerusakan terhadap mikroba dan jamur, kadar air

yang tinggi juga berpengaruh terhadap rendemen (yield) yang dihasilkan dari daun myana, khususnya bakteri memerlukan air untuk mempertahankan hidupnya. Kadar air sampel yang bisa disimpan dalam jangka waktu agar terhindar dari pertumbuhan bakteri dan jamur adalah di bawah 10% (Winarno, dkk., 1973). Jadi sebaiknya ekstrak myana segera digunakan karena mengandung air yang tinggi.

5.3 Ekstraksi Daun Myana

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Menurut Ditjen POM (2000) ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Prinsip metode ekstraksi adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur, batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut (Khopkar dalam Muadifah, 2013).

Ekstraksi bertujuan untuk mengisolasi zat-zat yang terkandung dalam suatu bahan dengan bantuan pelarut tertentu. Sampel daun yang akan diekstraksi berbentuk bubuk. Ini dapat meningkatkan efektivitas ekstraksi karena semakin kecil atau halus ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarutnya (Tuyet & Chuyen, 2007).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Metode ini dipilih untuk memisahkan senyawa-senyawa aktif dalam daun myana selain dalam efektivitasnya, kepraktisan, keamanan, dan ekonomis dalam penggunaannya juga bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa aktif dalam daun myana yang tidak tahan dengan panas. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Maka larutan terpekat didesak

keluar. Proses maserasi ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, senyawa yang tidak tahan terhadap panas akan tetap aman atau tidak rusak. Sedangkan kerugiannya memerlukan waktu yang relatif lama (Guenther, 1990).

Serbuk halus daun myana ditimbang sebanyak 400 gram, dilakukan dengan 4 kali penimbangan masing-masing 100 gram dan dimasukkan ke dalam botol maserasi (berwarna coklat gelap). Kemudian serbuk daun myana direndam dengan menggunakan pelarut etil asetat 96% sebanyak 1600 ml sampai semua serbuk terendam. Dilakukan pengocokan dan pengadukan agar semua serbuk tercampur dengan pelarut. Pada penelitian ini dilakukan maserasi selama tujuh hari karena adanya keterbatasan alat yang tersedia. Botol maserasi disimpan di tempat yang tertutup dan terhindar dari sinar matahari. Sesekali dilakukan pengadukan atau pengocokan. Pelarut etil asetat 96% akan menembus dinding sel, sehingga larutan yang diinginkan akan terdesak keluar akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut.

Pemilihan pelarut berdasarkan pada prinsip *like dissolve like* artinya senyawa polar hanya larut dalam pelarut polar dan begitu sebaliknya untuk senyawa-senyawa yang bersifat semi polar dan nonpolar. Menurut Harborne (2006) bahan segar dapat diekstraksi dengan alkohol absolut tetapi untuk bahan kering diekstraksi dengan menggunakan campuran alkohol dan air. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etil asetat 96% yang merupakan pelarut semi polar dan semi polaritasnya lebih tinggi dari aquades sehingga akan lebih banyak melarutkan komponen semi polar. Pelarut ini mudah melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak dan senyawa organik lainnya.

Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Bahan kandungan sel daun myana diantaranya adalah saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Bahan tersebut akan berpindah secara otomatis melalui ruang antar rongga sel.

Pengadukan sangat diperlukan untuk meratakan derajat konsentrasi larutan di dalam maupun di luar sel. Pada saat pengadukan dilakukan dengan manual tanpa menggunakan *shaker* tidak adanya ketersediaan alat. Tetapi dengan pengadukan yang manual juga bisa mendapatkan hasil yang maksimal jika pengadukan dilakukan dengan konstan.

Setelah dilakukan pengadukan, sampel disaring dengan menggunakan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu (ampas). Perlakuan tersebut diulangi hingga didapatkan filtrat yang jernih berwarna hijau kecoklatan. Dalam penelitian ini didapatkan filtrat jernih sebanyak 850 ml.

Hal selanjutnya yaitu menjadikan filtrat tersebut menjadi ekstrak dengan cara menggunakan oven. Filtrat dimasukan oven selama beberapa minggu sampai menjadi ekstrak kering. Kemudian dihitung persen rendemennya. Pada penelitian ini didapatkan hasil ekstrak etil asetat daun myana sebanyak 2,4175%. Hal ini menunjukkan hanya beberapa senyawa di dalam daun myana yang memiliki sifat semi polar.

5.4 Hasil Pengamatan Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat 96% Daun Myana

Uji fitokimia adalah uji pendahuluan yang bersifat kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel. Uji ini sangat berguna untuk menentukan golongan utama dari senyawa aktif ekstrak etil asetat daun myana yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji ini meliputi uji alkaloid, steroid dan terpenoid, flavonoid, tanin, dan saponin. Semuanya tergolong metabolit sekunder. Pada dasarnya senyawa-senyawa kimia tersebut bersifat toksik pada tumbuhan atau hewan. Pada bagian tumbuh-tumbuhan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan digunakan untuk mempertahankan diri dari musuh tetapi dalam dosis tertentu dapat digunakan untuk obat.

Uji fitokimia dalam penelitian ini menggunakan ekstrak kental daun myana dengan menambahkan reagen pendeteksi suatu golongan senyawa aktif. Hasil pengamatan dari ekstrak etil asetat daun myana menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan tanin. Ini menunjukkan kedua senyawa tersebut masih dapat

larut dalam pelarut semi polar. Sedangkan senyawa lainnya seperti flavonoid, terpenoid, dan saponin tidak dapat terlarut dengan pelarut semi polar, sehingga memungkinkan ketiga senyawa tersebut bersifat polar maupun nonpolar. Hasil pengamatannya dapat dilihat pada Tabel V.1.

Tabel V.1 Hasil skrining fitokimia

Golongan Senyawa	Perubahan Warna	Hasil
Alkaloid		
-Mayer	endapan putih	+
-Wagner	coklat kemerahan	+
-Dragendorf	jingga	+
Tanin	Hijau kehitaman	+
Flavonoid	Kuning muda	-
Saponin	Busa langsung hilang	-
Steroid	Kuning-kuning	-
Terpenoid	Kuning-kuning	-

Keterangan : (+) : mengandung kelompok senyawa

(-) : tidak mengandung kelompok senyawa

Menurut Ramsewak (1999), senyawa fitokimia merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman dan memiliki aktivitas fisiologis sehingga banyak digunakan dalam pengobatan dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

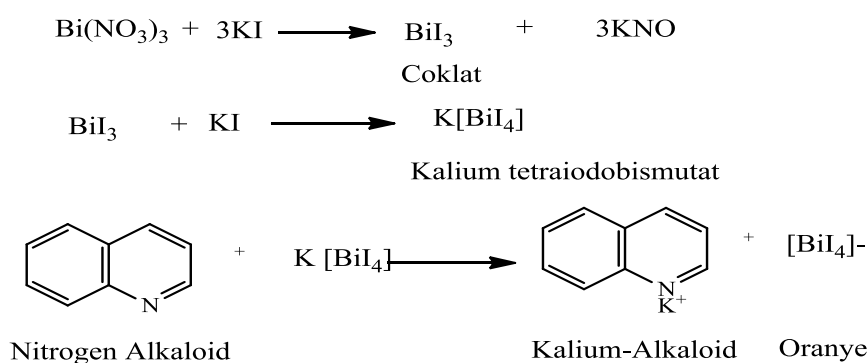
5.4.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan zat yang mempunyai kecenderungan menghambat pertumbuhan bakteri, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat (Harborne, 2006). Alkaloid dari tumbuhan telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri diantaranya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ramsewak, 1999).

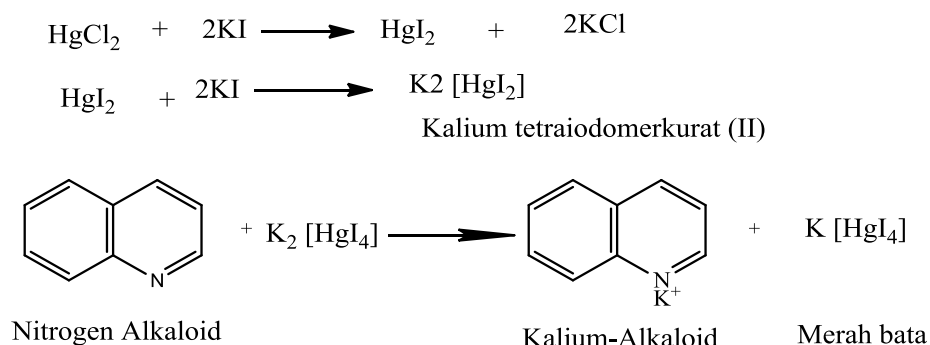
Uji kualitatif senyawa alkaloid dilakukan dengan cara diambil 0,5 gram ekstrak kental etil asetat daun myana, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml larutan HCl 2%. Tujuan penambahan HCl 2% ini adalah untuk mengekstrak alkaloid karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Bukti kuantitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorf (kalium tetraiodobismutat). Mayer

(kalium tetraiodomerburat) dan reagen Wagner. Menurut Setyowati (2014) ekstrak yang mengandung alkaloid akan membentuk warna jingga jika bereaksi dengan reagen Dragendorf, membentuk endapan putih jika bereaksi dengan reagen Mayer, dan akan membentuk warna coklat keemasan dengan reagen Wagner. Endapan tersebut terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Uji pereaksi Mayer dan Dragendorf dapat dilihat pada Gambar 5.1 dan Gambar 5.2.



Gambar 5.1 Uji Preaksi Dragendorf



Gambar 5.1 Uji Pereaksi Wagner

Hasil uji alkaloid dari ekstrak etil asetat daun myana menunjukkan terbentuknya endapan dan perubahan warna pada saat direaksikan dengan ketiga reagen tersebut. Jadi ketiga reagen menunjukkan hasil positif mengandung senyawa alkaloid. Pereaksi Dragendorf digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dengan mengendapkannya logam-logam berat seperti logam bismuth yang merupakan salah satu logam yang terkandung dalam reagen Dragendorf (Sirait, 2007).

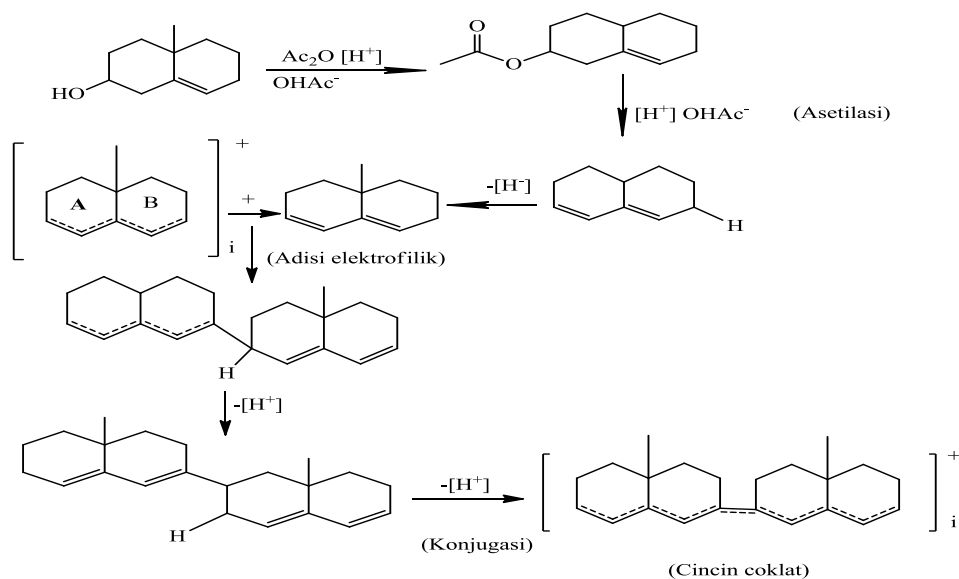
Pada pembuatan pereaksi Dragendorf, bismuth nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismuth mudah terhidrolisis membentuk ion bismuti (Marliana, dkk.,2005).

Agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan tersebut ditambah asam sehingga keseimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismuth nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan Bismuth (III) iodida yang kemudian larut dalam kalium berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990).

Pada uji Alkaloid dengan pereaksi mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005).

5.4.2 Terpenoid dan Steroid

Uji kualitatif senyawa terpenoid dilakukan dengan mengambil 200 mg ekstrak etil asetat daun myana, kemudian dilarutkan dalam 0,5 ml larutan kloroform. Penambahan kloroform ini bertujuan untuk melarutkan senyawa terpenoid karena senyawa tersebut larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air. Larutan yang terbentuk kemudian ditambah dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Ini untuk membentuk turunan asetil setelah di dalam kloroform. Jadi molekul air yang terdapat pada larutan yang akan diuji maka asam asetat anhidrat akan menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan. Selanjutnya ditetesi dengan 2 ml H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Tujuannya agar tidak terjadi letupan saat pencampuran. Jika terbentuk warna coklat kemerahan menandakan adanya kandungan senyawa terpenoid, sedangkan kandungan senyawa steroid akan menghasilkan warna hijau (Setyowati, dkk., 2014). Reaksi terpenoid ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5.2 Reaksi Terpenoid

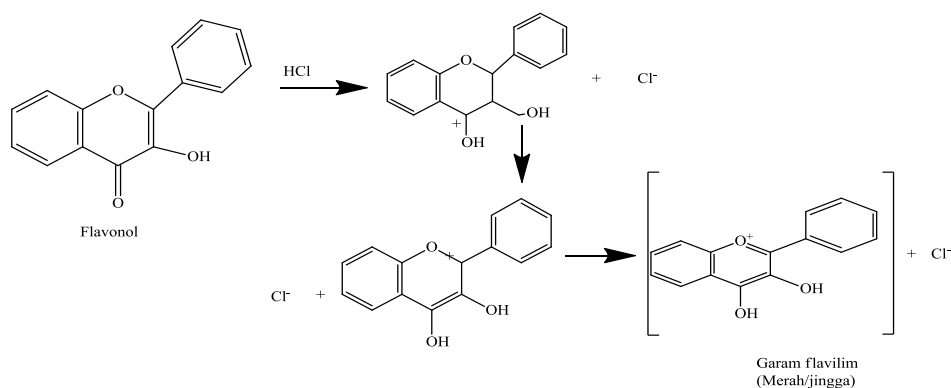
Pada hasil pengamatan didapatkan hasil negatif karena pada uji terpenoid dan steroid tidak mengalami perubahan saat ditetesi dengan larutan H_2SO_4 pekat yang melewati dinding tabung reaksi.

5.4.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol dan umumnya terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk aglikon maupun terikat pada gula sebagai glikosida (Harborne, 2006). Flavonoid juga memegang peran penting dalam biokimia dan fisiologi tanaman, diantaranya berfungsi sebagai pengatur pertumbuhan, juga sebagai antioksidan dan sebagai antibakteri. Hal ini dikarenakan flavonoid mempunyai spektrum aktivitas antibakteri yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000).

Uji fitokimia senyawa flavonoid ekstrak etil asetat daun myana dilakukan dengan cara diambil 200 mg ekstrak kental daun myana dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan dengan methanol panas 50% 1-2 ml, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat. Penambahan HCl pekat ini bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik.

Tujuan penambahan serbuk Mg adalah serbuk Mg akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah jingga, yang mana Mg merupakan atom pusatnya. Dalam pembentukan senyawa kompleks, atom pusat dapat berupa unsur-unsur logam golongan utama baik atom maupun ion. Pembentukan senyawa kompleks MgO_2 karena terjadinya ikatan kovalen koordinasi antara atom logam Mg dengan atom oksigen sebagai donor elektron ikatan (Effendy, 2011). Reaksi uji Flavonoid ditunjukkan pada Gambar 5.

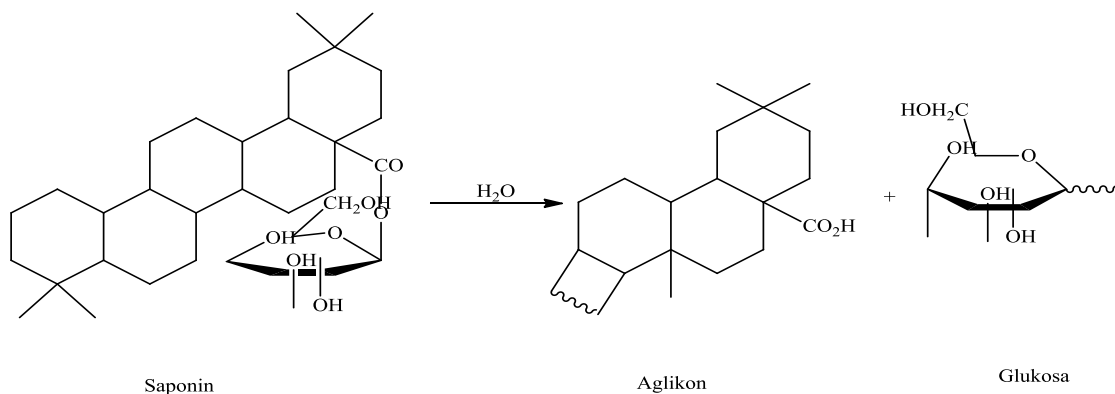


Gambar 5.3 Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium

Pada penelitian ini ekstrak etil asetat daun myana tidak mengandung senyawa flavonoid karena tidak mengalami perubahan menjadi warna jingga melainkan tetap kekuningan.

5.4.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida steroid maupun triterpena yang ditemukan dalam tumbuhan dan zat yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Uji kimia senyawa saponin ekstrak etil asetat daun myana dilakukan dengan cara ditimbang 200 mg ekstrak etil asetat daun myana dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan ke dalam 10 ml air panas. Dilakukan pengocokan selama 10 detik hingga busanya stabil. Jika terdapat busa yang stabil maka positif mengandung senyawa saponin (Setyowati, dkk., 2004). Reaksi Saponin ditunjukkan pada Gambar 5.4.

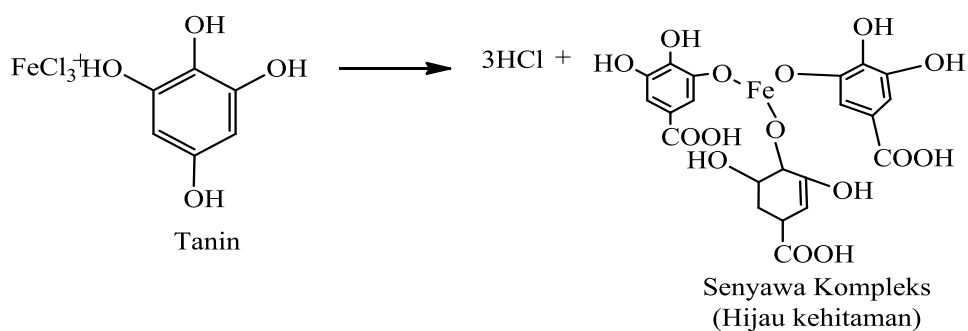


Gambar 5.4 Reaksi uji Saponin

Pada penelitian ini ekstrak etil asetat daun myana tidak mengandung senyawa saponin karena tidak terdapat busa yang stabil. Kemungkinan ini disebabkan kurangnya saat pengocokan.

5.4.5 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa metabolit sekunder. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein sehingga terjadi koagulasi protoplasma bakteri. Pada uji senyawa tanin dilakukan dengan cara ditimbang 200 mg ekstrak etil asetat daun myana, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Dilarutkan dengan 10 ml aquades dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Kemudian filtratnya ditetesi dengan larutan FeCl_3 1% dan akan membentuk warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman karena FeCl_3 berfungsi untuk membentuk kompleks. FeCl_3 ditambahkan pada saat dingin agar tidak mudah terkondensasi. Reaksi tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 5.6 Reaksi antara tanin dan FeCl_3

Pada hasil pengamatan didapatkan senyawa tanin yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat daun myana karena mengalami perubahan warna dari kuning muda menjadi hijau kehitaman.

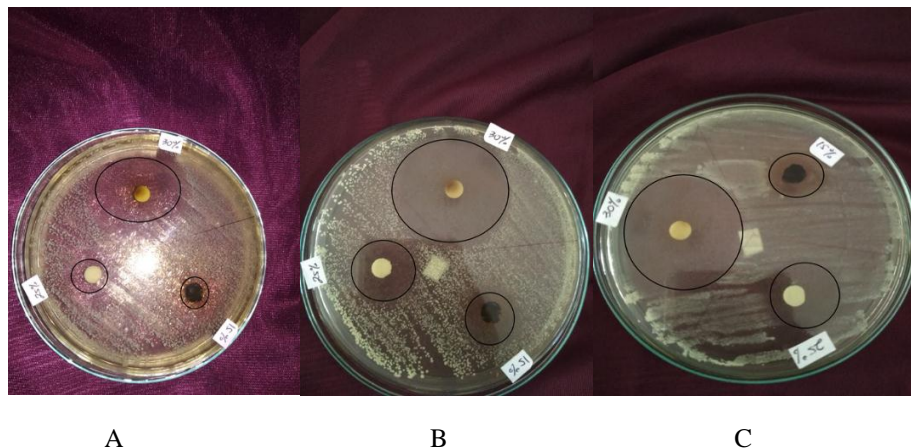
5.5 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Myana

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun myana dengan menggunakan metode difusi cakram bertujuan untuk mengetahui seberapa besar zona hambat yang dihasilkan ekstrak etil asetat daun myana dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode yang digunakan dalam isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan menggunakan metode cawan gores. Hal ini bertujuan supaya dihasilkan koloni-koloni bakteri yang benar-benar terpisah sehingga akan mempermudah proses isolasi bakteri dan pengamatannya. Di dalam penelitian ini digunakan media Nutrient Agar karena media ini paling cocok dimana tidak mengandung karbohidrat dan konsistensinya padat (Yusriana, dkk., 2014).

Pada penelitian ini digunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif (+) karena tetrasiklin mempunyai spektrum luas yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Menurut CSLI (Clinical Laborator Standard Institute) kriteria daerah hambat adalah sensitif jika ≥ 19 mm, dikatakan resisten jika zona hambatnya ≤ 14 mm, dan dikatakan intermeiet jika zonanya antara 14 mm sampai 19 mm (Jennings, Spring B., 2006).

Hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etil asetat daun myana mempunyai variasi ukuran yang berbeda. Pada penelitian ini digunakan pengenceran dari setiap sampel bakteri, jadi setiap sampel mempunyai kandungan bakteri yang berbeda. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etil asetat daun myana terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.7 Diameter zona hambat ekstrak etil asetat daun myana terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan beberapa konsentrasi

Keterangan : A : Replikasi 1
 B : Replikasi 2
 C : Replikasi 3

Pada Gambar 5.3 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun myana memiliki aktivitas hambat bakteri yang sangat besar pada *Staphylococcus aureus*. Hal ini terbukti dengan adanya peningkatan pada setiap konsentrasinya. Ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang tidak memiliki mikrokapsul pelindung dinding sel sehingga memiliki pertahanan tubuh yang lemah atau rendah jika dibandingkan dengan bakteri lain seperti *Streptococcus pneumonia* (Todar, 2004).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif. Dinding selnya terdiri dari satu lapisan peptidoglikan saja sehingga dinding sel bakteri ini mudah ditembus oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun myana (Brannen & Davidson, 1993).

Berdasarkan metode David dan Stout, jika suatu ekstrak memiliki zona hambat antara 10-20 mm maka daya hambatnya termasuk kuat. Pada hasil pengamatan didapatkan hasil rata-rata untuk ekstrak dengan konsentrasi 15% yang dilakukan dengan 3 kali replikasi yaitu sebesar 12,83 mm. Untuk ekstrak dengan konsentrasi 25% diperoleh hasil rata-rata sebesar 17 mm dan yang terakhir yaitu ekstrak dengan konsentrasi 35% didapatkan hasil sebesar 39,6 mm. Dengan

demikian diketahui bahwa ekstrak etil asetat daun myana dengan konsentrasi 15%, 25%, dan 35% mempunyai daya hambat yang kuat.

Pada penelitian sebelumnya dilakukan pengamatan terhadap ekstrak etanol daun myana dan mendapatkan hasil sebesar 2,5 mm. Hasil tersebut sangat berbeda jauh sekali dengan ekstrak etil asetat daun myana. Perbedaan besar zona hambat tersebut kemungkinan disebabkan adanya perbedaan pelarut (Rahmawati, 2008).

5.6 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroba dan sebagai petunjuk mengenai dosis yang diperlukan untuk mengendalikan suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Senyawa antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakteriosidal bila konsentrasi antimikroba tersebut ditingkatkan melebihi MIC (Ganiswara, dkk., 2010).

Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) suatu antimikroba berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji, hal ini berarti bahwa suatu bakteri dikatakan memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap suatu senyawa antimikroba bila memiliki nilai konsentrasi hambat minimum yang rendah. Penentuan konsentrasi hambat minimum pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 15%, 25%, dan 35% yang diuji pada biakan bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*. Hasil uji konsentrasi hambat minimum dari ekstrak etil asetat daun myana yang digunakan dalam bakteri uji adalah konsentrasi 15% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,8 mm. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etil asetat daun myana dikategorikan kuat karena diameter zona hambatnya lebih dari 10 mm.

5.7 Analisa Data Dengan Menggunakan SPSS

Analisa data merupakan sebuah proses untuk memeriksa, membersihkan, mengubah dan membuat pemodelan data dengan maksud untuk menemukan

informasi yang bermanfaat sehingga dapat memberikan petunjuk untuk mengambil keputusan. Data hasil penelitian aktivitas antibakteri dari beberapa konsentrasi ekstrak daun myana dilakukan analisis data menggunakan SPSS 16 yang bertujuan untuk melihat apakah ekstrak daun myana mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Analisa data dapat dilakukan setelah penentuan normalitas. Uji normalitas dilakukan dengan Kolmogorov-Smirnov (K-S). Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui suatu variable normal atau tidak. Uji normalitas pada dasarnya melakukan perbandingan antara data hasil uji dengan data yang berdistribusi normal yang memiliki mean dan standar deviasi yang sama dengan data hasil uji. Data terdistribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya parametric tes. Data yang terdistribusi normal merupakan data yang memiliki sebaran yang sama dan dianggap bisa mewakili populasi (Supardi, 2014).

Data yang terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan One-Way Anova. Asumsi One-Way Anova dilakukan dengan uji homogenitas, pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan levene statistics (Yamin dan Kurniawan, 2014). Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah sebaran data berasal dari populasi yang sama atau tidak (Gaffar, 2017). Hasil pengamatan dari hasil uji One Way Anova dapat dilihat pada Tabel V.2.

Tabel V.2 Data hasil One Way Anova

No.	Kategori	Sigma
1.	One-Sample Kolmogorov Smirnov Test	0,875
2.	Test of Homogeneity of Variance	0,100
3.	One Way Anova	0,000

Daya hambat dari beberapa konsentrasi ekstrak daun myana dianalisis normalitasnya menggunakan statistik uji Kolmogorov-Smirnov (K-S). Hasil uji normalitas aktivitas antibakteri ekstrak daun myana terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan Uji Kolmogorov-Smirnov disajikan pada Tabel V.2 menunjukkan bahwa nilai signifikansi Kolmogorov-Smirnov pada kolom Asymp. Sig. (2-tailed) sebesar 0.875. Nilai yang diperoleh lebih besar dari yaitu $P > 0,05$.

Hal ini menunjukkan bahwa data diameter zona hambat ekstrak daun myana terhadap *Staphylococcus aureus* berdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas. Uji homogenitas menggunakan uji Levene Statistik. Hasil uji homogenitas ditunjukkan pada Tabel V.2. Berdasarkan uji homogenitas menunjukkan bahwa uji tersebut memiliki $p > 0,05$ yang berarti data diameter daya hambat bersifat homogen. Maka dari itu keputusannya berarti dapat dilakukan uji *One Way Anova*.

Pada uji *One Way Anova* diperoleh hasil sebesar 0,000. Nilai yang diperoleh lebih kecil dari yaitu $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data diameter zona hambat ekstrak daun myana terhadap *Staphylococcus aureus* mempunyai perbedaan yang signifikan. Keputusan tersebut dapat dilihat pada hasil uji Post Hoc yaitu terdapat perbedaan diameter zona hambat di setiap konsentrasi ekstrak daun myana.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etil asetat 96% daun myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat 12,80 mm.
2. Ekstrak etil asetat 96% daun myana (*Coleus arthropurpureus* L. Benth) mempunyai aktivitas antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum 15%.

6.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan identifikasi menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) agar diperoleh hasil yang lebih bagus dan agar senyawa-senyawanya terpisah sesuai dengan kelarutannya.
2. Ekstrak daun myana perlu dilakukan penelitian terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya selain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan perlu dilakukan dengan menggunakan metode lain seperti fraksinasi dan sokhletasi.
3. Perlu dilakukan penelitian daun myana sebagai antibakteri dengan menggunakan kontrol positif selain Tetrasiklin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis*. Jurnal Nasional, Pontianak: Politeknik Negeri Pontianak: 2010 hlm. 1
- Agoes, Anwar. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., & Mitchell, L.G. (2004). *Biologi. Jilid 3*. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Chaieb. 2010. Saponins as insecticides: a review. *Tunisian Journal of Plant Protection*. Tunisia.
- Dalimartha, S., 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Pustaka Bunda, Grup Puspa Swara, Anggota IKAPI. Jakarta.
- Deby, dkk., 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Coleus arthropurpureus L. Benth) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli Dan Pseudomonas aurogenosa Secara In-Vitro*. Fakultas MIPA. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Departemen Kesehatan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Depkes. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I, 124*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 9-11. 16
- Dowshen, dkk., 2002. *Staphylococcus aureus*. Available at <http://ud.ac.id/primahapsa/files/2012/06/jtptu-imut-gdl-primahapsa-5337-1bab/pdf>. (diunduh pada tanggal 05 Februari 2015)

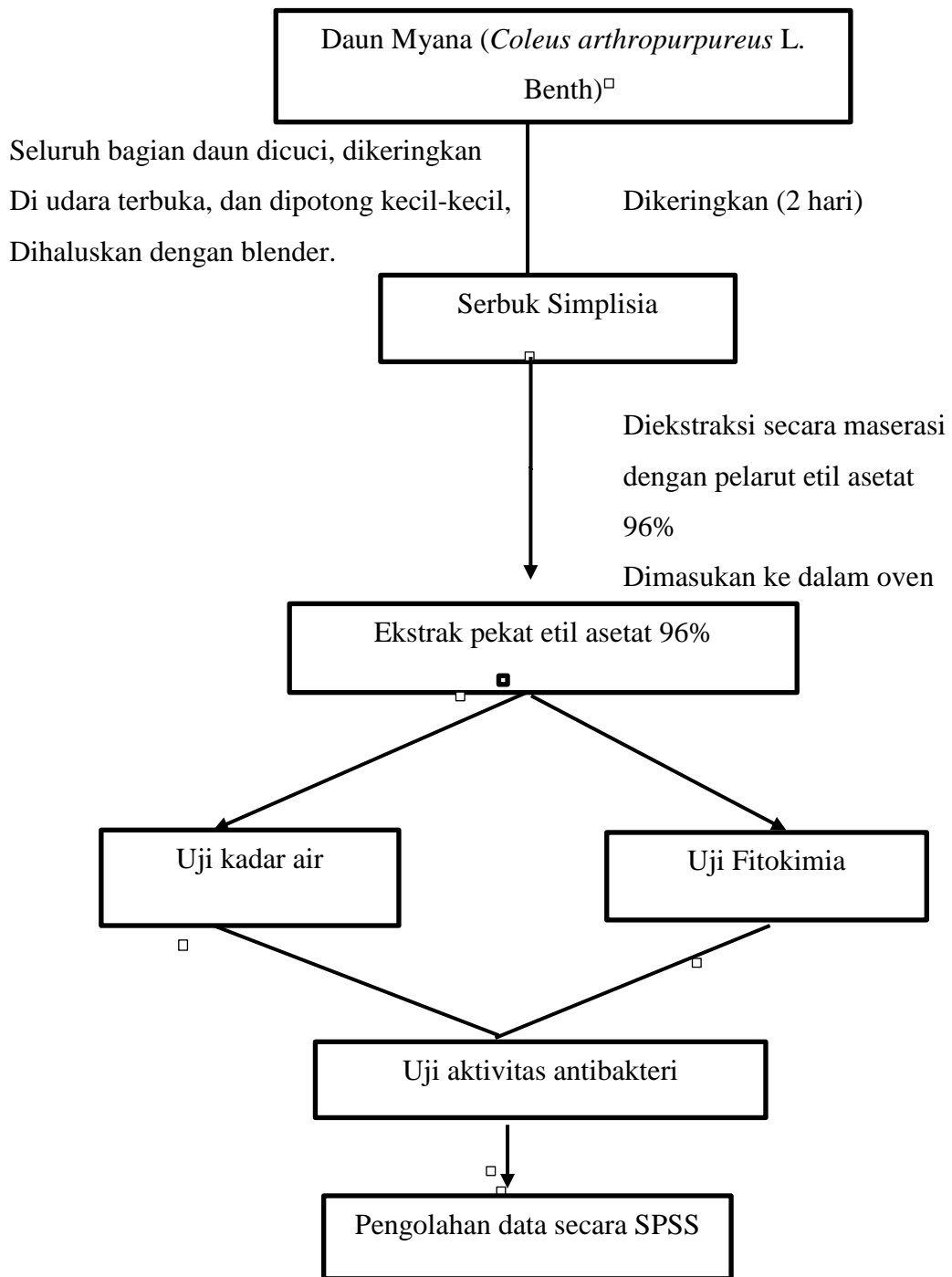
- Ersam, T. 2001. Senyawa Kimia Makromolekul beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan Tropika Sumatra Barat. *Disertasi*. ITB. Bandung.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Geyter, E. D., Lambert E., Geelen, D., dan Smagghe, G. 2007. Noval Advances with Plant Saponins as Natural Insitescides to Control Pest Insects. *Journal of Universty of Belgium. Belgia*.
- Gunawan, D., dan S. Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan kedua*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hidayat, Alimul, A. 2003. *Metode Penelitian Kebidanan dan Tehnik Analisa Data*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, dkk., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed.23*. Translation of Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC.
- Jawetz, dkk., 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Jennings, Spring B. *Metghicillin resistant Staphylococcus aureus (Avaible On line at <http://www.jci.org/cgi/content/full/114/12/1993.htm>)*(diakses Juni 2014).
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Koes Irianto. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*. Jilid 2. Jakarta.
- Lestari, Nani.2014. Makalah Farmakognosi Tanin (http://www.academia.edu/7268353/Makalah_Farmakognosi_-_Tanin), diakses 16 November 2014.
- Lisdawati, Vivi, dkk., 2008. *Karakterisasi Daun Miana (Plectranthus scutellarioides (L.) Benth) Dan Buah Sirih (Piper betle (L.) Secara Fisiko Kimia Dari Ramuan Lokal Antimalaria Daerah Sulawesi Utara*. Media Litbang Kesehatan Vol.XVIII.
- Lowy, F.D., 1998. *Staphylococcus aureus infections*. N Engl J Med 339, 520-532.

- Lowy, F. D., 2014. *Stapylocal Infections In:Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th Edition.* The Mac Grow-Hill Companies, Inc.
- Mardiana, Lina dan Tim Ketik Buku. 2013. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.*diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Muadifah, afidatul. 2013. Efektivitas Antimalaria dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol 80% tanaman Anting-anting Pada Mencit terinfeksi Plasmodium berghei. *Skripsi tidak diberikan.* Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ningsih, A. P., Nurmiati, Agustien A., 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli.* *Jurnal Biologi.* Universitas Andalas. Sumatra Barat.
- Nofiani,R., 2008. Artikel ulas balik: Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia 10(2): 120-125.*
- Nurwidodo. 2006. Pencegahan dan Promosi Kesehatan Secara Tradisonal. *Jurnal Humanity. 1(2): 96-105.*
- Olsen, K., Danielsen, K., Wilsgaard, T., Sangvik, M., Sollid, J.U., Thune, I., Eggen, A.E., Simonsen, G.S., Furberg, A.S., 2013. *Obesity and Staphylococcus aureus Nasal Colonization among Women and Men in a General Population.* PLoS One 8, e63716.
- Setyowati, W.,dkk., 2014. *Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstral Etanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr).* Varietas Petruk. Kimia Organik Bahan Alam. FKIP UNS. Surakarta.
- Simanjutak, K., 2012. *Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan.* Jakarta: Bina Widya, Volume 23 Nomor 3, Edisi April 2012, 135-140.
- Sirait, Median 2007. *Penentuan Fitokimia Dalam Farmasi.* Bandung. ITB.
- Sugiyono. 2008. *Metode Penelitian Kuantitatif Kulitatif Dan R & D.* Bandung: Alfabeta. Hal: 38-39, 80.
- Sunaryono. 2005. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II.* Badan Litbang Kehutanan. Jakarta.

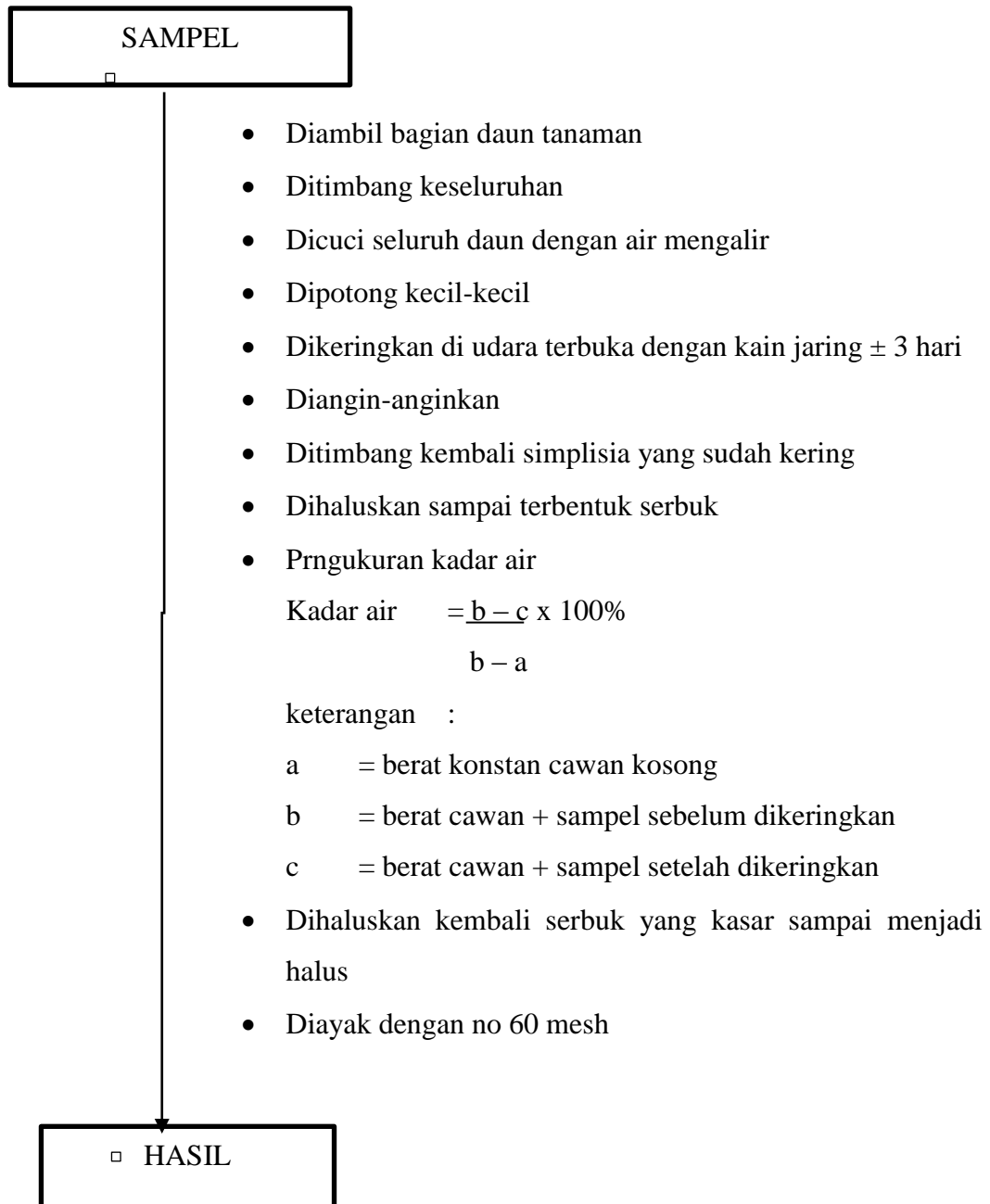
- Tim Penyusun Materia Medika Medika Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Edisi VI*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- von Eiff, C., Becker, K., Machka, K., Stammer, H., Peters, G., 2001. *Nasal carriage as a source of Staphylococcus aureus bacteremia*. Study Group. *N Engl J Med* 344, 11-16.
- Wardhaniah, dkk., 2007. *Media*. UI: Press.
- Wertheim, H.F., Vos, M.C., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J.A., van Keulen, P.H., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Meester, M.H., Verbrugh, H.A., 2004. *Risk and outcome of nosocomial Staphylococcus aureus bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers*. *Lancet* 364, 703-705.
- Wertheim, H.F., Melles, D.C., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A., Nouwen, J.L., 2005a. *The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections*. *Lancet Infect Dis* 5, 751-762.
- Winn Washington, A.S., Janda William, Koneman Elmer, Procop Gary, Schreckenberger Paul, Woods Gail 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia.
- Yusriana, C., Budi, C., dan Dewi, T. 2012. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*. Vol: 5 No.2. Hal: 1-7.

LAMPIRAN

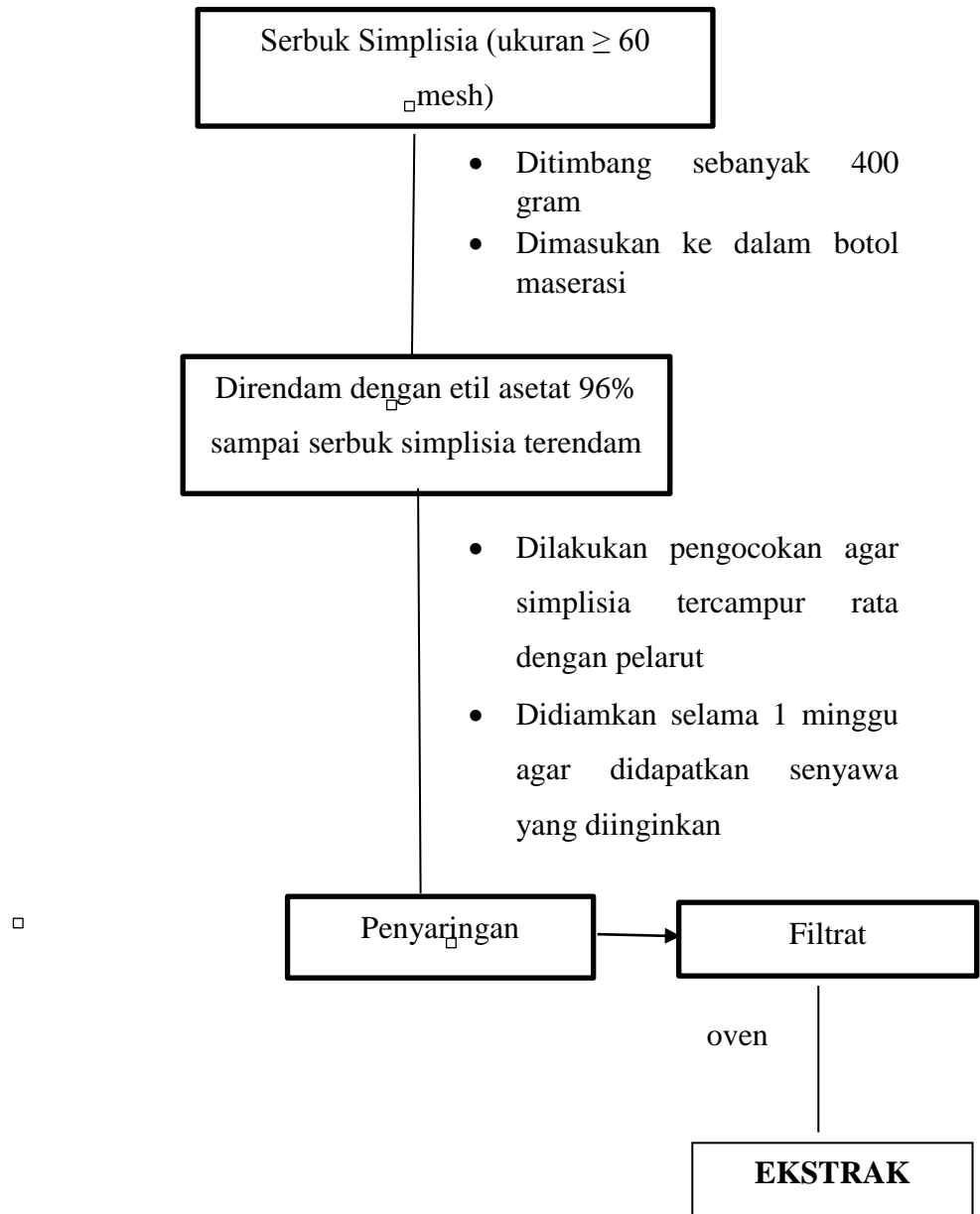
Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian



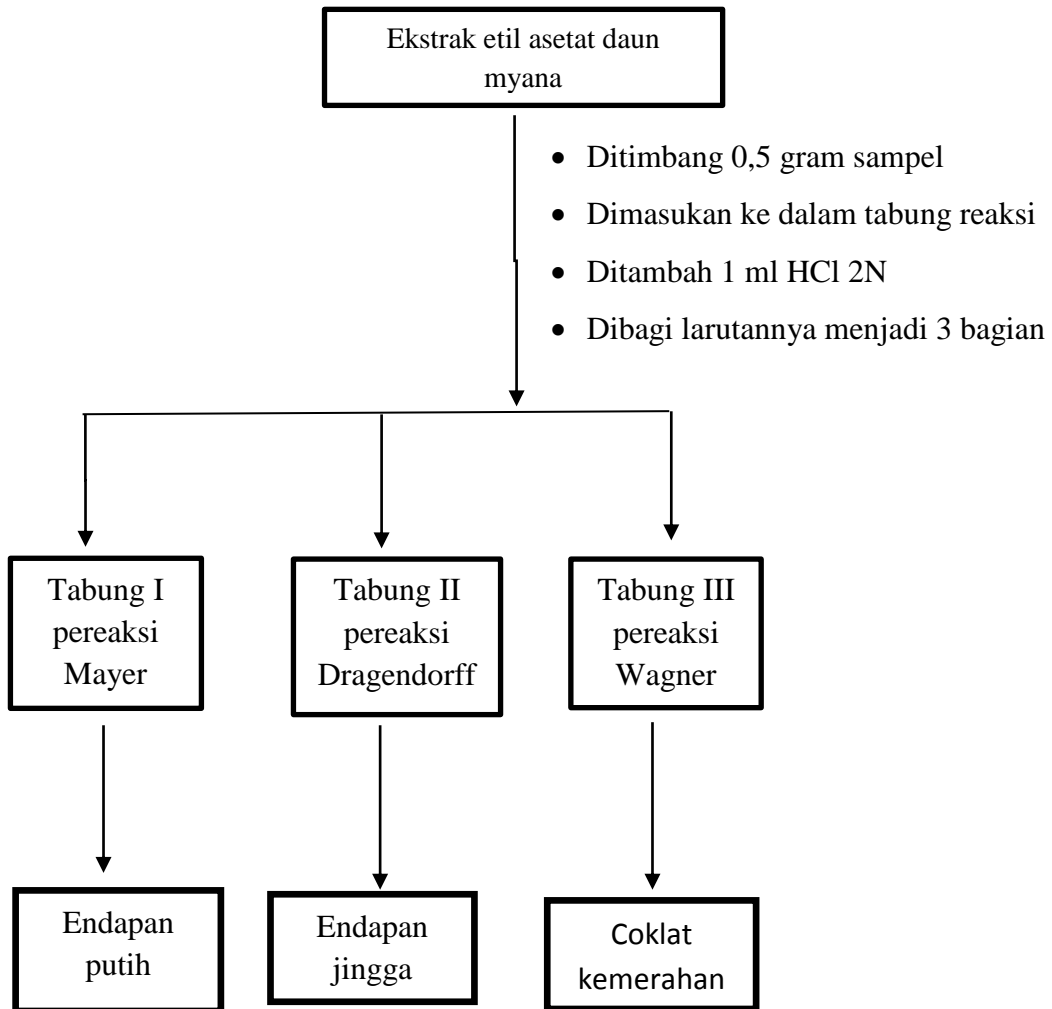
Lampiran 2 Preparasi Sampel



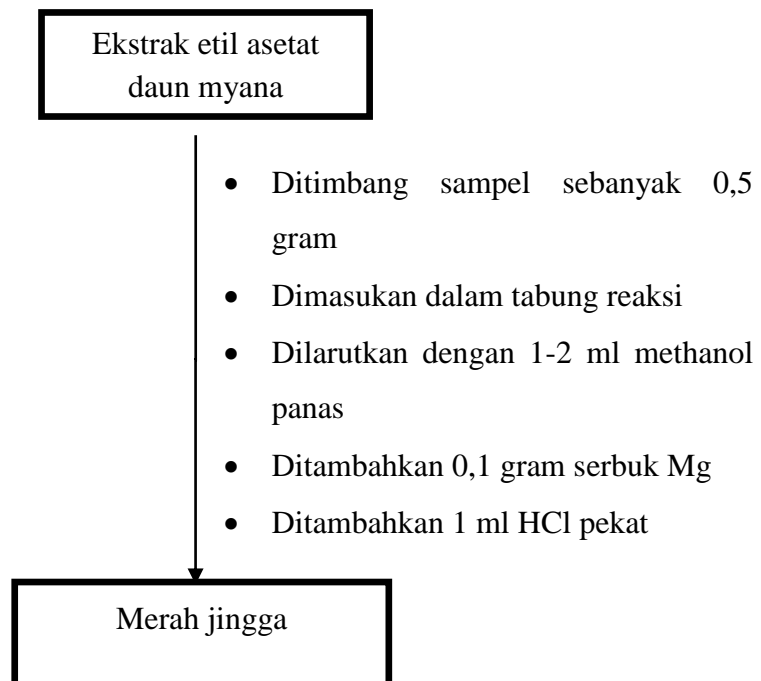
Lampiran 3 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat 96% Daun Myana



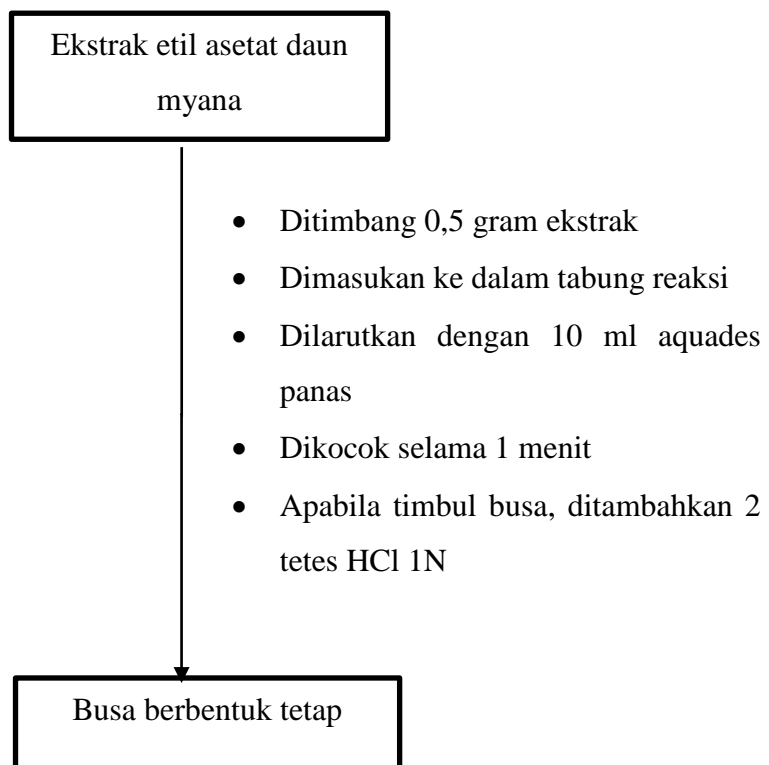
Lampiran 4 Uji Alkaloid



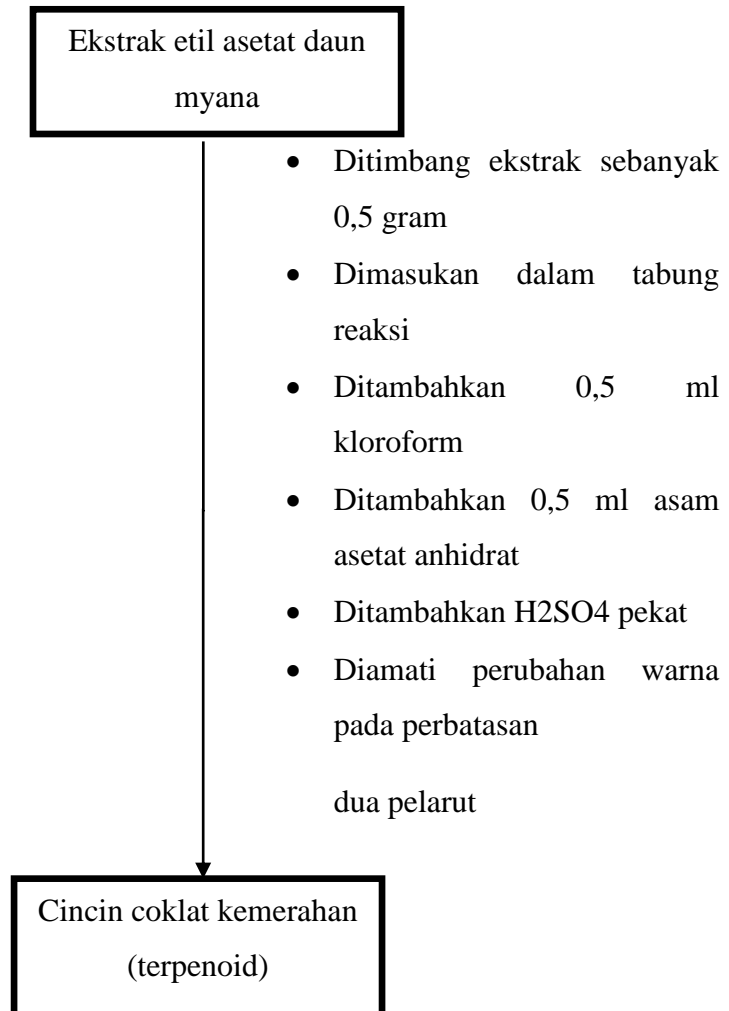
Lampiran 5 Uji Flavonoid



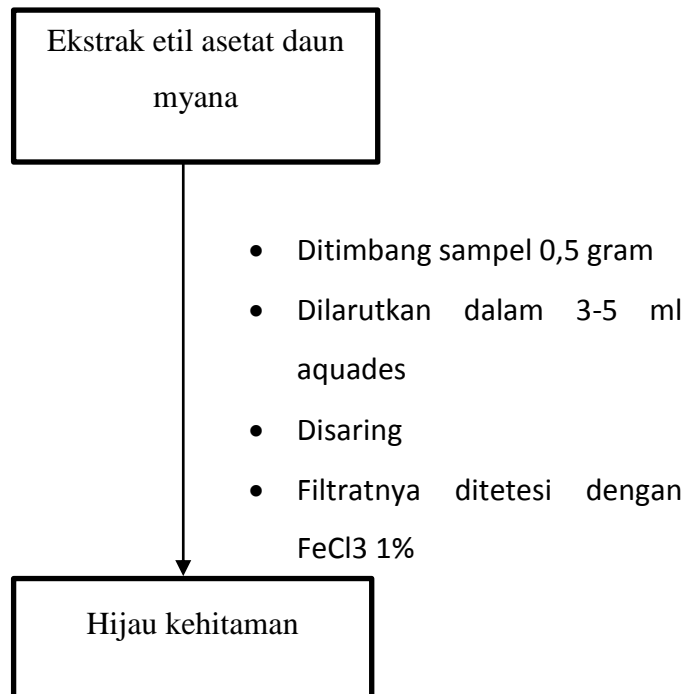
Lampiran 6 Uji Saponin



Lampiran 7 Uji Terpenoid



Lampiran 8 Uji Tanin



Lampiran 9 Pembuatan Reagen

9.1 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I : HgCl_2 1,358 gram dalam aquades 60 ml

Larutan II : KI 5 gram dalam aquades 10 ml

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 sebanyak 1,358 gram. Ditimbang menggunakan neraca analitik kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 60 ml. Dilartukan larutan II dengan menimbang KI sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml. Dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 10 ml. Masing-masing dilakukan pengadukan agar larut sempurna. Selanjutnya larutan I dituang ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan cara pengadukan menggunakan batang pengaduk kaca. Setelah keduanya homogen, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas (Manan, 2006).

9.2 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pada pembuatan reagen Dragendorff dibuat larutan A dan larutan B. Pada larutan A, ditimbang 0,85 gram bismut subnitrat kemudian dilarutkan dalam campuran 40 ml aquades dengan 10 ml HCl dalam beaker glass 100 ml. Sedangkan pada larutan B, ditimbang 8 gram kalium iodida dan dilarutkan dalam 20 ml aquades dalam beaker glass 100 ml. Masing-masing larutan A dan larutan B diambil sebanyak 5 ml selanjutnya dicampur dengan 20 ml HCl dan ditambahkan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 ml (Depkes, 1989).

9.3 Pembuatan Reagen Wagner

Ditimbang I₂ sebanyak 1,27 gram dan KI sebanyak 2 gram. Kemudian dilarutkan dalam 5 ml aquades. Larutan ini kemudian diencerkan dengan aquades hingga tanda batas pada labu ukur 100 ml. Endapan yang terbentuk disaring dan disimpan dalam botol berwarna coklat (Mondong, dkk., 2015).

9.4 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\begin{aligned} \text{BM FeCl}_3 &= 162,2 \text{ g/mol} \\ \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1\% \times 162,2 \text{ g/mol} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ gram} \\ &= 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Ditimbang serbuk FeCl₃ sebanyak 72 mg dengan menggunakan neraca analitik. Dimasukan ke dalam beaker glass 50 ml. dilarutkan dengan sedikit aquades. Diaduk dengan batang pengaduk sampai larut sempurna. Setelah larut dipindahkan dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas.

9.5 Pembuatan Larutan Etil Asetat 20%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 96\% \times V_1 &= 20\% \times 10 \text{ ml} \\ V_1 &= 1,92 \text{ ml} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil etil asetat 96% sebanyak 1,92 ml dengan menggunakan pipet volume 1 ml dengan 2 kali pemipetan. Kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10 ml yang berisikan sekitar 5 ml aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades samapai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

9.6 Pembuatan Larutan HCl 2N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mol} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\%$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

Molaritas HCl (M) :

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl} &= \text{BJ HCl pekat} \times \% \\ &= 1190 \text{ g/L} \times 0,37 \\ &= 440,3 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{Mol HCl} = \text{Massa HCl} = 440,3 \text{ gram} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{BM HCl} = 34,62 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= 1 \times 12,09 \text{ M} \\ &= 12,09 \text{ N} \end{aligned}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N}_1 \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ ML}$$

$$V_1 = 16,54 \text{ ml}$$

Diambil HCl pekat 37% sebanyak 16,54 ml dengan menggunakan pipet ukur 10 ml. Kemudian langsung dimasukan ke dalam labu ukur 100 ml yang sudah berisikan 15 ml aquades. Selanjutnya ditambah aquades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

Lampiran 10 Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Myana

a. Data hasil berat konstan cawan kosong

Sampel	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
A1	84,19	84,14	84,12	84,12	84,12
A2	84,13	84,11	84,08	84,08	84,08
A3	84,17	84,15	84,13	84,13	84,13

b. Data hasil berat cawan kosong + sampel (gram)

Sampel	Sampel Basah	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Replikasi IV	Replikasi V
A1	89,08	88,20	88,17	88,16	88,16	88,16
A2	89,06	88,18	88,16	88,14	88,14	88,14
A3	89,10	88,22	88,20	88,18	88,18	88,18

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan : a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

% kadar air = kadar air – faktor koreksi

$$\begin{aligned} 1. \quad \text{Kadar air A1} &= \frac{89,08 \text{ g} - 88,16 \text{ g}}{89,08 \text{ g} - 84,12 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 \text{ g}}{4,96 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 18,55\% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 18,55} = \frac{100}{81,55} = 1,226$$

$$\% \text{ kadar air terkolerasi} = 18,55\% - 1,226\% = 17,32\%$$

$$\begin{aligned} 2. \quad \text{Kadar air A2} &= \frac{89,06 \text{ g} - 88,14 \text{ g}}{89,06 \text{ g} - 84,08 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 \text{ g}}{4,98 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 18,47\% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 18,47} = 1,226$$

$$\% \text{ kadar air terkolerasi} = 18,47\% - 1,226\% = 17,24\%$$

$$\begin{aligned} 3. \quad \text{Kadar air A3} &= \frac{89,10 \text{ g} - 88,18 \text{ g}}{89,10 \text{ g} - 84,13 \text{ g}} \times 100\% \\ &= \frac{0,92 \text{ g}}{4,97 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 18,51\% \end{aligned}$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - 18,51} = \frac{100}{81,49} = 1,23$$

$$\% \text{ kadar air terkolerasi} = 18,51\% - 1,23\% = 17,28\%$$

Kadar air terkorelasi rata-rata pada sampel daun myana

$$\frac{17,32\% + 17,24\% + 17,28\%}{3} = 17,28\%$$

3

Lampiran 11 Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil Asetat Daun Myana

Komponen	Banyaknya
Berat bash daun myana	10 kg
Berat kering	900 g
Berat serbuk kasar	850 g
Berat serbuk halus	713,235 g
Berat serbuk untuk maserasi	400 g
Jumlah etil asetat 96%	1600 ml = 1,6 L
Hasil ekstrak cair	850 ml
Berat cawan kosong	81,17 g
Berat cawan + ekstrak	90.84 g
Berat ekstrak	9,67g

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak} \times 100\%}{\text{berat sampel}} \\ &= \frac{9,67 \text{ gram} \times 100\%}{400 \text{ gram}} \\ &= 2,15\%\end{aligned}$$

Lampiran 12 Pembuatan Media Agar

12.1 Pembuatan Media Agar Untuk Peremajaan Bakteri

Perhitungan : BM Nutrient Agar = 20

$$\begin{aligned}\text{Nutrient Agar yang diperlukan} &= \frac{\text{BM} \times 10 \text{ ml}}{1\text{L}} \\ &= \frac{20}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ gram}\end{aligned}$$

Ditimbang Nutrient Agar sebanyak 0,2 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml. Dipanaskan di atas nyala api bunsen. Tujuan dari pemanasan supaya Nutrient Agar dapat larut dengan sempurna. Media agar diperiksa dengan menggunakan pH universal dengan

tujuan untuk mengetahui Ph pada media dan didapatkan hasil Ph 7. Ini berarti sangat cocok sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme. Selanjutnya dalam oven dengan suhu 121°C selama 20 menit. Tujuannya adalah agar Nutrient agar terbebas dari mikroorganisme patogen (steril). Media agar kemudian dituang pada tabung reaksi dengan cara dimiringkan dan ditunggu sampai memadat. Kemudian diambil mikroorganisme dengan menggunakan ose bulat secara digoreskan pada atas media. Tujuan dari peremajaan bakteri itu sendiri untuk merawat agar bakteri tetap baik.

12.2 Pembuatan Media Untuk Isolasi Bakteri

Dibutuhkan 4 plate dalam mengisolasi bakteri dan masing-masing plate membutuhkan media sebanyak 10 ml dengan perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{BM Nutrient Agar} &= 20 \\ \text{Aquadres (4 plate)} &= 10 \times 4 = 40 \text{ ml} \\ \text{Perhitungan} &= \frac{20}{1000 \text{ ml}} \times 40 \text{ ml} \\ &= 0,8 \text{ gram} = 800 \text{ mg} \end{aligned}$$

Diambil Nutreint Agar sebanyak 800 mg dengan menggunakan neraca analitik. Sebelumnya semua alat dilakukan sterilisasi agar semua alat yang digunakan terbebas dari mikroorganisme. Media dimasukan ke dalam erlenmeyer dan ditambah 40 ml aquades, selanjutnya dipanaskan di atas api bunsen agar media terlarut sempurna. Sepertiga media digunakan sebagai uji dan seperempatnya digunakan sebagai kontrol. Media yang sudah larut distrerilisasi di dalam oven dengan suhu 121°C selama 20 menit. Kemudian diangkat dan didiamkan hingga dingin. Selanjutnya dituang pada plate dengan bagian sama rata.

Lampiran 13 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat Daun Myana

No.	Perlakuan	Diameter Zona Hambat			
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	Rata-rata
1	Ekstrak 15%	11,50 mm	13,00 mm	14,00 mm	12,80 mm
2	Ekstrak 25%	18,00 mm	18,00 mm	15,00 mm	17,00 mm
3	Ekstrak 35%	36,00 mm	40,00 mm	43,00 mm	39,60 mm
4	Kontrol(+) Tetrasiklin	60,00 mm	63,00 mm	63,50 mm	62,17 mm
5	Kontrol (-) etil asetat	00,00 mm	00,00 mm	00,00 mm	00,00 mm

Lampiran 14 Dokumentasi Penelitian

14.1 Preparasi Sampel



Tumbuhan Myana



Proses pengeringan



Simplisia kasar



Penghalusan



serbuk halus



Botol maserasi



pelarut etil asetat 96%



pemasukan bahan

14.2 Proses Pembuatan Ekstrak



Proses penyaringan



Ekstrak yang sudah kering



Ekstrak yang diamati

14.3 Skrining Fitokimia



Uji alkaloid (Pereaksi Dragendorff)



Uji alkaloid (Pereaksi Mayer)

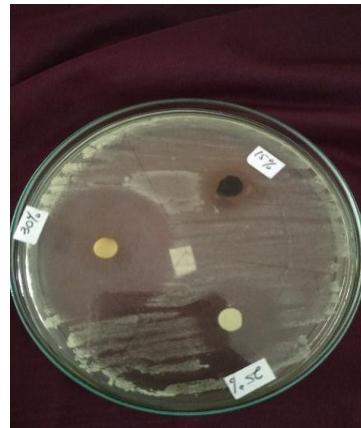


Uji alkaloid (Pereaksi Wagner)



Uji Tanin

14.4 Penanaman Bakteri dan Pengukuran Zona Hambat



Lampiran 15 Surat Keterangan Bakteri

SURAT PERNYATAAN

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : ANGGIATI AMBARSARI
ALAMAT : KANIGORO, BLITAR
INSTITUSI : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA MENGETRI DAN MEMAHAMI AKIBAT DARI ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)}

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Eschericia coli*
3. *Clostridium perfringens*
4.
5.

TERHADAP SAYA, ORANG DISEKITAR SAYA DAN LINGKUNGAN SAYA. SAYA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN PENELITIAN
DENGAN INI SAYA MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR^{*)} TERSEBUT DENGAN SANGAT MEMPERHATIKAN BIOSAFETY DAN BIOSECURITY SELAMA ISOLAT BAKTERI TERSEBUT ADA PADA SAYA.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN


(ANGGIATI AMBARSARI)


Dr. Anita Sari, S Farm, Apt

Ket :

*) Coret yang tidak perlu

Surat pernyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

Lampiran 16 Analisis Data

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
konsentrasi	15	3.00	1.464	1	5

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	3.00
	Std. Deviation	1.464
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.592
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875

a. Test distribution is Normal.

Descriptives

diameter hambatan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
15%	3	12.8333	1.25831	.72648	9.7075	15.9591	11.50	14.00
25%	3	17.0000	1.73205	1.00000	12.6973	21.3027	15.00	18.00
35%	3	39.6667	3.51188	2.02759	30.9427	48.3907	36.00	43.00
kontrol +	3	62.1667	1.89297	1.09291	57.4643	66.8691	60.00	63.50
kontrol -	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	15	26.3333	22.85800	5.90191	13.6750	38.9917	.00	63.50

Test of Homogeneity of Variances

diameter hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.602	4	10	.100

ANOVA

diameter hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7273.833	4	1818.458	443.526	.000
Within Groups	41.000	10	4.100		
Total	7314.833	14			

Post Hoc

Multiple Comparisons

diameter hambat
LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
15%	25%	-4.16667 [*]	1.65328	.030	-7.8504	-.4829
	35%	-26.83333 [*]	1.65328	.000	-30.5171	-23.1496
	kontrol +	-49.33333 [*]	1.65328	.000	-53.0171	-45.6496
	kontrol -	12.83333 [*]	1.65328	.000	9.1496	16.5171
25%	15%	4.16667 [*]	1.65328	.030	.4829	7.8504
	35%	-22.66667 [*]	1.65328	.000	-26.3504	-18.9829
	kontrol +	-45.16667 [*]	1.65328	.000	-48.8504	-41.4829
	kontrol -	17.00000 [*]	1.65328	.000	13.3163	20.6837
35%	15%	26.83333 [*]	1.65328	.000	23.1496	30.5171
	25%	22.66667 [*]	1.65328	.000	18.9829	26.3504
	kontrol +	-22.50000 [*]	1.65328	.000	-26.1837	-18.8163
	kontrol -	39.66667 [*]	1.65328	.000	35.9829	43.3504
kontrol +	15%	49.33333 [*]	1.65328	.000	45.6496	53.0171
	25%	45.16667 [*]	1.65328	.000	41.4829	48.8504
	35%	22.50000 [*]	1.65328	.000	18.8163	26.1837
	kontrol -	62.16667 [*]	1.65328	.000	58.4829	65.8504
kontrol -	15%	-12.83333 [*]	1.65328	.000	-16.5171	-9.1496
	25%	-17.00000 [*]	1.65328	.000	-20.6837	-13.3163
	35%	-39.66667 [*]	1.65328	.000	-43.3504	-35.9829
	kontrol +	-62.16667 [*]	1.65328	.000	-65.8504	-58.4829

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



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

Nomor : 074/ 382/ 102.7/ 2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Iler**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : AYU KUMALASARI
NIM : 1413206008
Instansi : STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman iler
 - Divisi : Spermatophyta
 - Sub divisi : Angiospermae
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Solanales
 - Suku : Labiales
 - Marga : Coleus
 - Jenis : *Coleus scutellarioides* Linn. Benth.
 - Sinonim : *Coleus atropurpureus* Benth. = *C. blumei* Benth. = *C. ingratus* Benth. = *C. laciniatus* Benth. = *C. hybridus* Hort. = *Plectranthus scutellarioides* (Linn.) Benth.
 - Nama Daerah : Iler, miana (Indonesia); kentangan (Jawa); jawer kotok (Sunda); si gresing (Batak); adang-adang (Palembang); mayam (Menado); ati-ati, panci-panci (Bugis).
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-7a-7.
2. Morfologi : Batang: Herba tegak dan merayap dengan tinggi batang berkisar 30 cm sampai 150 cm, mempunyai penampang batang berbentuk segi empat dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun: Berbentuk hati dan pada setiap tepiannya dihiasi oleh jorong-jorong atau lekuk-lekuk tipis yang bersambungan dan didukung oleh tangkai daun dan memiliki warna yang beraneka ragam. Bunga: Berbentuk untai bunga bersusun, bunganya muncul pada pucuk tangkai batang.
3. Nama Simplicia : Colei scutellaroidi Folium/ Daun Iler, Daun Miana.
4. Kandungan kimia : Alkaloid, etil salisilat, metil eugenol, timol, karvakrol, mineral. Daun, batang dan akar mengandung saponin. Daun dan batangnya juga mengandung polifenol. Batang dan akarnya mengandung flavonoida, serta daunnya mengandung minyak atsiri.
5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
6. Daftar Pustaka
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia II*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 26 Oktober 2017
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. dr. H. R. M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.19611102 199103 1 003