

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI

(*Samanea saman (jacq.) Merr*) TERHADAP

BAKTERI *Staphylococcus aureus*



Oleh:

TRIONO ABDUL MALIK

1513206020

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2019

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI (*Samanea saman (jacq.) Merr*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

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



Oleh :

TRIONO ABDUL MALIK

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
2019**

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI
(*Samanea saman (jacq.) Merr*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Yang diajukan oleh :

TRIONO ABDUL MALIK

1513206020

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Choirul Huda, M.Farm., Apt

NIDN. 072 603 8502

Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt

NIP. 17.92.01.09

Ketua Program Studi

S1 Farmasi

Dara Pranidya Tilarso, S.Farm., Apt

NP. 18.89.01.15

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI
(*Samanea saman (jacq.) Merr*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Oleh :

Triono Abdul Malik

1513206020

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

Tanggal :

Ketua Penguji : Choirul Huda M. Farm., Apt. (.....)

Anggota Penguji : 1. Amalia Eka Putri, M. Farm., Apt (.....)

: 2. Dara Paranida, S.Farm., Apt (.....)

: 3. Yunita Diyah S., M.Si. (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

PERNYATAAN

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

Tulungagung, September 2019

Penulis,

Triono Abdul Malik

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI (*Samanea saman* (jacq. Merr) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*”.**

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Ibu dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua Stikes karya putra bangsa.
2. Ibu Dara Paranidya, S.Farm., Apt selaku ketua program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Bapak Choirul Huda M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian skripsi.
4. Ibu Amalia Eka Putri S.Farm., Apt selaku dosen pembimbing kedua yang selalu memberikan bimbingan dalam penyelesaian skripsi.
5. Kedua orang tua saya yaitu : Bapak Sudjiono dan Ibu Yami, yang selalu memberikan doa dan semangat serta segenap keluarga saya.
6. Tim Geng Botol (Ajie, Dian, Galih) yang menemani dan menyemangati dari awal hingga akhir.
7. Teman-teman angkatan 2015 farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang selalu memberikan semangat.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penyusunan skripsi. Kritik dan saran yang membangun penulis harapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya untuk ilmu Farmasi.

Tulungagung, September 2019

Penulis

(Triono Abdul Malik)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINAL	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Trembesi	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Morfologi.....	5
2.1.3 Kandungan Kimia.....	6
2.1.4 Efek Farmakologi	8
2.2 Simplisia	9
2.2.1 Pengertian Simplisia	9
2.2.2 Syarat-syarat Simplisia.....	10
2.2.3 Persiapan Simplisia	10
2.2.4 Penghalusan Simplisia.....	11

2.3 Ekstraksi	11
2.3.1 Maserasi	11
2.3.2 Fraksinasi	12
2.3.3 Pelarut.....	12
2.4 Bakteri <i>S. Aureus</i>	14
2.4.1 Definisi Bakteri	14
2.4.2 Penggolongan Bakteri	15
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.5.1 Klasifikasi.....	15
2.5.2 Morfologi	16
2.6 Antibakteri	17
2.6.1 Pengertian Antibakteri.....	17
2.6.2 Mekanisme kerja	17
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	18
2.7.1 Metode Difusi.....	18
2.7.2 Metode Dilusi.....	20
2.8 Obat Golongan Antibakteri	20
2.8.1 Kloramfenikol.....	20
BAB III METODE PENELITIAN	22
3.1 Bahan	22
3.2 Alat	22
3.3. Populasi Penelitian.....	22
3.4 Sampel Penelitian	22
3.5 Variabel Penelitian.....	22
3.5.1 Variabel Bebas	23
3.5.2 Variabel Kontrol.....	23
3.5.3 Variabel Terikat.....	23
3.6 Metode Penelitian	23
3.6.1 Determinasi Tanaman	23

3.6.2 Pembuatan Simplisia	23
2.6.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia	24
3.6.4 Ekstraksi daun trembesi dengan etanol secara maserasi	24
3.6.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak	25
3.6.6 Skrining Fitokimia.....	25
3.6.6.1. Flavonoid	25
3.6.6.2. Saponin	25
3.6.6.3. Tanin	25
3.6.7 Fraksinasi	25
3.6.8 Sterilisasi Alat dan Bahan	26
3.6.9 Pembuatan Media.....	26
3.6.9.1 Pembuatan Media NB.....	26
3.6.9.2 Pembuatan Media MSA	26
3.6.9.3 Pembuatan Media NA	26
3.6.10 Uji Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.6.11 Pembuatan Larutan Uji.....	27
3.6.12 Pembuatan Suspensi Bakteri	27
3.6.13 Uji Aktivitas Antibakteri	27
3.6.14 Pembuatan Larutan Uji DMSO 2%	28
3.6.15 Pengukuran Zona Hambat	28
3.7 Jalan Penelitian	28
3.8. Analisis Statistika	29
3.8.1. Uji Normalitas Data	29
3.8.2. Uji Homogenitas	29
3.8.3. Uji <i>One Way Anova</i>	30
3.8.4. Uji Korelasi	30
3.9. Kerangka Penelitian.....	31
3.10. Diagram skematik yang menunjukkan kinerja pengujian sensitivitas antibiotik (metode difusi disk cakram)	32

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1. Determinasi.....	33
4.2. Uji Kadar Air	33
4.3. Ekstrak Daun Trembesi	34
4.4. Uji Bebas Etanol	36
4.5. Skrining Fitokimia	36
4.5.1. Uji Flavonoid.....	37
4.5.2. Uji Tanin	37
4.5.3. Uji Saponin.....	38
4.6. Fraksinasi Daun Trembesi	39
4.7. Uji Bakteri <i>S. aureus</i>	39
4.7.1. Pewarnaan Gram	40
4.7.2. Uji Koagulase	41
4.7.3. Uji Katalase	41
4.7.4. Identifikasi Media MSA.....	42
4.8. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Trembesi (<i>Samanea saman</i>) Terhadap <i>S. aureus</i>	43
BAB V PENUTUP.....	50
5.1. Kesimpulan	50
5.2. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
II.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	19
IV.1 Uji Kadar Air Simplisia Daun Trembesi (<i>Samanea saman</i>).....	33
IV.2 Hasil Uji Susut Pengeringan Daun Trembesi.....	34
IV.3 Hasil Rendemen Ekstrak.....	35
IV.4 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Trembesi.....	36
IV.5 Hasil Skrining Fitokimia Daun Trembesi.....	37
IV.6 Hasil Fraksinasi.....	39
IV.7 Uji Identifikasi Bakteri <i>S. aureus</i>	40
IV.8 Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Kosentrasi 1%, 3%, dan 5%. DMSO 2% terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
3.1. Bagan Kerangka Penelitian.....	31
3.2. Bagan diagram skematik yang menunjukkan kinerja pengujian sensitivitas antibiotik (metode difusidisk cakram).....	32
4.1. Hasil Pengamatan Skrining Fitokimia.....	37
4.2. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>S. aureus</i>	40
4.3. Uji Koagulase.....	41
4.4. Uji Katalase.....	42
4.5. Identifikasi Media MSA dengan Bakteri <i>S. aureus</i>	42
4.6. Grafik batang hasil fraksi <i>aquadest</i> dengan kosentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	43
4.7. Grafik batang hasil rata-rata + Standar Deviasi fraksi <i>aquadest</i>	44
4.8. Grafik batang hasil fraksi n-heksan dengan kosentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	44
4.9. Grafik batang hasil rata-rata + Standar Deviasi fraksi n-heksan.....	45
4.10. Grafik batang hasil fraksi kontrol positif Kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 2% terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	45
4.11. Grafik hasil SPSS fraksi <i>aquadest</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	46
4.12. Grafik hasil SPSS fraksi n-heksan terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Hasil Determinasi Daun Trembesi (<i>Samanea saman</i>).....	58
2. Perhitungan Uji Kadar Air.....	59
3. Perhitungan Uji Susut Pengerinan.....	59
4. Perhitungan Rendemen.....	60
5. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri.....	62
6. Perhitungan Larutan Uji Fraksinasi dari Ekstrak Daun Trembesi (<i>Samanea saman</i>)	62
7. Data Hasil Orientasi.....	63
8. Dokumentasi Penelitian	64
9. Alur Prosedur Kerja.....	70
10. Hasil Analisis Data.....	80

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN TREMBESI

(*Samanea saman* (jacq.) Merr) TERHADAP

BAKTERI *Staphylococcus aureus*

TRIONO ABDUL MALIK

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Di Indonesia banyak tanaman yang berpotensi digunakan sebagai bahan obat tradisional, salah satunya yaitu tanaman trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr). Daun dari tanaman trembesi memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri penyebab infeksi kulit, mikosa hidung, dan usus besar pada manusia. Salah satu pilihan untuk menanggulangi suatu infeksi adalah dengan menggunakan antibiotik, oleh karena *Staphylococcus aureus* mudah resisten terhadap antibiotik dan banyaknya dampak negatif dari penggunaan antibiotik jangka panjang, maka diperlukan pengembangan agen antibakteri yaitu dengan memanfaatkan bahan aktif antimikroba dari tanaman obat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi ekstrak etanol 70% dari daun trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel daun trembesi diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%, dilanjutkan uji fraksinasi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Kontrol positif yang digunakan adalah krim kloramfenikol dan kontrol negatif adalah DMSO 2%. Analisa statistik dilakukan dengan *kolmogorov-smirnov*, *levne statistic*, *one way anova* dan *spearman*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan fraksi ekstrak daun trembesi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Fraksi ekstrak daun trembesi dengan konsentrasi *aquadest* 1%; 3%; dan 5% secara berurutan memiliki rata-rata zona hambat sebesar 7,2 mm; 10,3 mm; dan 17,2 mm. Fraksi ekstrak daun trembesi memiliki daya hambat lebih kecil dibanding dengan krim kloramfenikol yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar 31,3 mm. Hasil analisis *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Fraksi ekstrak daun trembesi terhadap antibakteri *Staphylococcus aureus* memenuhi syarat pada konsentrasi 1%, 3%, dan 5% dengan kontrol positif Kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 2%.

Kata kunci : Antibakteri, *Samanea saman* (jacq.) Merr, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAC

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF TREMBESI LEAF FRACTION
(*Samanea saman (jacq.) Merr*) AGAINST BACTERIA
*Staphylococcus aureus***

In Indonesia, many plants have the potential to be used as traditional medicinal ingredients, one of which is the tamarind plant (*Samanea saman (jacq.) Merr*). The leaves of the tamarind plant have the potential as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* which is a bacterium that causes skin infections, nasal mycoses, and large intestine in humans. One option for overcoming an infection is to use antibiotics, because *Staphylococcus aureus* is easily resistant to antibiotics and the many negative effects of long-term antibiotic use, it is necessary to develop an antibacterial agent that is by utilizing antimicrobial active ingredients from medicinal plants. The purpose of this study was to determine the activity of 70% ethanol extract fraction from tamarind leaves (*Samanea saman (jacq.) Merr*) as an antibacterial *Staphylococcus aureus* using the disc diffusion method.

The research method used is experimental. Trembesi leaf samples were extracted using maceration method with 70% ethanol, followed by aquadest, n-hexane, and ethyl acetate fractionation tests with concentrations of 1%, 3%, and 5%. The positive control used was chloramphenicol cream and the negative control was DMSO 2%. Statistical analysis was carried out with Kolmogorov-Smirnov, Levene Statistics, One Way Anova and Spearman.

The results of antibacterial activity testing showed that the extract of the tamarind leaf extract had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. Trembesi leaf extract fraction with aquadest concentration of 1%; 3%; and 5%, respectively, have an average inhibition zone of 7.2 mm; 10.3 mm; and 17.2 mm. Trembesi leaf extract fraction has a smaller inhibitory power than chloramphenicol cream which has an average inhibition zone of 31.3 mm. *One Way Anova* analysis results showed a significant difference between treatment groups ($p < 0.05$). The fraction of tamarind leaf extract against antibacterial *Staphylococcus aureus* fulfilled the requirements at concentrations of 1%, 3%, and 5% with positive control of chloramphenicol and negative control of 2% DMSO.

Keywords: Antibacterial, *Samanea saman (jacq.) Merr*, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tumbuhan asli Indonesia yang terdiri dari akar, batang, daun dan biji biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional (Asih, 2009). Berdasarkan data WHO, sekitar 20.000 spesies tumbuhan yang dipergunakan sebagai obat (Kusmana dan Hikmat, 2015). Faktor yang mendorong masyarakat menggunakan obat tradisional adalah mahalnya harga obat sintesis dan banyaknya efek samping, sehingga obat tradisional dijadikan sebagai alternatif pengobatan yang lebih aman serta memiliki efek samping yang relatif lebih rendah dari pada obat sintesis (Sari, 2006).

Obat tradisional dapat digunakan untuk menjaga kesegaran dan kondisi tubuh secara fisik dan mental serta menyembuhkan penyakit tertentu (Asih, 2009). Menurut Nugroho (2012), obat tradisional digunakan untuk mencegah sakit, pemeliharaan maupun menyembuhkan. Tanaman obat dipercaya masyarakat mempunyai khasiat dan telah digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun trembesi (Staples dkk., 2006). Daun trembesi mengandung senyawa alkaloid, steroid, fenol, flavonoid, dan saponin yang mempunyai aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Rita dkk., 2016).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki habitat alami pada manusia yaitu pada kulit, mukosa hidung, mulut, dan usus besar. Menurut Jawetz (2007) jika sistem imun manusia dalam keadaan lemah maka bakteri ini dapat bersifat patogen yang dapat menyebabkan penanahan, abses, dan berbagai infeksi piogen, oleh karena *Staphylococcus aureus* mudah resisten terhadap antibiotik dan banyaknya dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan antibiotik jangka panjang, maka diperlukan alternatif yang lebih aman dalam mengatasi masalah infeksi *Staphylococcus aureus* yaitu dengan

memanfaatkan bahan aktif antimikroba dari tanaman obat (Khilyasari, 2017). Sampai saat ini, dipasaran tersedia krim dan salep kloramfenikol untuk pengobatan infeksi bakteri pada kulit. Kloramfenikol adalah antibiotika yang bekerja dengan spectrum luas, efektif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Jawetz dkk., 2007).

Berdasarkan penelitian Sinasih, Ni Ketut, dkk (2016) menunjukkan bahwa ekstrak air memberikan efek penghambatan yang lebih baik, yaitu sebesar 11 mm pada konsentrasi 4%. Setelah dilakukan ekstraksi maka diperlukan pemisahan senyawa polar, semi polar dan non polar pada daun trembesi menggunakan metode fraksinasi karena fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan yang terkandung pada suatu larutan yang memiliki karakteristik yang berbeda. Pelarut polar mengandung senyawa flavonoid dan tanin, pelarut semi polar mengandung senyawa golongan alkaloid, pelarut non polar mengandung senyawa golongan triteroenoid/ steroid. Fraksinasi yang digunakan yaitu metode partisi cair-cair dengan tujuan memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya serta untuk memanfaatkan sifat yang terkandung dalam fraksi, sehingga dapat diperluas dan senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut polar dan pelarut non polar akan tertarik ke pelarut non polar. Hasil fraksi yang didapatkan, kemudian akan diujikan pada bakteri *S. aureus* (Yuliasih, 2007).

Pengujian antibakteri menggunakan metode difusi. Metode yang sering digunakan dalam penelitian adalah metode difusi cakram atau disk karena metode difusi cakram atau disk merupakan metode yang mudah dan sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri (Prayoga, 2013). Kelebihan dari metode difusi cakram atau disk yaitu dapat dilakukan pengujian secara lebih banyak dalam satu kali kegiatan dan tidak terlalu memerlukan tenaga yang banyak (Listari, 2009). Uji difusi berfungsi untuk mengetahui konsentrasi optimum yang dapat membunuh bakteri *S. aureus* melalui variasi konsentrasi. Berdasarkan penelitian Sinarsih, Ni Ketut, dkk (2016) menggunakan konsentrasi 0,3; 2,3; 4,3; 6,3; 8,3; 10,3; 12,3; 14,3.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun trembesi (*Samanea saman (jacq.)*)

Merr) terhadap bakteri *S. aureus*, tujuan penelitian untuk mengatasi infeksi akibat bakteri *S. aureus* secara *In Vitro* dengan menggunakan metode difusi kertas cakram.

1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*?
- 1.2.2. Berapa konsentrasi maksimum fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*?
- 1.2.3. Pada fraksi manakah yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *S. aureus*?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Mengetahui aktivitas fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*.
- 1.3.2. Mengetahui konsentrasi maksimum fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*.
- 1.3.3. Mengetahui fraksi yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *S. aureus*.

1.4. Hipotesis

- 1.4.1. Fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*.
- 1.4.2. Konsentrasi maksimum fraksi *aquadest*, n-heksan, dan etil asetat pada daun trembesi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* terdapat pada fraksi polar (*Aquadest*) dengan seri konsentrasi 5%.
- 1.4.3. Fraksi yang memiliki zona hambat paling luas sebagai antibakteri *S. aureus* adalah fraksi polar.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa daun trembesi dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri.

1.5.2. Bagi Instansi Kesehatan

Dapat menjadi bahan referensi untuk mengembangkan obat yang berasal dari bahan alam. Menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

1.5.3. Bagi Instansi Pendidikan

Dapat menjadi bahan informasi dan pengembangan untuk penelitian berikutnya.

1.5.4. Bagi Peneliti

Untuk memenuhi tugas akhir sebagai persyaratan untuk kelulusan S1 Farmasi dan dapat untuk menambah pengetahuan serta pengalaman.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Trembesi

Trembesi yang kita kenal saat ini memang bukan spesies asli Indonesia. Tetapi tumbuhan berkayu yang kekar, kokoh, serta rindang dengan bentuk kaponi yang memayung ini tidak asing lagi untuk masyarakat Indonesia di desa maupun di kota sebagai peneduh jalan. Trembesi merupakan jenis tanaman cepat tumbuh (*fast growing species*) yang tumbuh sangat baik pada tanah dengan drainase yang baik. Trembesi mampu mencapai ketinggian 20-25 meter dengan tajuk 15-20 meter. Tidak merusak ekosistem local terhadap mikroorganisme tanah dan juga tidak ada karena daun trembesi serta buah polongnya yang mengandung gula akan lapuk menjadi humus yang merupakan media yang sangat baik untuk mikroorganisme tanah (Dahlan, 2010). (Tanaman trembesi dapat dilihat pada lampiran.8 daun trembesi)

2.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi pohon trembesi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Devisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Marga : Samanea Merr.
Spesies : *Samanea saman* (jacq.) Merr (Nuroniah dan kosasih, 2010)

2.1.2. Morfologi

Pohon trembesi mempunyai batang yang besar, bulat dan tinggi antara 10-20 meter. Permukaan batangnya beralur, kasar dan berwarna coklat kehitam-hitaman. Daunnya majemuk dan menyirip ganda. Tiap helai daun berbentuk bulat memanjang dengan panjang antara 2-6 cm dan lebar anara 1-4 cm dengan tepi daun rata. Warna daun hijau dengan permukaan licin dan tulang daun menyirip.

Bunga trembesi berwarna merah kekuningan. Buahnya berwarna hitam berbentuk polong dengan panjang antara 30-40 cm. dalam buah terdapat biji yang keras berbentuk lonjong dengan panjang 5 mm berwarna coklat kehitaman (Steenis Van, CGGJ., 2008).

2.1.3. Kandungan Kimia

Tumbuhan pada umumnya memiliki senyawa metabolisme primer dan senyawa metabolisme sekunder. Senyawa metabolisme primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat essential bagi proses metabolisme sel tersebut. Senyawa ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok makromolekul yaitu karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat, sedangkan senyawa metabolisme sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung dari gangguan hama atau penyakit. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap tanaman trembesi khususnya ekstrak daun trembesi positif mengandung senyawa triterpen, steroid, flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin (Dahlan, 2010). Berikut senyawa metabolit sekunder dalam daun trembesi beserta mekanisme antibakterinya :

2.1.3.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolic dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin itu dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam subsub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Cook dalam Abdi, 2010). Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain (Markham, 1988).

Golongan senyawa flavonoid memiliki mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri, yaitu senyawa flavonoid akan membentuk senyawa

kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Manoi dan Balittro, 2009).

2.1.3.2. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dari kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan kuat, antiperadangan dan antikanker (*anticarcinogenic*). Tanin dikenal juga sebagai zat samak untuk pengawetan kulit, yang merupakan efek tanin yang utama sebagai adstringensia yang banyak digunakan sebagai pengencang kulit dalam kosmetik (Yuliarti, 2009).

Semua jenis tanin dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Kelarutannya besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin akan terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu 99-102°C (Risnasari, 2002).

Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu tanin memiliki sifat pengelat yang dapat mengerutkan dinding atau membran sel bakteri dan mengganggu permeabilitasnya, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Ajizah, 2004). Senyawa tanin mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel bakteri (Manoi dan Balittro, 2009).

2.1.3.3. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Mula-mula disebut saponin karena sifatnya yang khas menyerupai sabun. Saponin adalah suatu glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tanaman. Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmokologi. Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba (Mashroh, 2010).

Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. (Prihatma, 2001). Saponin memiliki mekanisme antibakteri yaitu dari permukaan mirip detergen yang mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitasnya (Harborne, 2006).

2.1.4. Efek Farmakologi

2.1.4.1. Antibakteri

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein extraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Raghavendra dkk., 2008).

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati. Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Nuroniah dan Kosasih, 2010).

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Berdasarkan struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas steroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid. Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit, berbusa dalam air. Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat seperti sebagai astringen, anti diare, antibakteri dan antioksidan. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya

porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Prasad dkk., 2008).

2.2. Simplisia

2.2.1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bentuk jamak dari *simpleks* yang berasal dari kata *simple*, yang berarti satu atau sederhana. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk. Simplisia adalah bahan alamiah yang dipakai sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga atau kecuali dinyatakan yang baru mengalami proses setengah jadi seperti pengeringan (Prasetyo, 2013).

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).

Berdasarkan jenisnya simplisia dibedakan menjadi tiga jenis yaitu:

2.2.1.1. Simplisia nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia (Ditjen POM, 2005)

2.2.1.2. Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan, 2010)

2.2.1.3. 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 murni (Gunawan, 2010).

2.2.2. Syarat-syarat Simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. Kadar air, harus kurang dari 10%.
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.
5. Aflatoksin total, kadar aflatoksin total (B1, B2, G1, dan G2) $\leq 20 \mu\text{g/kg}$ dengan syarat B1 $\leq 5 \mu\text{g/kg}$.
6. Cemaran logam berat, Pb : $\leq 10 \text{ mg/kg}$, Cd : $\leq 0,3 \text{ mg/kg}$, As : $\leq 5 \text{ mg/kg}$, Hg: $\leq 0,5 \text{ mg/kg}$
7. Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum, dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

2.2.3. 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 perusakan 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)

2.2.4. Penghalusan simplisia

Derajat kehalusan simplisia perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak yang optimal. Derajat kehalusan simplisia penting untuk mengupayakan agar penarikan dapat berlangsung semaksimal mungkin, kehalusan menyangkut luas permukaan yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Agoes, 2007).

Umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik ekstraksinya (DepKes, 1986).

Berdasarkan penelitian (Sapri dkk, 2014) rendemen ekstrak etanol daun trembesi yang dihasilkan pada ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh yaitu semakin besar nomor mesh yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Jadi, ukuran serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh, dimana semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak.

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam 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 (DepKes, 2000).

2.3.1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan

dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (DepKes, 2006).

2.3.2. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan fraksi yang terkandung dalam suatu larutan atau suspensi yang mempunyai karakteristik berbeda (Yuliasih dkk., 2007). Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair atau *solvent extraction* dimana merupakan proses pemisahan yang didasarkan atas perbedaan distribusi komponen yang dipisahkan antara dua fase cair. Proses pemisahan tersebut dilakukan di dalam dua macam pelarut yang tidak saling bercampur (Febriyanti dkk., 2004). Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat terlarut dalam air maupun senyawa yang dapat larut dalam pelarut organik. Fraksinasi dilakukan secara berkesinambungan dengan dimulai dari pelarut non polar, semi polar dan pelarut polar. Akhir dari fraksinasi akan didapatkan fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa non polar, semi polar dan polar (Purwanto, 2015).

2.3.3. Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi (Ncube dkk., 2008). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari dkk., 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi,

kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari dkk., 2011).

Pada beberapa penelitian digunakan beberapa pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu air, methanol, etanol, kloroform, dan petroleum eter (Sudarmadji dkk., 2007).

1. Air

Air adalah pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan (Tiwari dkk., 2011).

2. Etanol

Etanol (C_2H_5OH) memiliki nama lain yaitu etil alkohol, hidroksietana, alkohol murni, dan alkohol absolut. Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C_2H_5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar. Oleh karena itu, etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar. Etanol memiliki berat molekul 46,04 gr/mol, massa jenis 0,789 gr/ cm^3 , titik didih $78,4^{\circ}C$, viskositas pada $20^{\circ}C$ 1,200 cP, momen dipol sebesar 1,69 D (gas), konstanta dielektrik 24,3 pada $20^{\circ}C$, dan tidak berwarna (Chandra, 2015). Berdasarkan penelitian Fathurrachman, 2014, konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% menghasilkan % rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70%.

3. N-heksana

N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa - senyawa bersifat nonpolar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

4. Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar. Etil asetat secara selektif akan menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenolo dan terpenoid (Tiwari dkk., 2011)

5. Metanol

Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawasenyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas dkk., 2008).

2.4. Bakteri *S. Aureus*

2.4.1. Definisi Bakteri

Nama bakteri berasal dari kata "*Bakterion*" (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, tidak beklorofil, berkembangbiak dengan pembelahan diri serta dengan demikian kecilnya sehingga hanya tampak dengan mikroskop (Dwidjoseputro, 1990).

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. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu:

1. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
2. Sumber karbon
3. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis proteindan asam-asam nukleat.
4. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion, dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.

5. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolik esensial (Irianto, 2006).

2.4.2 Penggolongan Bakteri

Bakteri dibagi dalam golongan Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan antara Gram positif dan Gram negatif diperlihatkan dari perbedaan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan petidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku. Kekakuan dinding sel bakteri yang disebabkan karena lapisan petidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap lisis osmotik (Jawetz, 1996)

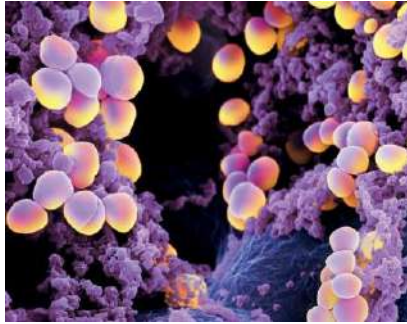
Bakteri gram positif merupakan bakteri pembentuk spora misalnya spesies *Bacillus* dan *Clostridium*. Kedua spesies ini terdapat dimana-mana dalam membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Adapun bakteri gram positif yang tidak membentuk spora yaitu spesies *Corynebacterium*,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

2.5. *Staphylococcus aureus*

2.5.1. Klasifikasi

Domain	: Bacteria
Devisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Marga	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Garrity dkk., 2004).

2.5.2. Morfologi



Gambar 2.1. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Insanu dkk., 2011).

Merupakan bakteri koagulase positif dan katalase positif, bersifat aerob dan anaerob fakultatif hal ini membedakannya dari spesies lain. *S. aureus* patogen utama bagi manusia, hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi sepanjang hidupnya, beratnya mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan, sampai infeksi berat yang mengancam jiwa. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk kokus, dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *S. aureus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *S. aureus* memiliki ukuran diameter 0,5-1 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *S. aureus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin. *S. aureus* adalah bakteri aerob, tetapi bila sudah berpindah ke tempat lain dapat bersifat anaerob fakultatif, mampu memfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hialurodinase, fosfatase, protease, dan lipase. *S. aureus* mengandung lisostafin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dihasilkan adalah leukosidin, enterotoksin yang terdapat dalam makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksfoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda seperti kulit terkena luka bakar (Nasution, 2014).

2.6. Antibakteri

2.6.1. 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).

2.6.2. Mekanisme Kerja Antibakteri

2.6.2.1. Menghambat Sintesis Dinding Sel

Membran sel bertindak sebagai penghalang selektif, memungkinkan beberapa zat terlarut untuk melewati dan tidak termasuk yang lain. Banyak senyawa secara aktif diangkut melalui membran menjadi terkonsentrasi di dalam sel (Brooks dkk., 2013).

2.6.2.2. Menghambat Sintesis Protein

Protein ada dalam keadaan tiga dimensi terlipat terutama oleh interaksi nonkovalen intramolekuler seperti ikatan ionik, hidrofobik, dan hidrogen atau kovalen hubungan disulfida. Keadaan ini disebut struktur tersier protein; itu mudah terganggu oleh sejumlah fisik (misalnya, panas) atau agen kimia (misalnya alkohol), menyebabkan protein tersebut menjadi tidak berfungsi. Gangguan struktur tersier protein disebut denaturasi protein (Brooks dkk., 2013).

2.6.2.3. Menghambat Fungsi DNA

Sejumlah agen fisik dan kimia bertindak dengan cara merusak DNA termasuk radiasi pengion, sinar ultraviolet, dan bahan kimia reaktif DNA. Di antara kategori terakhir adalah zat alkilasi dan senyawa lainnya yang bereaksi secara kovalen dengan pangkal purin dan pirimidin membentuk aduk DNA atau *interstrand cross-link*. Lesi DNA yang diinduksi radiasi dan diinduksi secara kimia membunuh sel terutama dengan mengganggu replikasi DNA (Brooks dkk., 2013).

2.6.2.4. Menghambat *Tetrahydrofolic Acid*

Tetrahydrofolic acid (THF) adalah co-enzyme dalam sintesis dasar purin dan timidin yang merupakan penyusun DNA dan RNA dan diperlukan untuk pertumbuhan sel dan replikasi. Kurangnya THF menyebabkan penghambatan proliferasi sel. Pembentukan THF dari dihydrofolate (DHF) dikatalisis oleh enzim dihydrofolate reduktase. Antibiotik golongan ini contohnya adalah trimetropim, sulfonamid dan kotrimoksazol (Brooks dkk., 2013).

2.6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Pengujian ini dapat dilakukan dengan dua metode yakni metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode pengenceran (*Dillution method*). Macam-macam metode uji aktivitas antibakteri antara lain: metode pengenceran, difusi agar, metode dilusi (Kristanti, 2008).

2.6.1. Metode Difusi

2.7.1.1. Metode *disk diffusion*

Prinsip metode *disk diffusion* (tes *Kirby & Baur*) adalah mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah hambatan berbanding lurus dengan aktivitas antibakterinya maka semakin luas daerah hambatnya (Jawetz dkk., 2001). Langkah kerjanya adalah sebuah cawan petri yang berisi media agar yang telah dimasukkan bakteri yang sudah sesuai standar di atas permukaannya. Kemudian kertas cakram yang telah direndam dalam senyawa antibakteri yang telah diketahui konsentrasinya diletakkan di atas permukaan agar yang sudah memadat. Selam inkubasi, senyawa antibakteri akan berdifusi dari kertas cakram ke media agar. Apabila senyawa antibakteri efektif maka zona hambat akan terbentuk disekitar cakram setelah inkubasi, diameter dari zona hambat tersebut kemudian diukur (Pratiwi, 2008).

2.7.1.2. Metode *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

2.7.1.3. *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antibakteri tersebut (Pratiwi, 2008).

2.7.1.4. *Cup-plate technique*

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

Tabel II.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto dkk., 2012)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat Kuat
11 – 20 mm	Kuat
6 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.7.2. Metode Dilusi

2.7.2.1. Metode dilusi cair / *broth dilution test (serial diution)*

Prinsip metode dilusi (pengenceran) adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, Dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericial Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2009). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9 % pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Forbes, 2007).

2.7.2.2. Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

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

2.8. Obat golongan Antibakteri

2.8.2. Kloramfenikol

Antibakteri yang digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif adalah Kloramfenikol. Kloramfenikol digunakan karena mempunyai mekanisme kerja yang sama seperti senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun trembesi (Rita dkk., 2016).

Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotika yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan spektrum kerja yang luas (Siswando dkk., 2000). Efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif (Ganiswarna, 1995). Antibiotika ini bekerja dengan menghambat proses sintesis protein yang terjadi

pada sel bakteri *S. aureus*. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50S sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom (Katzung, 2000).

Karakteristik Kloramfenikol menurut FI IV adalah sebagai berikut :

Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama Lain	: Chloramphenicol
Nama Kimia	: <i>D(-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol</i>
BM	: 323,13
Suhu Lebur	: 149°C – 153°C
Pemerian	: Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.
Kelarutan	: Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.
Persyaratan	: Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun trembesi, etanol 70%, bakteri *S. aureus*, antibiotik Kloramfenikol, media *Nutrient Agar*, NaCl, n-heksana, etil asetat dan aquadest, HCl, magnesium, kloroform, H₂SO₄, asam asetat anhidrat, feriklorida.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, botol maserasi, alumunium foil, corong, labu evaporator, cawan penguap, kaca arloji, pipet, blender, spatula, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum ose, batang L, pinset, mikropipet, dan tip, lampu spiritus, kapas steril, vortex, *hot plate*, oven, lemari pendingin, *laminar air flow* (LAF), inkubator, cakram kosong steril, jangka sorong, dan alat-alat gelas standar laboratorium.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun trembesi yang terdapat di kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun trembesi sebanyak 5 kg diperoleh di halaman Kampus STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya

(Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 1%, 3%, dan 5% fraksi etanol 70% daun trembesi yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (Rita dkk., 2016).

3.5.2 Variabel kontrol

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

3.5.3 Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi etanol 70% daun trembesi terhadap bakteri *S. aureus*.

3.6. Metode Penelitian

3.6.1. Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun trembesi diidentifikasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

3.6.2. Pembuatan Simplisia

Pengumpulan daun trembesi diambil pada bagian daun tua atau muda dengan cara dipetik, kemudian disortasi basah daun yang telah dipetik dan dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya (Depkes RI, 1985). Pencucian dilakukan dengan air bersih yang berasal dari sumur untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan tiga kali, satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah

mikroba, bila pencucian dilakukan sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal. Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari langsung pada suhu kamar. Simplisia kering dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya. Simplisia disimpan dalam wadah, kemudian dihaluskan menjadi serbuk (Depkes RI, 1985).

3.6.3. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g ekstrak dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105⁰C selama 5 jam dan ditimbang. Rumus Kadar air (%) = $\frac{A-B}{A} \times 100\%$ (Depkes RI, 1985).

3.6.4. Ekstraksi Daun Trembesi dengan etanol secara maserasi

Ditimbang simplisia halus daun trembesi sebanyak 500 gram. Lalu direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3500 ml hingga terendam 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/ botol maserasi. Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan oven pada suhu 78,5⁰C hingga diperoleh ekstrak daun trembesi (Ningsih dkk., 2013). Berdasarkan penelitian Fathurrachman (2014), konsentrasi etanol mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan juga hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman sirsak. Ekstrak etanol 70% menghasilkan persentase rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70%.

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan, dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu faktor ekstraksi. Perbandingan penyari dan serbuk yaitu 1:5, karena hasil ekstrak yang didapat lebih banyak daripada perbandingan yang lainnya (Wijaya dkk., 2018).

3.6.5. Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tabung ditutup dengan kapas. Hasil positif bebas etanol jika tidak tercium bau ester (Depkes RI, 1995).

3.6.6. Skrining Fitokimia

3.6.6.1. Flavonoid

Sampel sebanyak kurang lebih 1 ml dicampur dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan warna merah, orange, dan hijau pada lapisan etanol (Harborne, 2006).

3.6.6.2. Saponin

Sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 ml dididihkan dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006).

3.6.6.3. Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006).

3.6.7. Fraksinasi

Ditimbang sejumlah ekstrak 5 g, dilarutkan menggunakan 75 ml *aquadestilata*. Larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambah dengan 25 ml n-heksan sebagai pelarut non polar. Masing-masing ditampung di beaker glass. Diulangi fraksinasi dengan pelarut n-heksan sebanyak tiga kali. Larutan sampel ditambah dengan etil asetat 25 ml sebagai pelarut semi polar. Diulangi fraksinasi sebanyak tiga kali. Masing-masing rendemen diuapkan (Harborne, 2006).

3.6.8. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.6.9. Pembuatan Media

3.6.9.1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aquadestilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.6.9.2. Pembuatan media *eosin manitol salt agar* (MSA)

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

3.6.9.3. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Ditimbang serbuk media agar NA sebanyak 0,2 gram. Dimasukan ke dlm erlenmeyer. Ditambahkan aquades sebanyak 10ml. Dipanaskan di atas api sampai serbuk agar benar-benar larut. Dilakukan pemeriksaan pH dengan kertas pH Universal. Selanjutnya media agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 mnt. Biarkan temperatur turun ad 45°C. Media agar siap dituangkan pada plate/ cawan petri (Yusriana dkk., 2014).

3.6.10. Uji identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan media diferensial MSA

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

3.6.11. Pembuatan Larutan Uji

Hasil data orientasi yang dilakukan dengan fraksi *aquadest* 5%, N-heksan 5%, dan fraksi *aquadest* 10%, N-heksan 10%. Fraksi ekstrak daun trembesi diencerkan dengan menggunakan *aqua destilata* dengan seri konsentrasi fraksi tersebut dalam volume masing-masing 5 ml. Konsentrasi 1%, dengan ditimbang fraksi 0,05g dilarutkan dalam 5ml, konsentrasi 3% dengan ditimbang fraksi 0,15g dilarutkan dalam 5ml, konsentrasi 5% ditimbang fraksi 0,25g dilarutkan dalam 5ml.

3.6.12. Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni diambil dari agar miring NA menggunakan jarum ose, lalu disuspensikan dalam pelarut NaCl 0,9% sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi dikocok sampai homogen. Kekeruhan suspensi mikroba uji diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 480 nm (Kuete, 2011).

3.6.13. Uji Aktivitas Antibakteri

3.6.13.1. Ekstrak Trembesi

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun trembesi menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Ekstrak daun trembesi dengan berbagai konsentrasi 1%, 3% dan 5% ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 20 mikropipet. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan ekstrak daun trembesi ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam kloramfenikol. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 2%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Indrasti dkk., 2012).

3.6.13.2. Fraksi Trembesi

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun trembesi menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Fraksi daun trembesi dengan berbagai konsentrasi 1%, 3% dan 5% ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 20

mikropipet. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan fraksi daun trembesi ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam kloramfenikol. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam DMSO 2%. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Indrasti dkk., 2012).

3.6.14. Pembuatan Larutan Uji DMSO 2%

Konsentrasi DMSO 2% dibuat dengan cara DMSO dipipet sebanyak 2 ml dan ditambahkan *aquadestilata* sebanyak 98 ml. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif, karena DMSO tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak daun trembesi (Indrasti dkk., 2012).

3.6.15. Pengukuran Zona Hambat

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

3.7. Jalan Penelitian

- | | |
|--------------|--|
| Kelompok I | : Kontrol negatif, yaitu DMSO 2%. |
| Kelompok II | : Kontrol positif, yaitu Kloramfenikol. |
| Kelompok III | : Kelompok uji, fraksi n-heksan dengan seri konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. |
| Kelompok IV | : Kelompok uji, fraksi etil asetat dengan seri konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. |
| Kelompok V | : Kelompok uji, fraksi aquadest dengan seri konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. |

Penelitian ini dimulai dari determinasi tanaman trembesi yang dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur dan selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia serbuk dari 5 kg daun trembesi segar. Tahap selanjutnya dilakukan

ekstraksi, sebanyak 500 g simplisia serbuk diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 5000 ml dan diperoleh ekstrak daun trembesi. Ekstrak daun trembesi kemudian dilakukan uji bebas etanol, skrining fitokimia (flavonoid, saponin dan tanin), uji aktifitas antibakteri ada dua yaitu ekstrak trembesi dan fraksi trembesi serta dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan aquadestilata (polar). Fraksi tersebut dibuat seri konsentrasi sebesar 1%, 3%, 5% dan diuji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat. Fraksi dengan seri konsentrasi yang menghasilkan daya hambat terbaik. Daya hambat tersebut kemudian akan dilakukan analisis hasil dengan menggunakan aplikasi SPSS 17.

3.8. Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri gel ekstrak daun beluntas pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk melihat apakah ekstrak gel daun beluntas mampu menghambat *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

3.8.1. Uji Normalitas Data

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

Perumusan hipotesis :

H_0 : data berdistribusi normal

H_1 : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

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

3.8.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil

dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

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

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.8.3. Uji *One Way Anova*

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun trembesi dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun trembesi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

H_1 : Ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun trembesi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.8.4. Uji Korelasi

Uji korelasi ini digunakan untuk membuktikan hubungan yang signifikan antara variasi konsentrasi fraksi daun trembesi terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Pengujian korelasi ini menggunakan metode statistik *Pearson*.

Perumusan hipotesis :

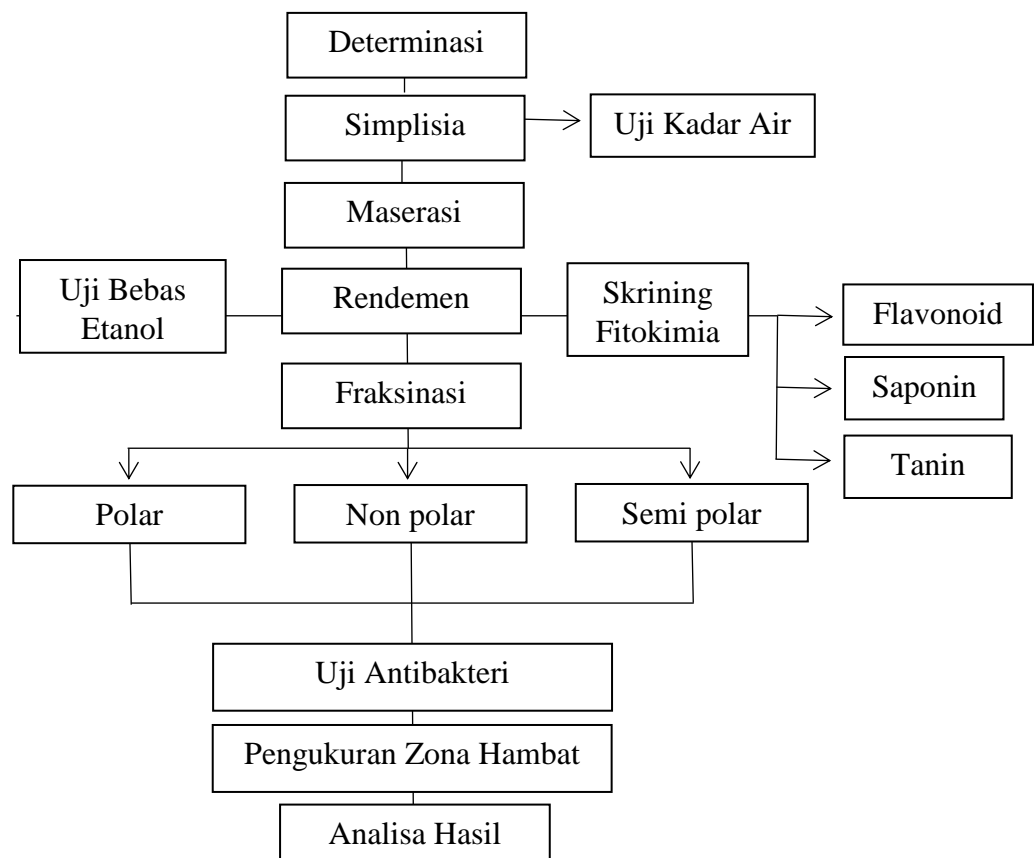
H_0 : Tidak terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara fraksi daun trembesi terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

H_1 : Terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara fraksi daun trembesi terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

Pengambilan keputusan :

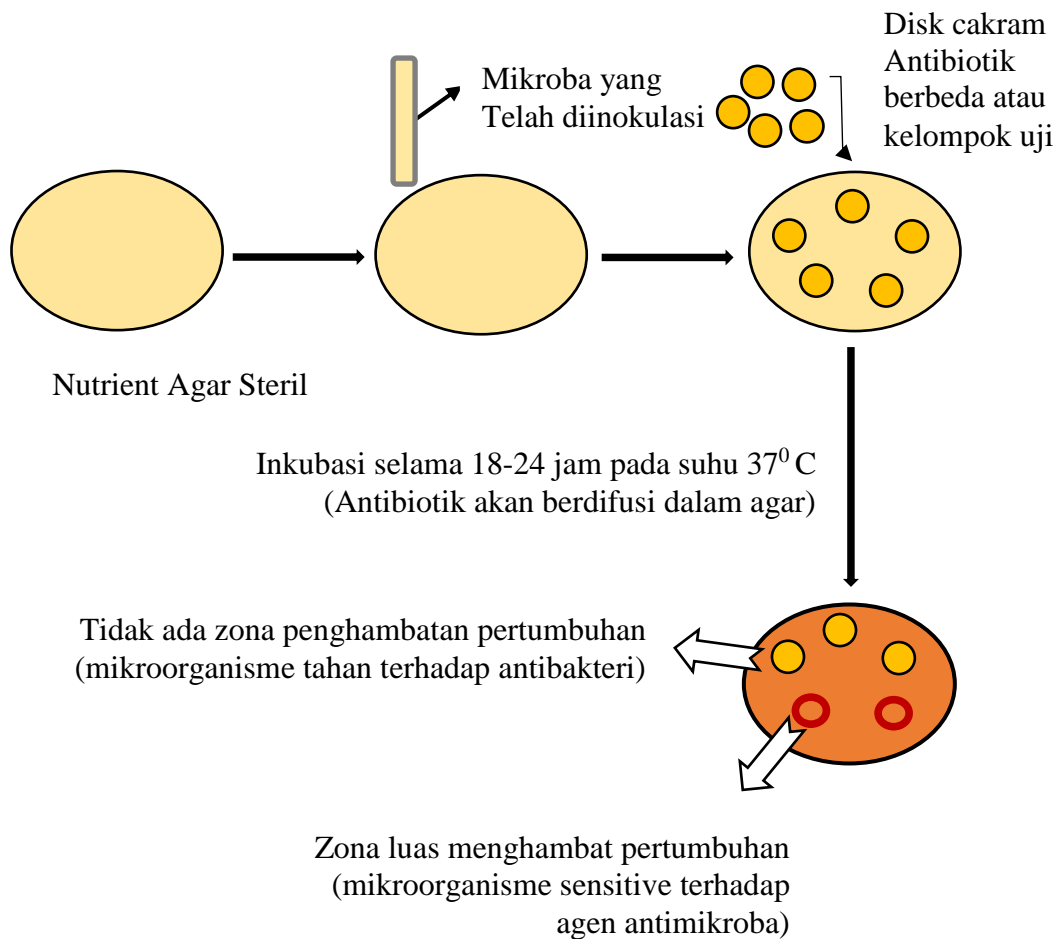
- 1.) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2.) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.9. Kerangka Penelitian



Gambar 3.1. Rancangan Penelitian

3.10. Diagram skematik yang menunjukkan kinerja pengujian sensitivitas antibiotik (metode difusi disk cakram)



Gambar 3.2. Diagram skematik metode difusi disk cakram (Atlas, 2010).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman trembesi dilakukan di Materia Medika, Batu. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54a-56a-1b-1. Morfologi tanaman trembesi yaitu mempunyai batang yang besar, bulat dan tinggi antara 10-20 meter. Permukaan batangnya beralur, kasar dan berwarna coklat kehitam-hitaman. Daunnya majemuk dan menyirip, warna daun hijau dengan permukaan licin dan tulang daun menyirip. Bunga trembesi berwarna merah kekuningan dan buahnya berwarna hitam berbentuk polong dengan panjang antara 30-40 cm. Tanaman trembesi mengandung senyawa tanin, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan glikosida kardiak.

4.2. Uji Kadar Air Simplisia

Tabel IV.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk daun trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr)

Sampel Daun Trembesi	Replikasi			Rata-rata % Hasil
	I	II	III	
Bobot Awal	10,05	10,05	10,05	
Bobot Akhir	9,05	9,15	9,25	
% Hasil	9,95	8,95	7,96	8,95%

Rumus % Kadar Air = $\frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$ (Depkes, 2000)

Bobot awal

Uji kadar air digunakan untuk menetapkan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap selama kondisi tertentu atau selama proses pemanasan (Depkes RI, 1995). Uji kadar air dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk

melihat kualitas simplisia daun beluntas yang digunakan. Menurut Menkes RI (2009), kadar air yang dipersyaratkan yaitu tidak melebihi 10%. Jika kadar air sesuai dengan yang dipersyaratkan maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia yang dapat mencegah pertumbuhan dan aktivitas enzim mikroorganisme pada simplisia sehingga simplisia daun trembesi tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah.

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan lebih kurang 10 g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105° C selama 5 jam dan ditimbang. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel IV.1. Pada uji kadar air diperoleh hasil sebesar 8,95%. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

4.3. Ekstraksi Daun Trembesi

Tabel IV.2 Hasil Uji Susut Pengeringan Daun Trembesi

Sampel Daun Trembesi	Replikasi			Rata-rata % Hasil
	I	II	III	
Bobot Basah	5 kg	5 kg	5 kg	
Bobot Kering	3 kg	2,75 kg	2,25 kg	
% Hasil	60%	55%	45%	53,3%

$$\text{Rumus \% Susut Pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \text{ (DepKes RI, 1985).}$$

Uji susut pengeringan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Berdasarkan tabel IV.2 diketahui susut pengeringan daun trembesi sebesar 53,3%, sehingga dapat diartikan bahwa 46,7% kadar air pada daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.) menghilang. Dengan demikian, pengeringan daun trembesi dengan metode diangin-anginkan merupakan cara yang optimum untuk mendapatkan simplisia dengan kadar senyawa fenolat yang tinggi (Rivai dkk., 2010). Proses selanjutnya simplisia diserbuk dengan tujuan memperluas permukaan

simplisia, sehingga akan mempermudah cairan penyari untuk melarutkan zat aktif yang terkandung di dalam simplisia tersebut (Voight, 1994).

Proses ekstraksi serbuk simplisia daun trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) dilakukan menggunakan metode maserasi. Maserasi dipilih karena proses pengerjaan yang mudah dan peralatan yang cukup sederhana, serta baik untuk senyawa – senyawa yang tidak tahan dengan pemanasan. Pada maserasi ini, digunakan serbuk simplisia daun trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) sebanyak 500 gram dan proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia menggunakan pelarut etanol 70% selama 5 hari dengan perbandingan serbuk : pelarut yaitu 1:5. Pemilihan pelarut etanol 70% sebagai pelarut ekstraksi dikarenakan etanol 70% merupakan pelarut semipolar yang dapat menarik senyawa polar dan nonpolar yang terkandung dalam simplisia. Selain itu, juga memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan pelarut organik lain seperti metanol, kloroform (Saifudin dkk., 2011). Rendemen ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel IV.3.

Tabel IV.3 Hasil Rendemen Ekstrak

Sampel Daun Trembesi	Replikasi			Rata-rata % Hasil
	I	II	III	
Bobot Simplisia	500 g	500 g	500 g	
Bobot Ekstrak	47,32 g	45 g	42,25 g	
% Hasil	9,464%	9%	8,45%	8,97%

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir ekstrak yang digunakan dengan berat awal ekstrak yang digunakan dikalikan 100%. Hasil rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia yang dapat tersari dalam ekstrak juga cukup besar. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak daun trembesi sebesar 8,97%. Artinya, setelah melalui proses ekstraksi, serbuk simplisia daun trembesi kehilangan berat sebesar 91,03%. Hal ini menunjukkan rendemen yang dihasilkan sangat kecil, sehingga untuk menghasilkan ekstrak daun trembesi memerlukan sampel banyak. Kecilnya nilai

rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Maslukhah dkk., 2016).

Dalam penelitian ini, ada beberapa kendala yang dialami oleh peneliti yaitu terbatasnya waktu dan alat yang tersedia di dalam laboratorium sehingga pada proses ekstraksi menjadi lebih lama dari sebagaimana mestinya.

4.4. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak daun trembesi bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan bebas dari etanol karena pelarut tersebut dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri (Sumiati, 2014). Hasil uji bebas etanol ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau ester pada ekstrak seperti yang ditunjukkan pada tabel IV.4

Tabel IV.4 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Trembesi

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun trembesi (<i>Samanea saman</i> (jacq.) <i>Merr.</i>)	Asam asetat, asam sulfat, dipanaskan	+	Bebas etanol

Keterangan: (+) Tidak tercium bau ester dan (-) Tercium bau ester

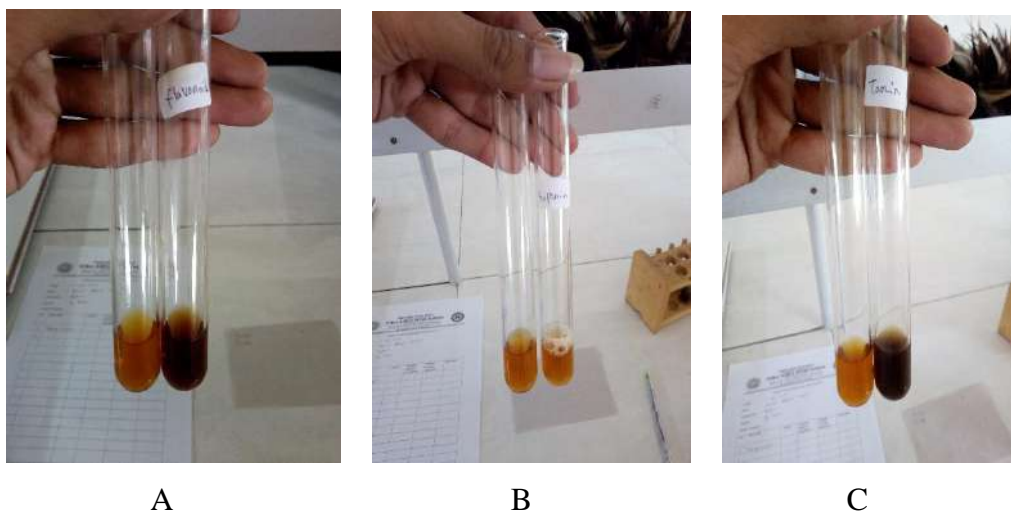
4.5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun trembesi bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Menurut Rita dkk, (2014), daun trembesi memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, steroid, fenol, flavonoid, dan saponin.

Tabel IV.5 Hasil Skrining Fitokimia Daun Trembesi

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Asam sulfat pekat	Jingga orange	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl ₃ 1%	Hitam kebiruan	+
Saponin	Ekstrak + aquadest	Terbentuk busa	+

Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa



Gambar 4.1 Hasil pengamatan skrining fitokimia senyawa (A) flavonoid, (B) saponin, dan (C) tanin

4.5.1. Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak daun trembesi adalah positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga orange, karena penambahan logam Mg dan HCl telah mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina dkk., 2014).

4.5.2. Uji Tanin

Pengujian tanin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa tanin di dalam ekstrak daun trembesi. Langkah awal dalam pengujian senyawa tanin pada ekstrak daun trembesi yaitu dengan mengambil sampel sebanyak 2 g ditambah 5ml etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan

FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006). Pada pengujian ini, diperoleh hasil positif dimana hasil yang didapatkan pada ekstrak daun trembesi terbentuk warna hitam kebiruan yang menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan Fe³⁺ yang memberikan indikasi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Ergina dkk., 2014).

Uji skrining fitokimia dengan menggunakan FeCl₃ digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl₃, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl₃ 1% memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina dkk., 2014). Penambahan ekstrak dengan larutan FeCl₃ 1% dalam air menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl₃ karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺.

4.5.3. Uji Saponin

Pengujian saponin dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak daun trembesi. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena (Bambang dkk., 2016)

Pertama-tama sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 ml dididihkan dengan 10 ml aquadestilata dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006). Diperoleh hasil positif dengan terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosia yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Ningsih dkk., 2016).

4.6. Fraksinasi Daun Trembesi

Tabel IV.6 Hasil Fraksinasi

Fraksi	Bobot Fraksi (gram)	% Rendemen
<i>Aqua destilata</i>	20,35	4,07%
Etil asetat	-	-
N-heksana	4,48	0,896%

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\% \text{ (Handa dkk., 2008)}$$

Fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa menggunakan dua pelarut yang berbeda sifat kepolarannya (Firdausi dkk., 2015). Tujuannya dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Prinsip dari fraksinasi yaitu senyawa yang bersifat polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa yang bersifat non polar diekstraksi dengan pelarut non polar (Uthia dkk., 2017). Hasil ekstrak kental daun trembesi (*Samanea saman (jacq.) Merr*) sebanyak 500 gram difraksinasi menggunakan pelarut *aqua destila*, etil asetat, dan n-heksan dengan jumlah yang digunakan untuk masing-masing pelarut sebanyak 25 ml dan dilakukan pengulangan sebanyak 3x didapatkan rendemen 4,07% *aqua destilata*, 0% etil asetat dan 0,896% n-heksan. Pelarut semi polar etil asetat tidak mendapatkan hasil fraksi dikarenakan senyawa yang terkandung dalam daun trembesi tidak tertarik semua pada pelarut semi polar dengan etanol 70% dan pada proses pengeringan saat dioven terlalu lama, sehingga senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun trembesi banyak yang menghilang atau rusak, jadi pelarut semi polar etil asetat tidak terdapat hasil pada proses fraksinasinya.

4.7. Uji Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian bakteri ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Sampel bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya, Malang.

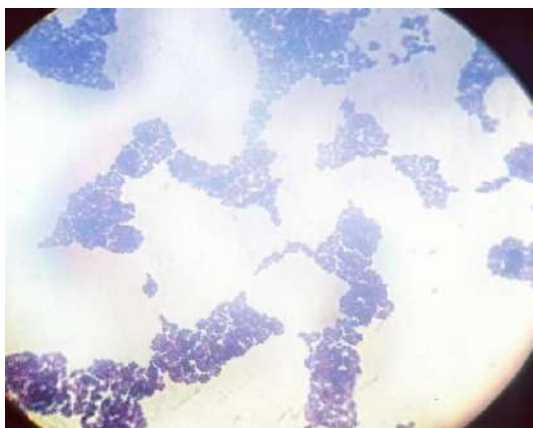
Tabel IV.7 Uji Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Hasil	Kesimpulan
Pewarnaan bakteri	Kokus ungu	+
Uji koagulase	Terbentuk koagulasi	+
Uji katalase	Warna putih	+
Identifikasi media MSA	Berwarna kuning keemasan	+

Keterangan: (+) teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*

4.7.1. Uji Pewarnaan Bakteri

Pewarnaan Gram adalah teknik pewarnaan diferensial yang memisahkan bakteri menjadi dua kelompok yaitu Gram positif dan Gram negatif (Harley dan Presscot, 2002). Bakteri Gram positif mempertahankan zat warna kristal violet karenanya tampak ungu tua sedangkan bakteri Gram negatif kehilangan kristal violet ketika dicuci dengan alkohol dan waktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin tampak berwarna merah (Zubaidah, 2006). Menurut Purves dan Sadava (2003), perbedaan warna tersebut dikarenakan perbedaan ketebalan dinding peptidoglikan bakteri, bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Perbedaan ketebalan dinding ini mengakibatkan perbedaan kemampuan afinitas dengan pewarna Gram. Hasil uji pewarnaan pada penelitian ini menunjukkan hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* (dapat dilihat pada Tabel IV.7 dan Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus*

4.7.2. Uji Koagulase

Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Produksi koagulase adalah kriteria yang paling umum digunakan untuk identifikasi sementara *Staphylococcus aureus* (Abrar, 2001). Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dengan spesies *staphylococcus* yang lain (Bruckler dkk., 1994). Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *S. aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik (Bruckler dkk., 1994). Hasil uji koagulase pada penelitian ini menunjukkan hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* (dapat dilihat pada Tabel IV.7 dan Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Uji koagulase

4.7.3. Uji Katalase

Uji katalase berfungsi untuk membedakan antara *Staphylococcus* atau *Streptococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O_2 dan O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Amalia, 2013) (dapat dilihat pada Tabel IV.7 dan Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Uji Katalase

4.7.4. Uji Media MSA

Staphylococcus aureus positif tumbuh pada media MSA, media dan koloni berwarna kuning karena terjadi fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di MSA, merubah warna merah media MSA menjadi kuning cerah (Tambayong, 2009). Media MSA mengandung konsentrasi garam NaCl yang tinggi (7,5%-10%) sehingga membuat MSA menjadi media selektif untuk *Staphylococcus*, karena tingkat NaCl yang tinggi menghambat bakteri yang lain tumbuh (Boerlin dkk., 2003). Hasil uji media MSA pada penelitian ini menunjukkan hasil positif bakteri *Staphylococcus aureus* (dapat dilihat pada Tabel IV.7 dan Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Identifikasi Media MSA dengan Bakteri *Staphylococcus aureus*

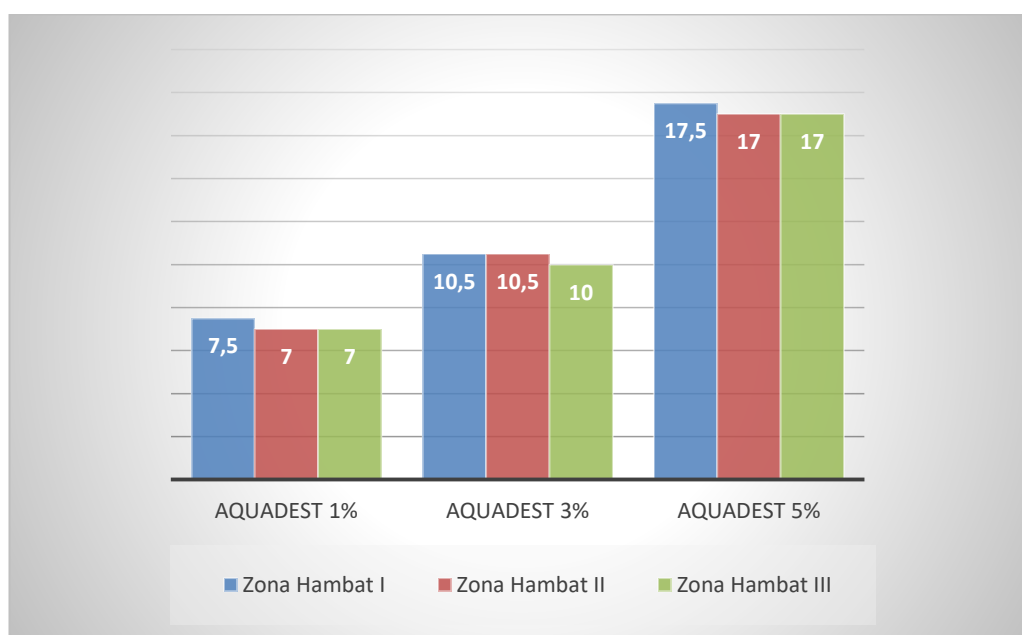
(a) Sebelum; (b) sesudah

4.8. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) terhadap *Staphylococcus aureus*

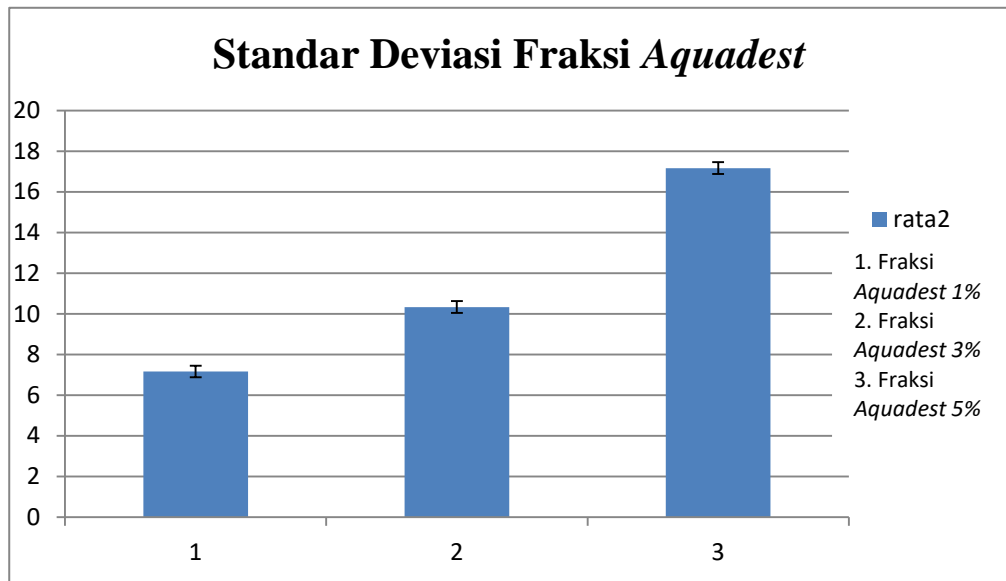
Tabel IV.8 Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Fraksi	Konsentrasi uji (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		I	II	III	
<i>Aqua destilata</i>	1	7,5	7	7	7,2
	3	10,5	10,5	10	10,3
	5	17,5	17	17	17,2
N-heksan	1	8	8,5	8	8,2
	3	10,5	10,5	10,5	10,5
	5	11,5	11	11	11,2
K (+)	-	31	31,5	31,5	31,3
K (-)	2	0	0	0	0

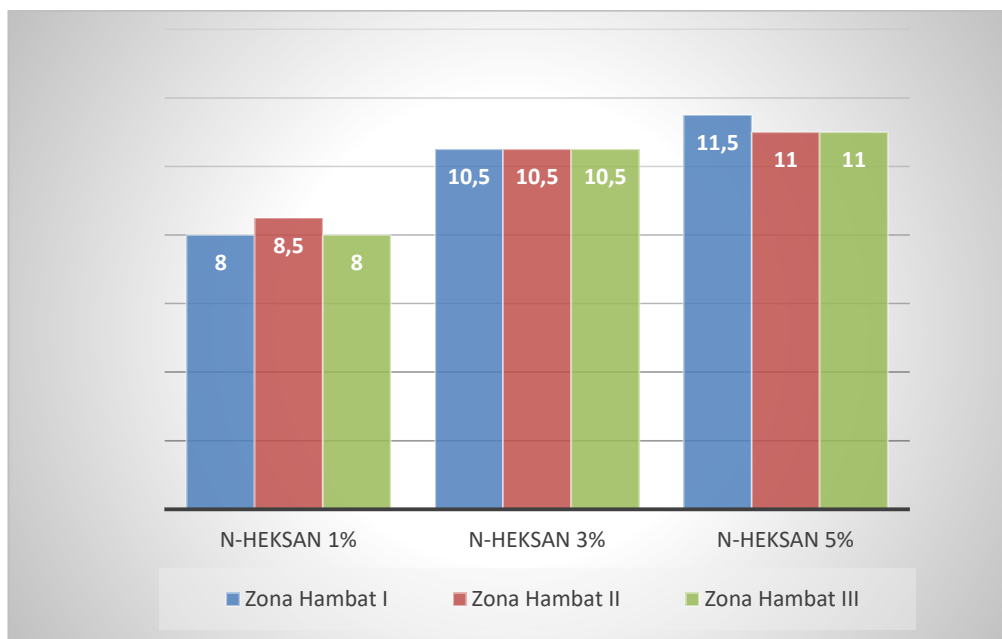
Keterangan : K(+) Kloramfenikol, K(-) DMSO 2%



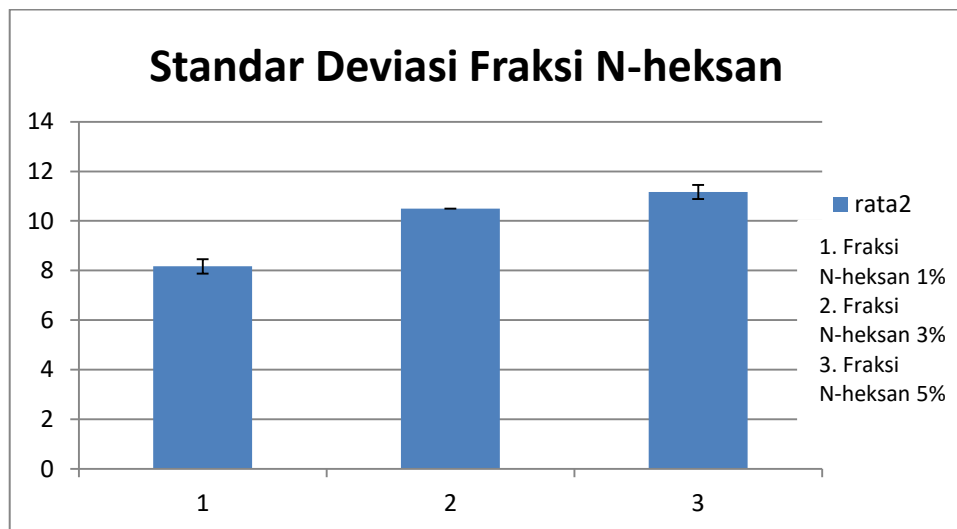
Gambar 4.6. Grafik batang hasil fraksi aquadest dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



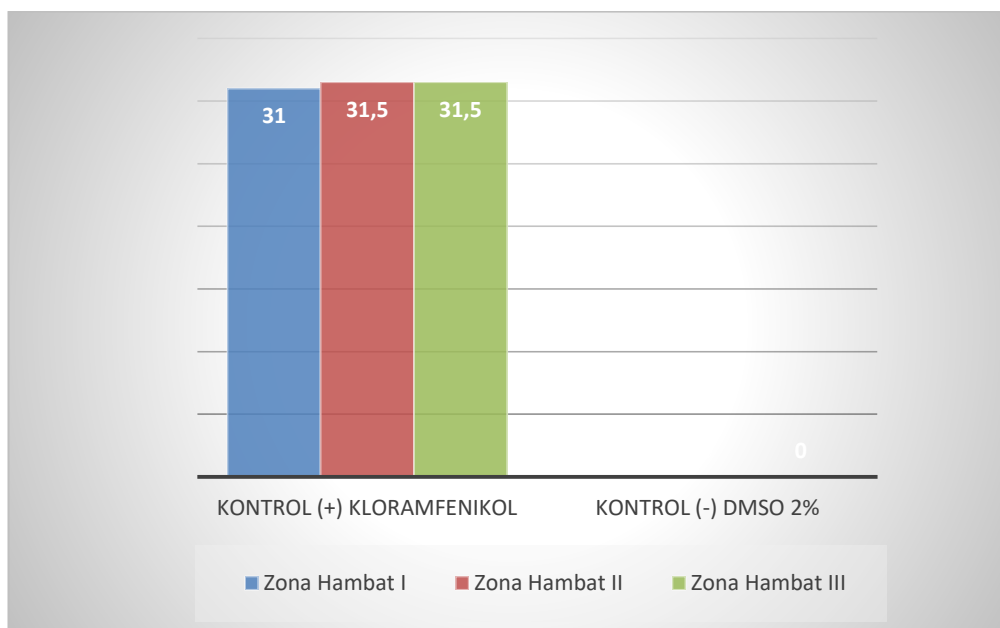
Gambar 4.7. Grafik batang hasil rata-rata + Standar Deviasi fraksi *aquadest* (1) *aquadest* 1%, (2) *aquadest* 3%, (3) *aquadest* 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



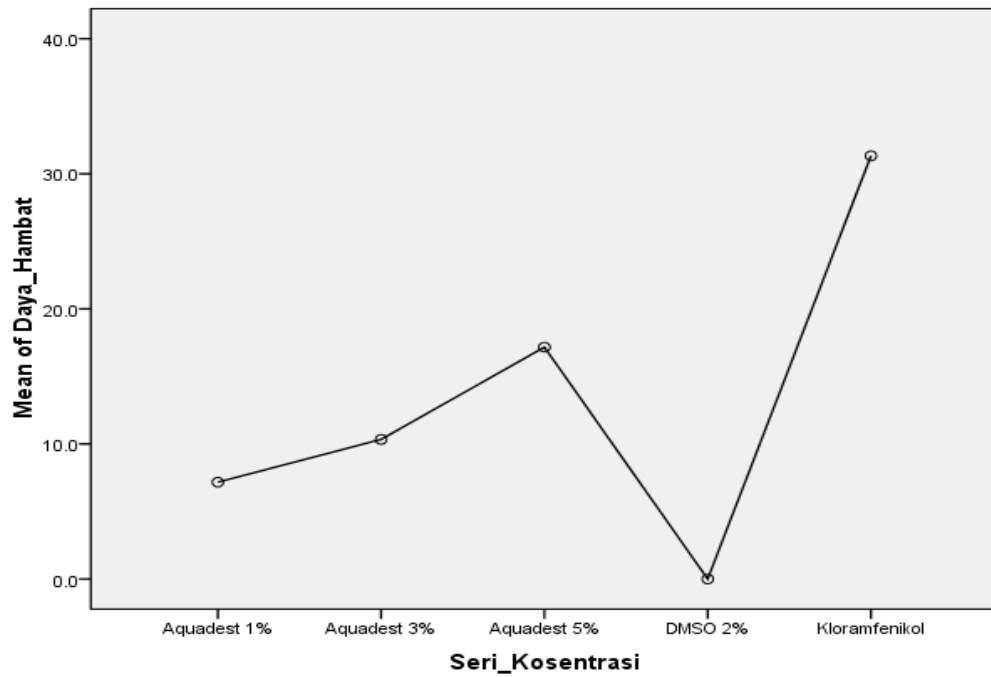
Gambar 4.8. Grafik batang hasil fraksi n-heksan dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



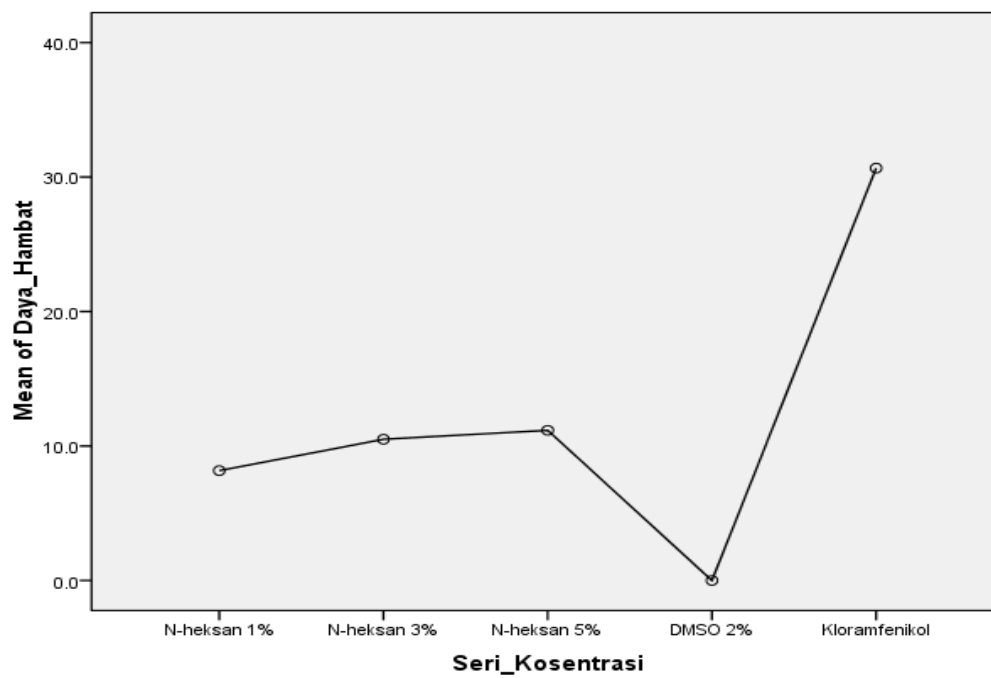
Gambar 4.9. Grafik batang hasil rata-rata + Standar Deviasi fraksi n-heksan (1) n-heksan 1%, (2) n-heksan 3%, (3) n-heksan 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.10. Grafik batang hasil fraksi kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO 2% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.11. Grafik hasil SPSS fraksi *aquadest* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.12. Grafik hasil SPSS fraksi *n-heksan* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil orientasi (lampiran) yang dilakukan dengan fraksi *aquadest* 5% didapatkan hasil 32,5 mm, N-heksan 5% didapatkan hasil 33 mm, sedangkan dengan *aquadest* 10% didapatkan hasil 33,5 mm, N-heksan 10% didapatkan 37,5 mm. berdasarkan hasil orientasi fraksi dengan konsentrasi 5% menimbulkan zona hambat paling baik, dari hasil tersebut penelitian menggunakan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%.

Berdasarkan tabel IV.8 dapat dilihat hasil uji aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi fraksi yaitu 1%, 3%, dan 5%, ditemukan bahwa konsentrasi 5% menunjukkan hasil yang paling baik. Hasil diameter zona hambat dari masing-masing fraksi adalah fraksi *aqua destilata* 5% memiliki rata-rata zona hambat 17,2 mm, dan fraksi n-heksan 5% memiliki rata-rata zona hambat 11,2 mm. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing fraksi tergolong dalam kategori kuat (Marliana dan Saleh, 2011). Berdasarkan tabel diatas zona hambat yang paling luas terdapat pada fraksi *aquadest* 5% dikarenakan fraksi *aquadest* mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun trembesi (*Samanea saman (jacq.) Merr*) diduga tertarik semua pada *aqua destilata* yang merupakan pelarut polar. Berdasarkan kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat menurut Susanto dkk., (2012) yaitu diameter zona hambat ≥ 21 mm (sangat kuat), 11–20 mm (kuat), 6–10 (sedang), dan <5 mm (lemah). Hasil tersebut juga menunjukkan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi memiliki daya hambat yang semakin besar. Hal ini sesuai dengan penelitian Fildza dkk., (2016) bahwa semakin besar konsentrasi uji, semakin banyak pula jumlah senyawa yang terlarut, maka semakin tinggi kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Hal ini dapat terjadi dikarenakan peningkatan perubahan morfologi (kebocoran asam nukleat, protein sel, dan ion logam) pada bakteri (Suliantari, 2009).

Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan golongan antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan spektrum kerja yang luas (Siswando dkk., 2000). Efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif (Ganiswarna, 1995). Antibiotik ini bekerja dengan

menghambat proses sintesis protein yang terjadi pada sel bakteri *S. aureus*. Kloramfenikol memiliki rata-rata diameter zona hambat 31,3 mm. DMSO 2% digunakan sebagai kontrol negatif karena merupakan pelarut ekstrak yang efektif dan tepat untuk ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri (Rachmawaty dkk., 2018). Hasil ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada fraksi daun trembesi (*Samanea saman (jacq.) Merr*) murni tanpa pengaruh dari pelarutnya.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak daun trembesi dikarenakan daun trembesi memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Ketiga golongan senyawa tersebut telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Dalam aktivitas zat antibakteri, golongan senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Flavonoid memiliki mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri, yaitu dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Manoi dan Balitro, 2009). Mekanisme tanin sebagai antibakteri yaitu tanin memiliki sifat pengkhelat yang dapat mengerutkan dinding atau membran sel bakteri dan mengganggu permeabilitasnya, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Ajizah, 2004). Senyawa tanin mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel bakteri (Manoi dan Balitro, 2009). Saponin memiliki mekanisme antibakteri yaitu dari permukaan mirip detergen yang mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitasnya (Harborne, 2006).

Berdasarkan tabel analisis *One Way Anova* pada lampiran.10 dapat diketahui bahwa hasil penilaian distribusi data untuk daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil bahwa data bersifat normal dan homogen. Sehingga pengujian uji beda untuk data daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan uji *one way anova*. Hasil pengujian statistik dengan menggunakan *one way anova*, didapatkan hasil nilai $p=0,000$. Oleh karena nilai $p<0,05$, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Tabel *Post Hoc (Homogeneous)* dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan oleh fraksi ekstrak daun trembesi dari

berbagai konsentrasi sudah setara (tidak berbeda) atau belum (berbeda) dengan krim antibiotik pembanding yaitu kloramfenikol. Dari tabel analisis *Post Hoc (Homogeneous)* pada lampiran.10 menunjukkan bahwa semua fraksi ekstrak daun trembesi yang diujikan, sampai dengan konsentrasi 5% belum setara (berbeda) dengan zona hambat krim kloramfenikol, ditunjukkan dari tidak ada satupun perlakuan yang ada dalam satu kolom yang bersama kloramfenikol. Hal ini dapat terjadi karena, untuk menyetarakan zona hambat dengan krim kloramfenikol dibutuhkan konsentrasi fraksi daun trembesi yang lebih tinggi. Kloramfenikol merupakan senyawa sintetis yang dengan konsentrasi sedikit sudah dapat menghasilkan zona hambat yang besar dan fraksi daun trembesi masih mengandung beberapa senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuan agen antibakterinya.

Untuk memprediksi konsentrasi fraksi daun trembesi yang memiliki zona hambat setara (tidak berbeda) dengan kontrol positif (Kloramfenikol), maka dapat dilakukan uji statistik regresi linier dengan rumus regresi sebagai berikut: $Y=a+bX$, dimana Y = zona hambat kloramfenikol dan X = konsentrasi fraksi daun trembesi, sedangkan a dan b dapat diperoleh dari nilai hasil uji regresi linier (Sentana, 2011).

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi *aqua destilata* 5% dengan rata-rata zona hambat 17,2 mm, dan fraksi n-heksan 5% dengan rata-rata zona hambat 11,2 mm dari ekstrak daun trembesi (*Samanea saman (Jacq.) Merr.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Fraksi *aqua destilata* 5% menunjukkan respon hambatan paling optimum dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17,2 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Pelarut semi polar etil asetat tidak mendapatkan hasil fraksi dikarenakan senyawa yang terkandung dalam daun trembesi tidak tertarik semua pada pelarut semi polar dengan etanol 70% dan pada proses pengeringan saat dioven terlalu lama, sehingga senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun trembesi banyak yang menghilang atau rusak, jadi pelarut semi polar etil asetat tidak terdapat hasil pada proses fraksinasinya.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan mengambil senyawa antibakteri dalam daun trembesi yang berkhasiat kuat.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji fitokimia fraksi semi polar dengan pelarut yang berbeda.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bentuk sediaan yang berbeda untuk mengetahui keefektifan daun trembesi sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifurrahman, Samadin, K.H. dan Aziz, S., 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang.
- Abrar, M. 2001. Isolasi, karakterisasi dan aktivitas biologi hemaglutinin *Staphylococcus aureus* dalam proses adhesi pada permukaan sel ephitel kambing sapi perah. Disertasi Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB. Hal : 21, 26-27.
- Ajizah, A., 2004, Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientiae*.
- Asih, I.A.R.A., 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon. *Jurnal Kimia*.
- Atlas, R.M., 2010. *Handbook of Microbiological Media* 4th ed. Washington, D.C.: CRC Press.
- BPOM, 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. BPOM RI. Jakarta
- Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.C., Morse, S.A dan Mietzner, T.A., 2013. *Medical Microbiology, 26 ed.* USA: Mc-Graw Hill.
- Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.C., Morse, S.A dan Mietzner, T.A., 2010, *Jawetz, Melnick dan Adelberg Mikrobiologi Kedokteran, 25 ed*, diterjemahkan oleh Adityaputri, A., dkk, EGC. Jakarta.
- Bruckler, J., Schwarz, S. dan F. Untermann, F. 1994. *Staphylokokken-infektionen und-enterotoxine*, band. II/1, In: Blobel, H. und Schlie ? er (Eds.), *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Chandra, Andy. 2015. Studi Awal Ekstraksi Batch Daun *Stevia Rebaudiana* Dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur Ekstraksi. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.
- Cook, N. C. dan S. Samman. (1996). *Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effect, And Dietary Sources*, *J. Nutr. Biochem* (7): 66-76
- Dahlan, E. N. 2010. Trembesi dahulunya asing sekarang tidak lagi. Bogor : IPB Press.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1985, Cara Pembuatan Simplisia. Depkes. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1986. Sediaan Galenik, 2 dan 10. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2006, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol.2, 124. Depkes RI. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewi, A.K., 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*.
- Dewoto, H.R., 2007. Pengembangan Obat tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*.
- Duke, J. A. 1983. *Samanea saman* (Jacq.) Merr, [cited 2015 May 23]. Available from URL: https://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Samanea_saman.html
- Ergina, Nuryanti, S. dan Pursitasari, I.D., 2014. Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted With Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), pp.165-72.
- Fathurrachman, D.N., 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (Skripsi). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Febriyanti, D.R, A. dan B, J., 2004. *Peningkata Mutu Light Cycle Oil (LCO) dengan Cara Ekstraksi Cair-Cair menggunakan Solvent Dimethylformamide (DMF)*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Fildza H.F, Rindya M.A, Masfiyah, Rina W. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Jati (*tectona grandis* L.f.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri secara *Invitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. *Media Farmasi Indonesia* Vol.12 No.1.
- Firdausi, I., Retnowati, R. dan Sutrisno, 2015. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) Dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, Vol. 1 No. 1, pp.785-90.

- Forbes, A.B. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby: St Louis.
- Garrity, G. M., Bell, J. A dan Lilburn. T. G. 2004. *Taxonomic Outline Of The Prokaryotes Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology, 2th Edition*, United States Of Amerika : Spinger New York Berlin Henderberg.
- Ghazali, I., 2011. *Aplikasi Analisis Multivariate Dengan Program SPSS19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro.
- Handa, Khanuja, Longo dan rakesh, 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: International Centre For Science and High technology. pp.22, 81-93.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakes, D.D., 2008. *Extractin Techonologies for Medicinal and Aromatic Plans*. Trieste: International Centre for Science and High Technology, p.21.
- Harborne, J.B., 2006, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi ke-2, ITB, Bandung.
- Harley, J.P. dan L.M. Prescott. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*. 1st ed. The McGraw-Hill Companies, USA.
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2001. *Medical Microbiology Twenty Second Ed*. Buku 1. Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta:Salemba Medika.
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg 25th ed.*, Jakarta, Indonesia: EGC.
- Jawetz, M. & Adelberg's, 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika. Hal: 233-235.
- Katzung BG. 2000. Basic and Clinical Pharmacology. *J Antimicrob Chemother*. 52: 61 – 64.
- Koes Irianto. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*.Jilid 2.Jakarta.
- Kristanti, A. N., N S. Aminah., M. Tanjung B. Kurniadi. 2008. *Buku ajar fitokimia jurusan kimia laboratorium kimia organik*. FMIPA Universitas Airlangga.
- Kusmana, C. dan Hikmat, A., 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, Vol. 5 No. 2, pp.187-98.

- Kusumaningtyas, E., Astuti, E., dan Darmono, 2008. Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6 (2), 75-79.
- Listari, Y. 2009. Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari *Rizosferfamilia poaceae terhadap Escherichia coli*. *Jurnal online*. PP.1.1–6.
- Manoi F dan Balitro. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung : Penerbit ITB. Hal 58-60.
- Marliana, E. dan Saleh, C., 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, Vol. 8 No. 2, pp.63-69.
- Mashroh, L.F. 2010. *Isolasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Ekstrak Heksana Daun Pecut Kuda (Stachyharpeheta jamaicensis L.vahl)*. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Maulida dan Zulkarnaen, 2010. Ekstraksi Antioksidan (likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solvent Campuran N-Heksana, Aseton dan Etanol. Jurusan Teknik Kimia FATEK UNDIP. Semarang.
- Nasution, M. 2014. Pengantar Mikrobiologi. Medan. USU Press.
- Ncube N, Afolayan SAJ, Okoh AI, 2008. Assessment Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: current methods and future trends. *Afr. J. Biotechnol.* 7(12): 1797-1806.
- Ni Ketut Sinarsih, Wiwik Susanah Rita*, Ni Made Puspawati Program Studi Magister Kimia Terapan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali-Indonesia. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. Volume 4, Nomor 2, Oktober 2016.
- Ningsih. D.R., Zufahair, Dwi Kartika. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, *Molekul*. 2016. 11(1):101-111
- Nugroho, Ardiyanto W. 2017. Review: Konservasi Keanekaragaman Hayati melalui Tanaman Obat dalam Hutan di Indonesia dengan Teknologi Farmasi: Potensi dan Tantangan. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2017. Vol 1. No 7. *p-ISSN: 2303-0267, e-ISSN: 2407-6082*.

- Nugroho, Y.A., 2012. Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper betle* L.) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus scutellaroides* (L.) R. BR.) Leaf, Madu dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag. *Media Litbang Kesehatan*, Vol. 22 No. 1, pp.1-5.
- Nuroniah, H. S dan A.S. Kosasih. 2010. Mengenal jenis trembesi (*Samanea saman* (jacquin). Merrill) sebagai pohon peneduh. *Jurnal Mitra Hutan Tanaman*, 5 (1): 1-5.
- Permenkes, R., 2012. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007*. Jakarta.
- Prasad, R.N., S. Viswanathan., J.R. Devi., V. Nayak., V.C. Swetha., B.R Archana., N. Parathasarathy and J. Rajkumar. 2008. Short Communication, Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *Samanea saman*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (10) : 268-270.
- Prasetyo dan Entang, 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat – Obat (Bahan Simplicia)*, Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB, Bengkulu.
- Pratiwi, T.S., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta, Hal 188-190
- Prihatna, K. 2001. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Penelitian Perkebunan Gambung. Bandung.
- Purves, W.K. dan D.E. Sadava. 2003. *Life the Science of Biology*. 7th ed. New York: Sinauer Associates Inc.
- Purwanto, S., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan*, Vol. 2 No. 2.
- Rachmawaty, F.J., 2018. Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai antibakteri terhadap *Bakteri staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, Vol. 18 No.1, pp.13-19.
- Raghavendra, M. P., S. Satish dan K. A., Raveesha, 2008, In-vitro Antibacterial Potential of Alkaloids of *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Against *Xanthomonas* and Human Pathogenic Bacteria. *World Journal of Agricultural Science*, 4 (1): p.100-105.
- Risnasari, I. 2002. Tanin. Digital Library Universitas Sumatera Utara.[terhubung berkala]. <http://library.usu.ac.id/download/fp/Hutan-Iwan6.pdf>.
- Rivai, H., Nurdin, H., suyani, H. dan bakhtiar, A., 2010. Pengaruh cara Pengeringan Terhadap Perolehan Ekstraktif, Kadar Senyawa Fenolat Dan

aAktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC.).
Majalah Obat Tradisional, Vol. 15 No. 1, pp.26-33.

Saifudin, Azwar. 2011. *Metode Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Sapri, Fitriani, A., Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim ISBN: 978-602-19421-0-9*

Sari, L.O.R.K., 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 3 No. 1, pp.01-07.

Sentana, O.M., Haryati, S., Mariyah, Y. 2011. Efek Anthelmintik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum americanum*) terhadap kematian *Ascaris suum* secara *in vitro*. *Biofarmasi*. Vol. 9, No.1, Hal. 1-6. ISSN: 1693-2242.

Siswandono, Bambang S. 2000. *Kimia Medisinal Edisi I*. Surabaya: Airlangga university Press.

Staples, G.W. dan Elevitch, C.R., 2006, Samanea saman (Trembesi), ver. 2.1. In: C.R Elevitch (ed). *Species Profiles For Pacific Island Agroforestry, Permanent Agriculture Resources (PAR)*

Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi, 2007. *Analisa Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.

Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta. Hal: 60-64.

Sujarweni, V.W., 2012. *SPSS untuk Paramedis*. Yogyakarta: Gava Medika.

Suliantari. 2009. Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Penghambatan Ekstrak Sirih Hijau (*Piper btle* Linn) Terhadap Bakteri Patogen Pangan, *Disertasi*, Bogor: Jurusan Ilmu Pangan Sekolah Pasca Sarjana IPB.

Susanto, Sudrajat, dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*. Vol.11, No. 12, hal. 181–190.

Tambayong, J. 2009. *Mikrobiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika.


Tiwari, P., 2011. *Phytochemical Screening dan Extraction; A Review*. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), pp. 98-106

Triana, D., 2014. Frekuensi β -Lactamase Hasil Staphylococcus aureus Secara Iodometri. *Jurnal Gradien* , Vol. 2 No 2, pp.992-95.

- Uthia, R., Arifin, H. dan Efrianti, F., 2017. Pengaruh Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Aktivitas Susunan Saraf Pusat Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 9 No. 1, pp.85-95.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Voight, R., 1971. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi V, 558-564, 570. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wijaya, H., Novitasari dan Jubaidah, S., 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L.Engl). *Jurnal Ilmiah Manutung*, Vol. 4 No. 1, pp.79-83.
- Yamin, S. dan Kurniawan, H., 2014. *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yuliarti, Nurheti. 2009. *A to Z Food Supplement*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Yuliasih, e.a.n., 2007. Pengaruh Proses Fraksinasi Pati Sagu terhadap Karakteristik Fraksi Amilosanya. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, Vol.17 No.1, pp.29-36.
- Zubaidah, K. 2006. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Brawijaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Trembesi (*Samanea saman*)



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

Nomor : 074/ 371A/ 102.7/ 2018
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Trembesi

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : TRIONO ABDUL MALIK
NIM : 1513206020
Fakultas : S-1 FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG


1. Perihal determinasi tanaman trembesi
Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Fabales
Famili : Fabaceae
Subfamili : Mimosoideae
Genus : Albizia
Spesies : *Samanea saman* (Jacq.) Merr.
Sinonim : *Albizia saman* (Jacq.) Merr.
Nama Umum : Ki hujan, pohon hujan, trembesi.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54a-55a-56b-1b-1.

2. Morfologi : Pohon Trembesi mempunyai batang yang besar, bulat dan tinggi antara 10-20 meter. Permukaan batangnya beralur, kasar dan berwarna coklat kehitam-hitaman. Daunnya majemuk dan menyirip ganda. Tiap helai daun berbentuk bulat memanjang dengan panjang antara 2-6 cm dan lebar antara 1-4 cm dengan tepi daun rata. Warna daun hijau dengan permukaan licin dan tulang daun menyirip. Bunga Trembesi berwarna merah kekuningan. Buahnya berwarna hitam berbentuk polong dengan panjang antara 30-40 cm. Dalam buah terdapat beberapa biji yang keras berbentuk lonjong dengan panjang sekitar 5 mm berwarna coklat kehitaman.

3. Nama Simplisia : *Samanea folium*/ Daun trembesi.
4. Kandungan : Daun mengandung tanin, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan glikosida kardiak.
5. Penggunaan : Penelitian. 6. Daftar Pustaka
* Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 29 November 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 19611702 199103 1 003

Lampiran 2. Perhitungan Uji Kadar Air

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$1. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{10,05\text{g} - 9,05\text{g}}{10,05\text{g}} \times 100\%$$

$$= 9,95 \%$$

$$2. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{10,05\text{g} - 9,15\text{g}}{10,05\text{g}} \times 100\%$$

$$= 8,95 \%$$

$$3. \text{ Kadar air (\%)} = \frac{10,05\text{g} - 9,25\text{g}}{10,05\text{g}} \times 100\%$$

$$= 7,96 \%$$

$$\text{Rata-rata \% Hasil} = \frac{9,95\% + 8,95\% + 7,96\%}{3}$$
$$= 7,96 \%$$

Keterangan : Bobot awal = bobot simplisia sebelum dioven

Bobot akhir = bobot simplisia sesudah dioven

Lampiran 3. Perhitungan susut pengeringan

Bobot basah	5 kg	5 kg	5 kg
Bobot kering	3 kg	2,75 kg	2,25 kg

$$1. \text{ \% Susut Pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\%$$
$$= \frac{3 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\%$$
$$= 60\%$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ \% Susut Pengerinan} &= \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,75 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 55\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ \% Susut Pengerinan} &= \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,25 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% \\
 &= 45\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata \% Hasil Susut Pengerinan} \\
 &= \frac{60\% + 55\% + 45\%}{3} \\
 &= 53,3\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

Bobot maserat daun trembesi <i>Samanea saman</i>	= 1. 47,32 g 2. 45g 3. 42,25g
Bobot fraksi <i>aqua destilata</i>	= 20,35 g
Bobot fraksi etil asetat	= -
Bobot fraksi n-heksan	= 4,48 g

a. Ekstrak Maserasi

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Bobot ekstrak } &\times 100\% \\
 \text{Bobot simplisia} \\
 &= \frac{47,32 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 9,464 \%
 \end{aligned}$$

2. $\frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$

Bobot simplisia

$$= \frac{45 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

500 gram

$$= 9 \%$$

3. $\frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$

Bobot simplisia

$$= \frac{42,25 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

500 gram

$$= 8,45 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata Hasil Rendemen Ekstrak} &= \frac{9,464\% + 9\% + 8,45\%}{3} \\ &= 8,97\% \end{aligned}$$

b. Fraksi *aqua destilata* = $\frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$

Bobot simplisia

$$= \frac{20,35 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

500 gram

$$= 4,07 \%$$

c. Fraksi etil asetat = $\frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$

Bobot simplisia

=

d. Fraksi n-heksan = $\frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$

Bobot simplisia

$$= \frac{4,48 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

500 gram

$$= 0,896 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

a. Perhitungan Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Bobot NB} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g}\end{aligned}$$

b. Perhitungan Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

$$\begin{aligned}\text{Bobot MSA} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{108}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1,08 \text{ g}\end{aligned}$$

c. Perhitungan Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Bobot NA} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 6. Pembuatan Larutan Uji Fraksi Dari Ekstrak Daun Trembesi

(*Samanea saman*)

a. Konsentrasi 1%

$$\begin{aligned}\text{Bobot Fraksi} &= \frac{1}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{1}{100} \times 5 \text{ ml} \\ &= 0,05 \text{ g}\end{aligned}$$

b. Konsentrasi 3%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Fraksi} &= \frac{3}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{3}{100} \times 5 \text{ ml} \\ &= 0,15 \text{ g} \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 5%

$$\begin{aligned} \text{Bobot Fraksi} &= \frac{5}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{5}{100} \times 5 \text{ ml} \\ &= 0,25 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 7. Data Hasil Orientasi

a. Data Hasil Orientasi Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat Daun Trembesi (*Samanea saman*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi	Konsentrasi uji (%)	Zona Hambat (mm)	Rata-rata
<i>Aqua destilata</i>	5	32,5	32,5
	10	33,5	33,5
N-heksan	5	33	33
	10	37,5	37,5
K (+)	-	37,5	37,5
K (-)	2	0	0

Fraksi	Konsentrasi uji (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		I	II	III	
<i>Aqua destilata</i>	1	10	10,5	15	11,8
	3	10	10,5	12,5	11
	5	11	10	19,5	13,5
N-heksan	1	11,5	10	11	10,8
	3	10,5	10	17,5	12,7
	5	10	10	11,5	10,5
K (+)	-	31	30,5	34	31,8
K (-)	5	7,5	7,5	7,5	7,5

**b. Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat Daun Trembesi
(*Samanea saman*) Terhadap *Staphylococcus aureus***

Fraksi	Konsentrasi uji (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
		I	II	III	
<i>Aqua destilata</i>	1	7,5	7	7	7,2
	3	10,5	10,5	10	10,3
	5	17,5	17	17	17,2
N-heksan	1	8	8,5	8	8,2
	3	10,5	10,5	10,5	10,5
	5	11,5	11	11	11,2
K (+)	-	31	31,5	31,5	31,3
K (-)	2	0	0	0	0

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

a. Daun Trembesi



b. Proses pembuatan simplisia *Samanea saman*





c. Proses pembuatan ekstrak *Samanea saman*



Maserasi



Ekstrak cair



Ekstrak kental

d. Skrining Fitokimia



Flavonoid



Tannin

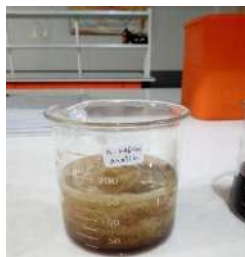


Saponin

e. Fraksinasi



Fraksinasi menggunakan corong pisah





Fraksi cair n-heksan

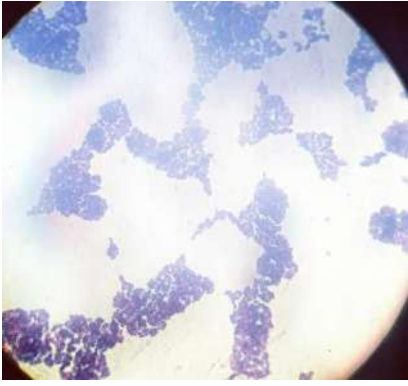


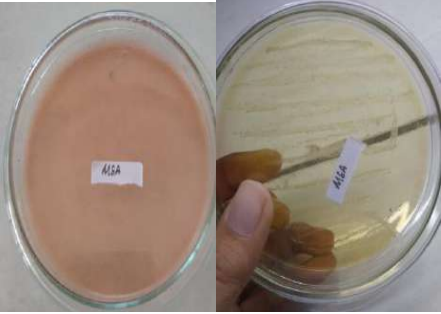


Fraksi cair *aqua destilata*

f. Pembuatan Suspensi Bakteri

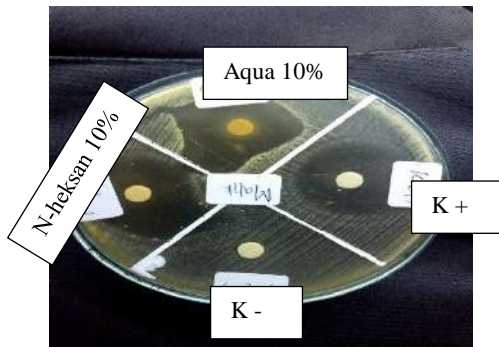
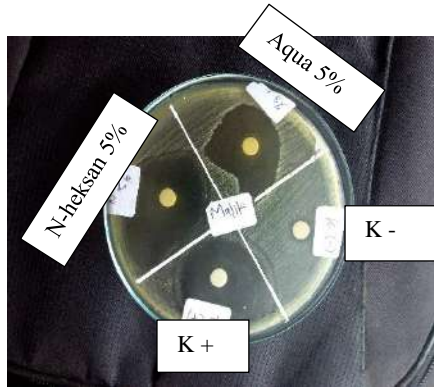
	
<p>0,5 Mc Farland</p>	<p>Spektrofotometri suspensi <i>Staphylococcus aureus</i></p>

g. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

	
<p>Pewarnaan Bakteri</p>	<p>Uji Koagulase</p>
	
<p>Uji Katalase</p>	<p>Media MSA</p>

**h. Orientasi Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat daun trembesi
Samanea saman Terhadap *Staphylococcus aureus***

Gambar



Keterangan

Aqua destilata 5%
N-heksan 5%
K (+) Kloramfenikol
K (-) DMSO 2%

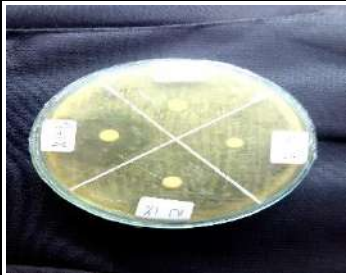








Aqua destilata 10%
N-heksan 10%
K (+) Kloramfenikol
K (-) DMSO 2%

Aqua destilata 1%
N-heksan 1%
K (+) Kloramfenikol
K (-) DMSO 5%

Aqua destilata 3%
N-heksan 3%
K (+) Kloramfenikol
K (-) DMSO 5%

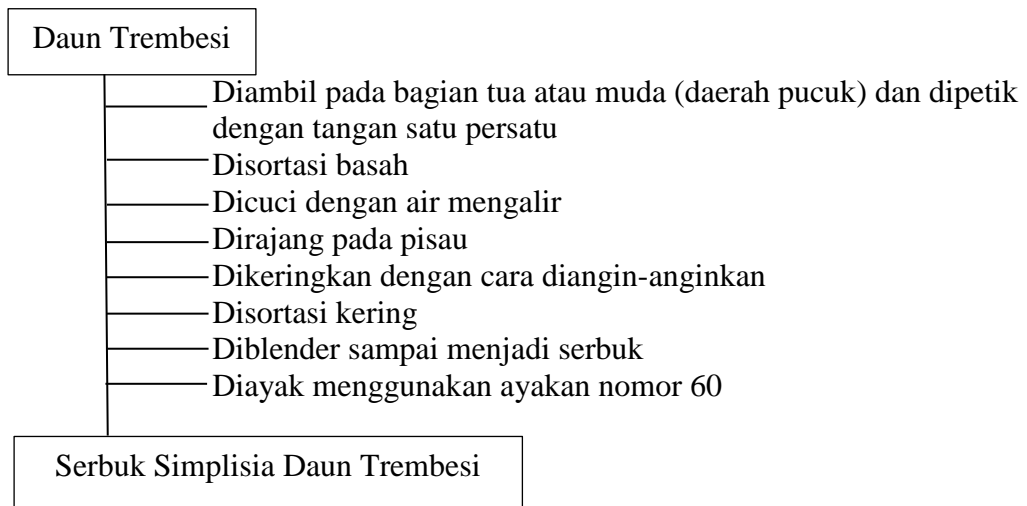


Aqua destilata 5%
 N-heksan 5%
 K (+) Kloramfenikol
 K (-) DMSO 5%

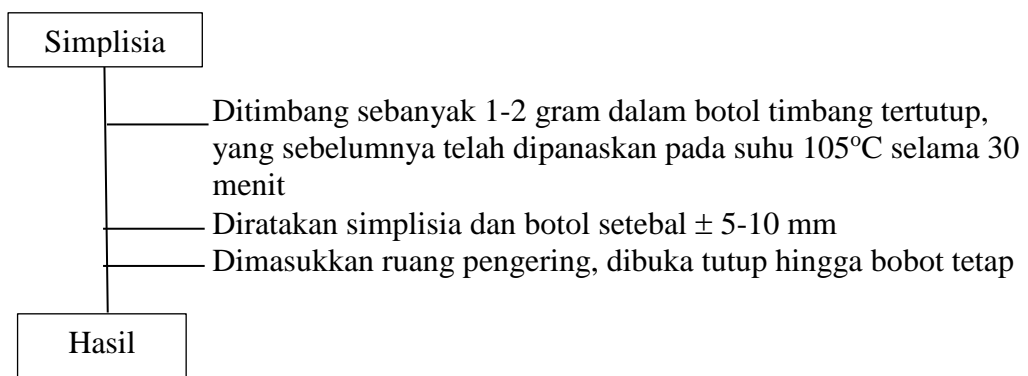
		
Rep. I Kosentrasi 1%	Rep. II Kosentrasi 1%	Rep. III Kosentrasi 1%
		
Rep. I Kosentrasi 3%	Rep. II Kosentrasi 3%	Rep. III Kosentrasi 3%
		
Rep. I Kosentrasi 5%	Rep. II Kosentrasi 5%	Rep. III Kosentrasi 5%

Lampiran 9. Alur Prosedur Kerja

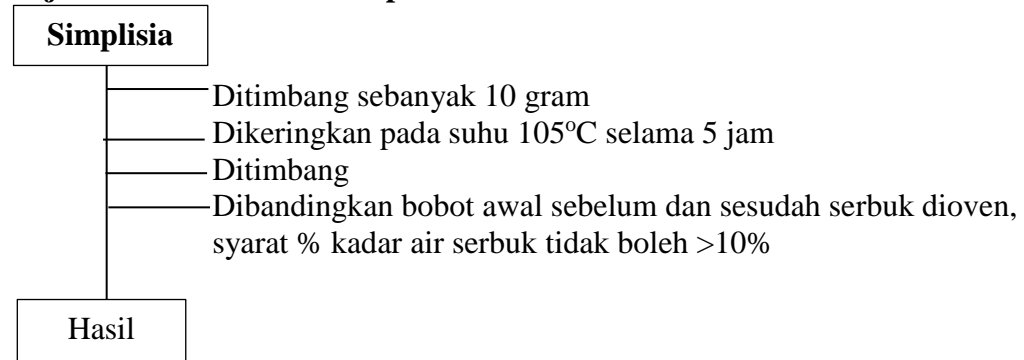
a. Pembuatan Simplisia



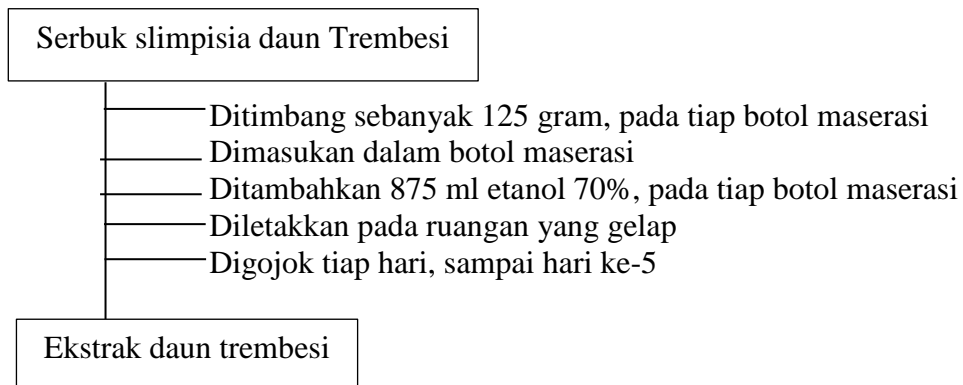
b. Uji Susut Pengeringan Simplisia



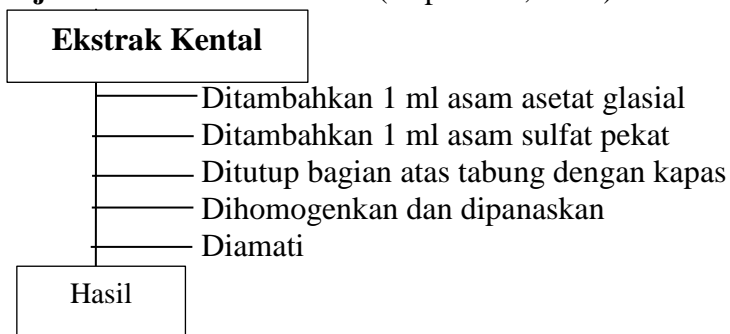
c. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia



d. Pembuatan Ekstrak

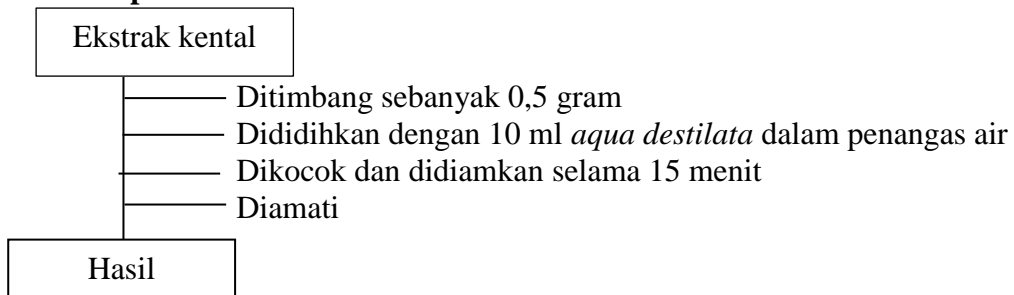


e. Uji Kadar Etanol Ekstrak (Depkes RI, 1995)



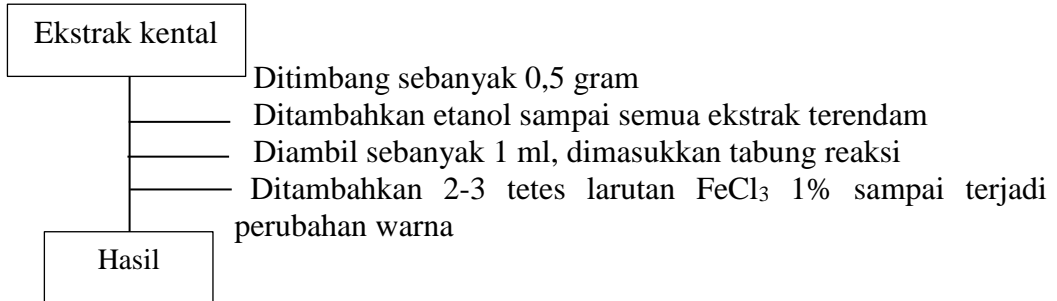
f. Skrining Fitokimia

1. Saponin



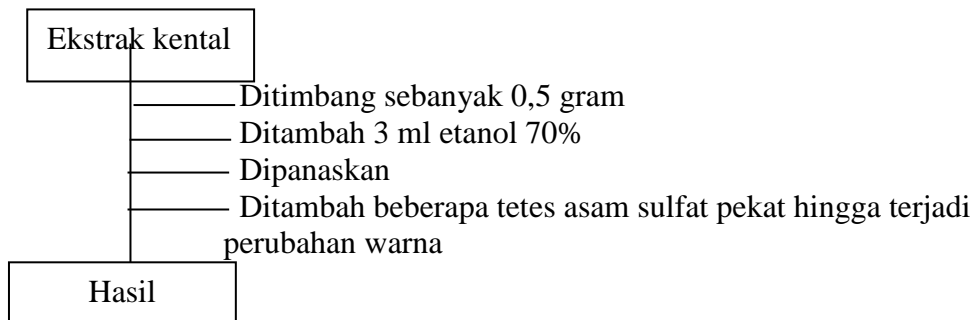
Keterangan : jika tidak ada busa = negatif, busa lebih dari 1 cm = positif lemah; busa dengan tinggi 1,2 cm = positif; dan busa lebih besar dari 2 cm = positif kuat

2. Tanin



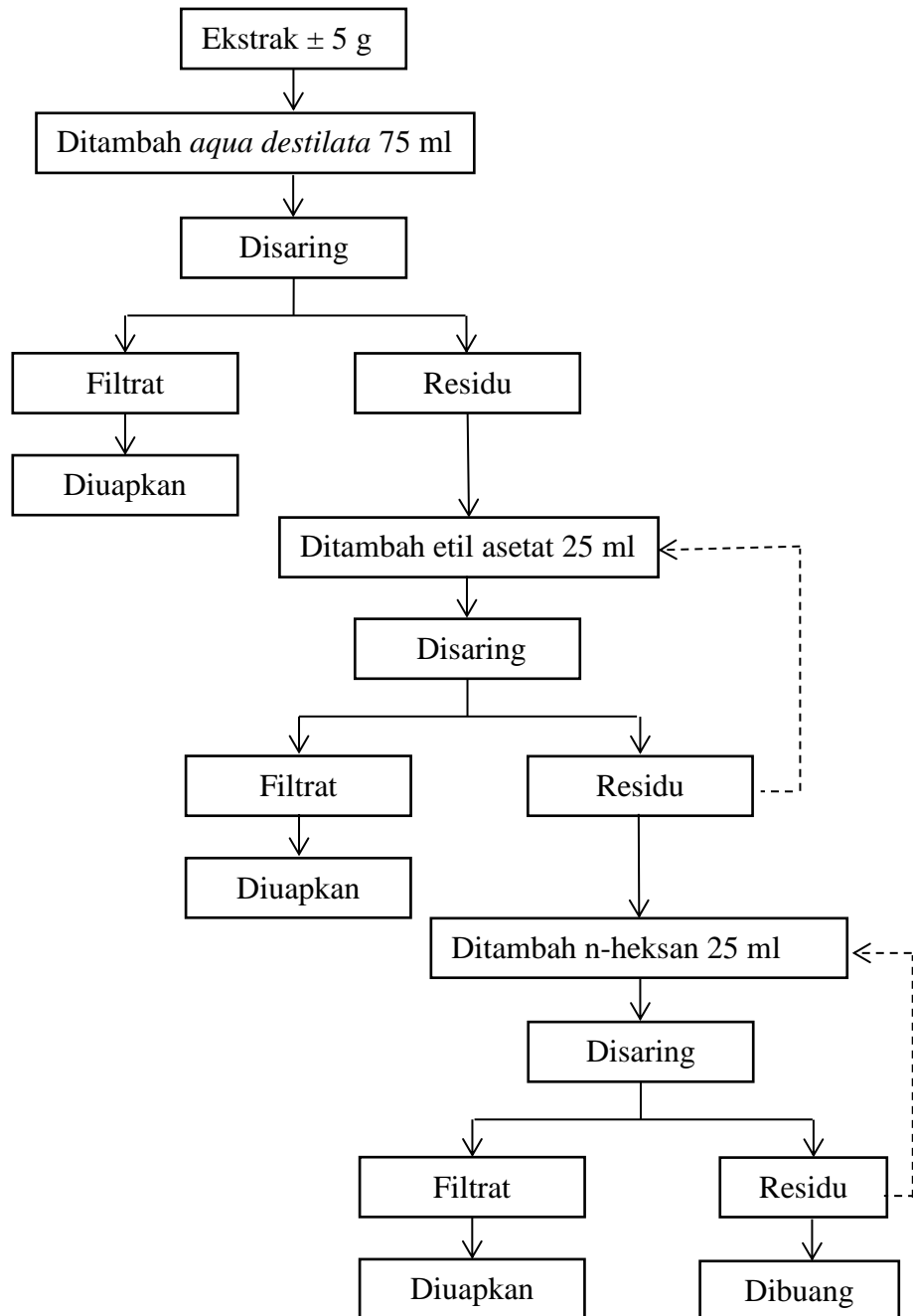
Keterangan: Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

3. Flavonoid



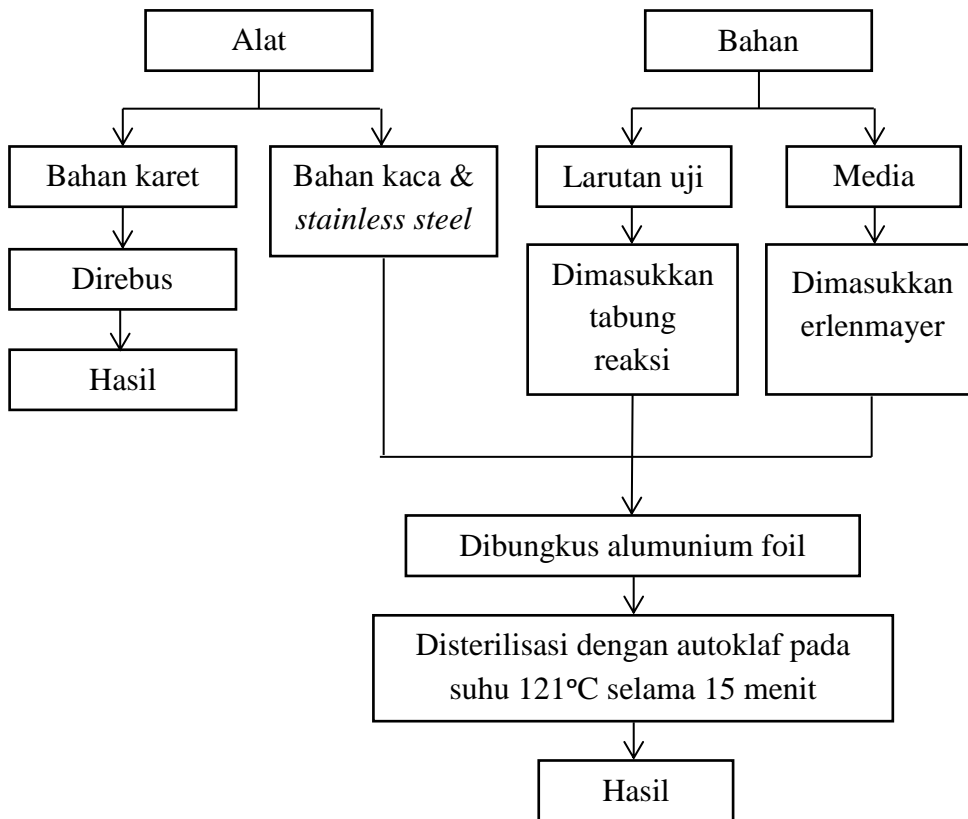
Keterangan: Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada lapisan etanol.

g. Fraksinasi

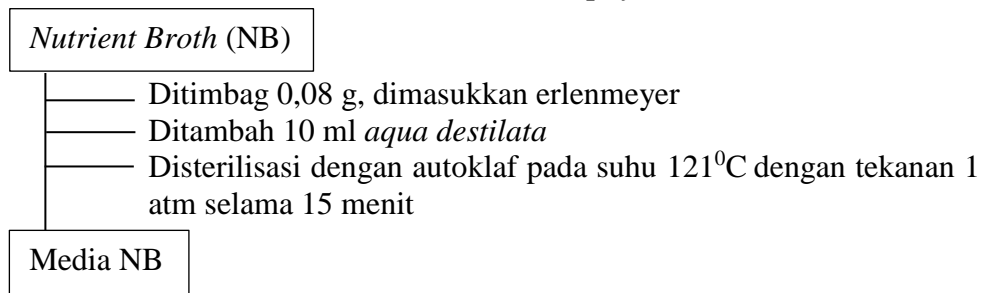


Keterangan: Tiap residu disari ±3 kali dengan masing – masing pelarut pada tiap fraksi sampai yang didapat ±100 ml pada tiap fraksi.

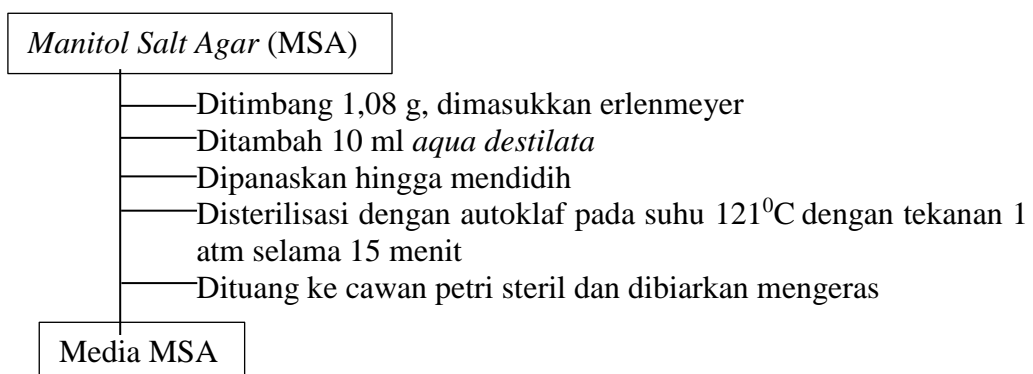
h. Sterilisasi Alat dan Bahan



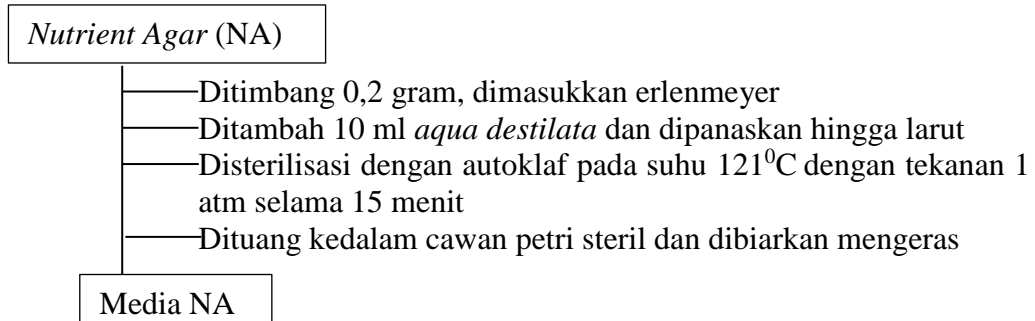
i. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*



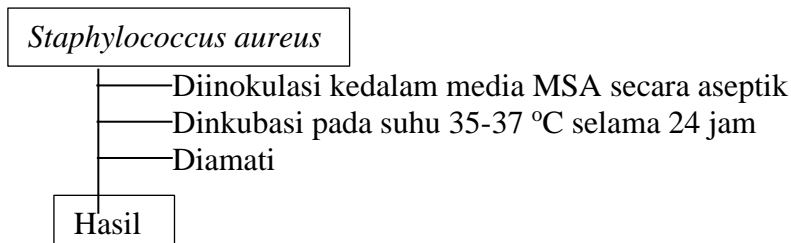
j. Pembuatan Media Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*



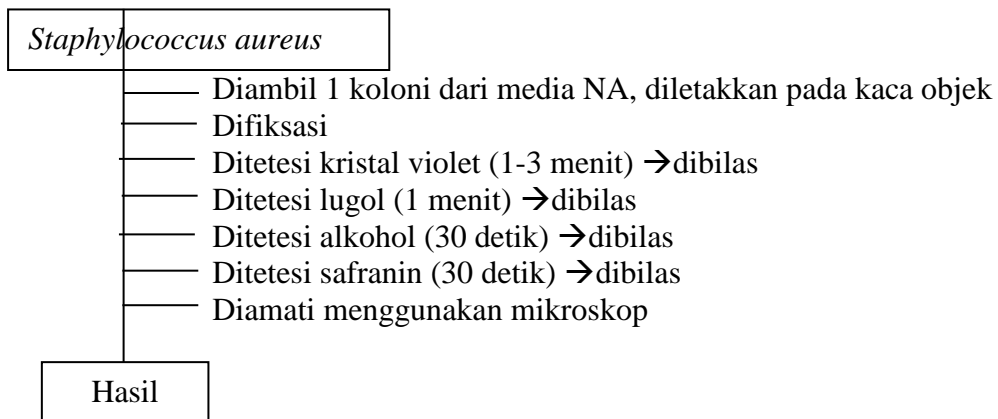
k. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*



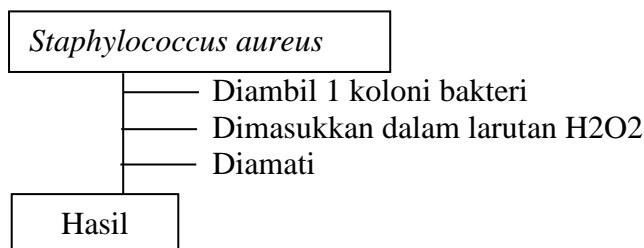
l. Uji Indentifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*



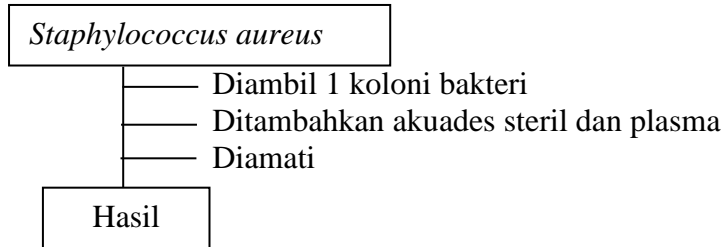
m. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Pewarnaan Bakteri)



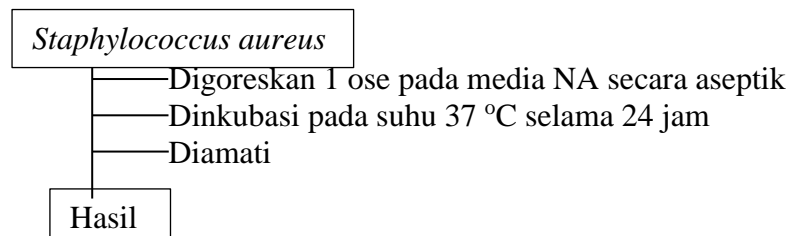
n. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Uji Koagulase)



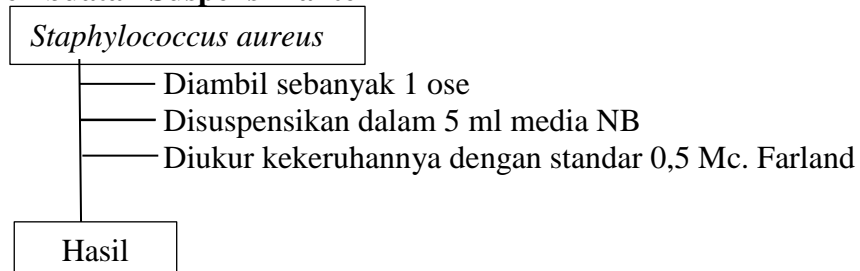
o. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus* (Uji Katalase)



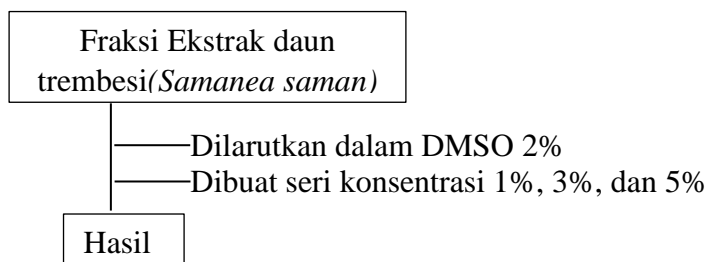
p. Peremajaan Bakteri Uji



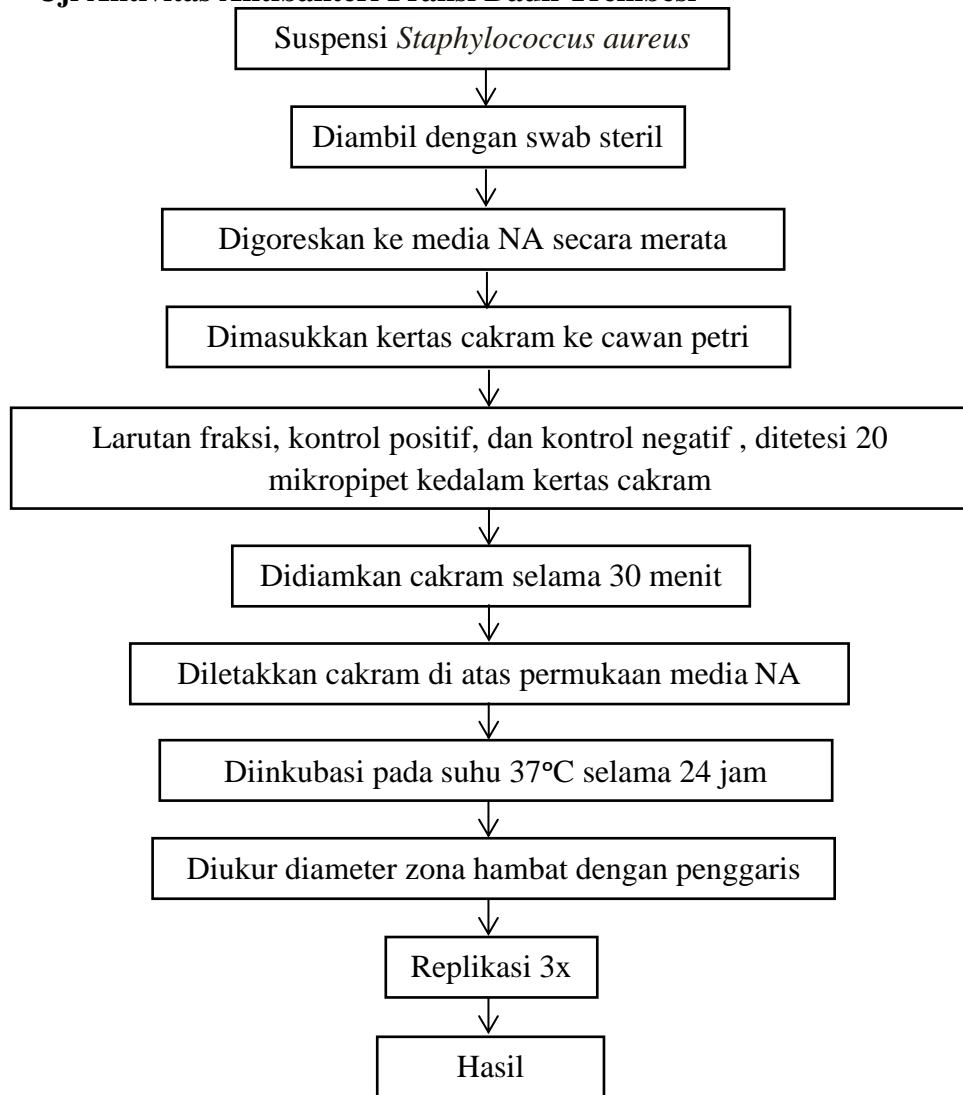
q. Pembuatan Suspensi Bakteri



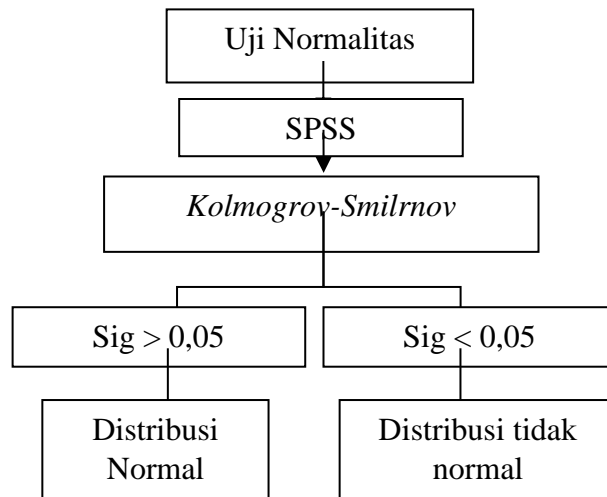
r. Pembuatan Larutan Uji



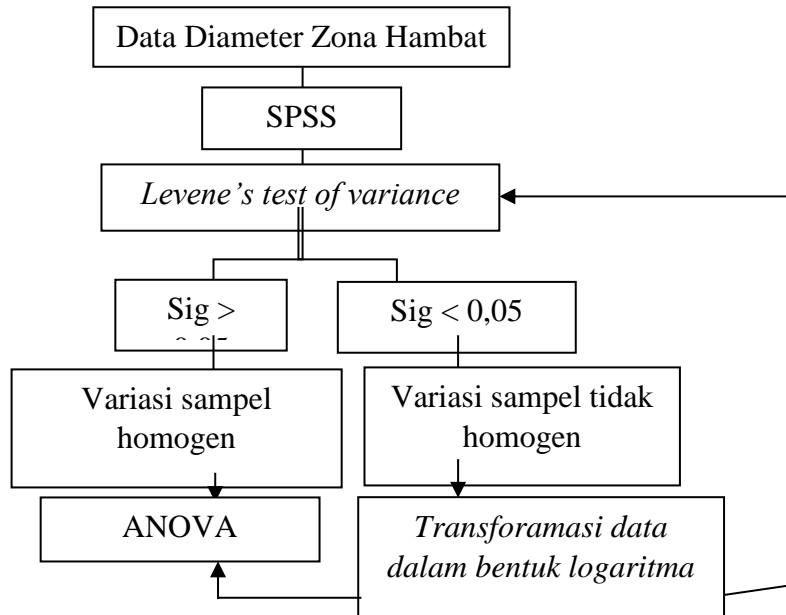
s. **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Trembesi**



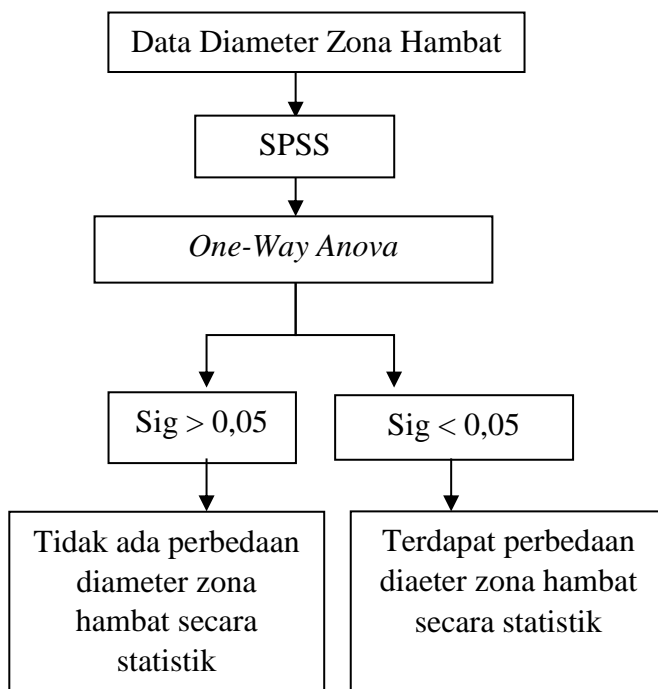
t. **Uji Normalitas**



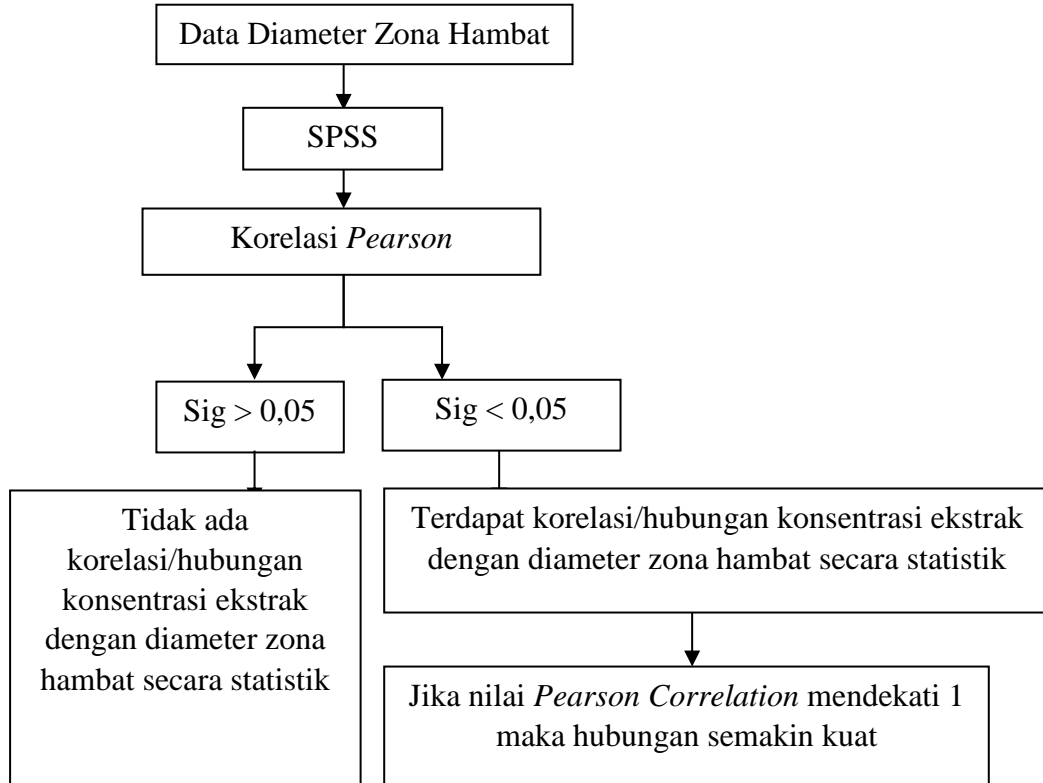
u. Uji Homogenitas



v. One Way Anova



w. **Korelasi *Pearson***



Lampiran 10. Hasil Analisis Data

a. INPUT DATA SPSS (Aquadest)

SERI KOSENTRASI	DAYA HAMBAT
Aquadest 1%	7.5
Aquadest 1%	7.0
Aquadest 1%	7.0
Aquadest 3%	10.5
Aquadest 3%	10.5
Aquadest 3%	10.0
Aquadest 5%	17.5
Aquadest 5%	17.0
Aquadest 5%	17.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
Kloramfenikol	31.0
Kloramfenikol	31.5
Kloramfenikol	31.5

b. INPUT DATA SPSS (N-heksan)

SERI KOSENTRASI	DAYA HAMBAT
N-heksan 1%	8.0
N-heksan 1%	8.5
N-heksan 1%	8.0
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 5%	11.5
N-heksan 5%	11.0
N-heksan 5%	11.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
Kloramfenikol	30.5
Kloramfenikol	30.5
Kloramfenikol	31.0

Lampiran 10. Hasil Analisis Data

a. INPUT DATA SPSS (Aquadest)

SERI KOSENTRASI	DAYA HAMBAT
Aquadest 1%	7.5
Aquadest 1%	7.0
Aquadest 1%	7.0
Aquadest 3%	10.5
Aquadest 3%	10.5
Aquadest 3%	10.0
Aquadest 5%	17.5
Aquadest 5%	17.0
Aquadest 5%	17.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
Kloramfenikol	31.0
Kloramfenikol	31.5
Kloramfenikol	31.5

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Seri_Kosentrasi	Daya_Hambat
N		15	15
Normal Parameters ^a	Mean	3.00	13.200
	Std. Deviation	1.464	10.9899
Most Extreme Differences	Absolute	.153	.197
	Positive	.153	.197
	Negative	-.153	-.147
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	.763
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875	.605
a. Test distribution is Normal.			

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Daya_Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.000	4	10	.034

ANOVA

Daya_Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1690.233	4	422.558	6.338E3	.000
Within Groups	.667	10	.067		
Total	1690.900	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Daya_Hambat

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Aquadest 1%	Aquadest 3%	-3.1667*	.2108	.000	-3.860	-2.473
		Aquadest 5%	-10.0000*	.2108	.000	-10.694	-9.306
		DMSO 2%	7.1667*	.2108	.000	6.473	7.860
		Kloramfenikol	-24.1667*	.2108	.000	-24.860	-23.473
	Aquadest 3%	Aquadest 1%	3.1667*	.2108	.000	2.473	3.860
		Aquadest 5%	-6.8333*	.2108	.000	-7.527	-6.140
		DMSO 2%	10.3333*	.2108	.000	9.640	11.027
		Kloramfenikol	-21.0000*	.2108	.000	-21.694	-20.306
	Aquadest 5%	Aquadest 1%	10.0000*	.2108	.000	9.306	10.694
		Aquadest 3%	6.8333*	.2108	.000	6.140	7.527
		DMSO 2%	17.1667*	.2108	.000	16.473	17.860
		Kloramfenikol	-14.1667*	.2108	.000	-14.860	-13.473

	DMSO 2%	Aquadest 1%	-7.1667*	.2108	.000	-7.860	-6.473
		Aquadest 3%	-10.3333*	.2108	.000	-11.027	-9.640
		Aquadest 5%	-17.1667*	.2108	.000	-17.860	-16.473
		Kloramfenikol	-31.3333*	.2108	.000	-32.027	-30.640
	Kloramfenikol	Aquadest 1%	24.1667*	.2108	.000	23.473	24.860
		Aquadest 3%	21.0000*	.2108	.000	20.306	21.694
		Aquadest 5%	14.1667*	.2108	.000	13.473	14.860
		DMSO 2%	31.3333*	.2108	.000	30.640	32.027
LSD	Aquadest 1%	Aquadest 3%	-3.1667*	.2108	.000	-3.636	-2.697
		Aquadest 5%	-10.0000*	.2108	.000	-10.470	-9.530
		DMSO 2%	7.1667*	.2108	.000	6.697	7.636
		Kloramfenikol	-24.1667*	.2108	.000	-24.636	-23.697
	Aquadest 3%	Aquadest 1%	3.1667*	.2108	.000	2.697	3.636
		Aquadest 5%	-6.8333*	.2108	.000	-7.303	-6.364
		DMSO 2%	10.3333*	.2108	.000	9.864	10.803
		Kloramfenikol	-21.0000*	.2108	.000	-21.470	-20.530

Aquadest 5%	Aquadest 1%	10.0000*	.2108	.000	9.530	10.470
	Aquadest 3%	6.8333*	.2108	.000	6.364	7.303
	DMSO 2%	17.1667*	.2108	.000	16.697	17.636
	Kloramfenikol	-14.1667*	.2108	.000	-14.636	-13.697
DMSO 2%	Aquadest 1%	-7.1667*	.2108	.000	-7.636	-6.697
	Aquadest 3%	-10.3333*	.2108	.000	-10.803	-9.864
	Aquadest 5%	-17.1667*	.2108	.000	-17.636	-16.697
	Kloramfenikol	-31.3333*	.2108	.000	-31.803	-30.864
Kloramfenikol	Aquadest 1%	24.1667*	.2108	.000	23.697	24.636
	Aquadest 3%	21.0000*	.2108	.000	20.530	21.470
	Aquadest 5%	14.1667*	.2108	.000	13.697	14.636
	DMSO 2%	31.3333*	.2108	.000	30.864	31.803

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

Homogeneous Subsets

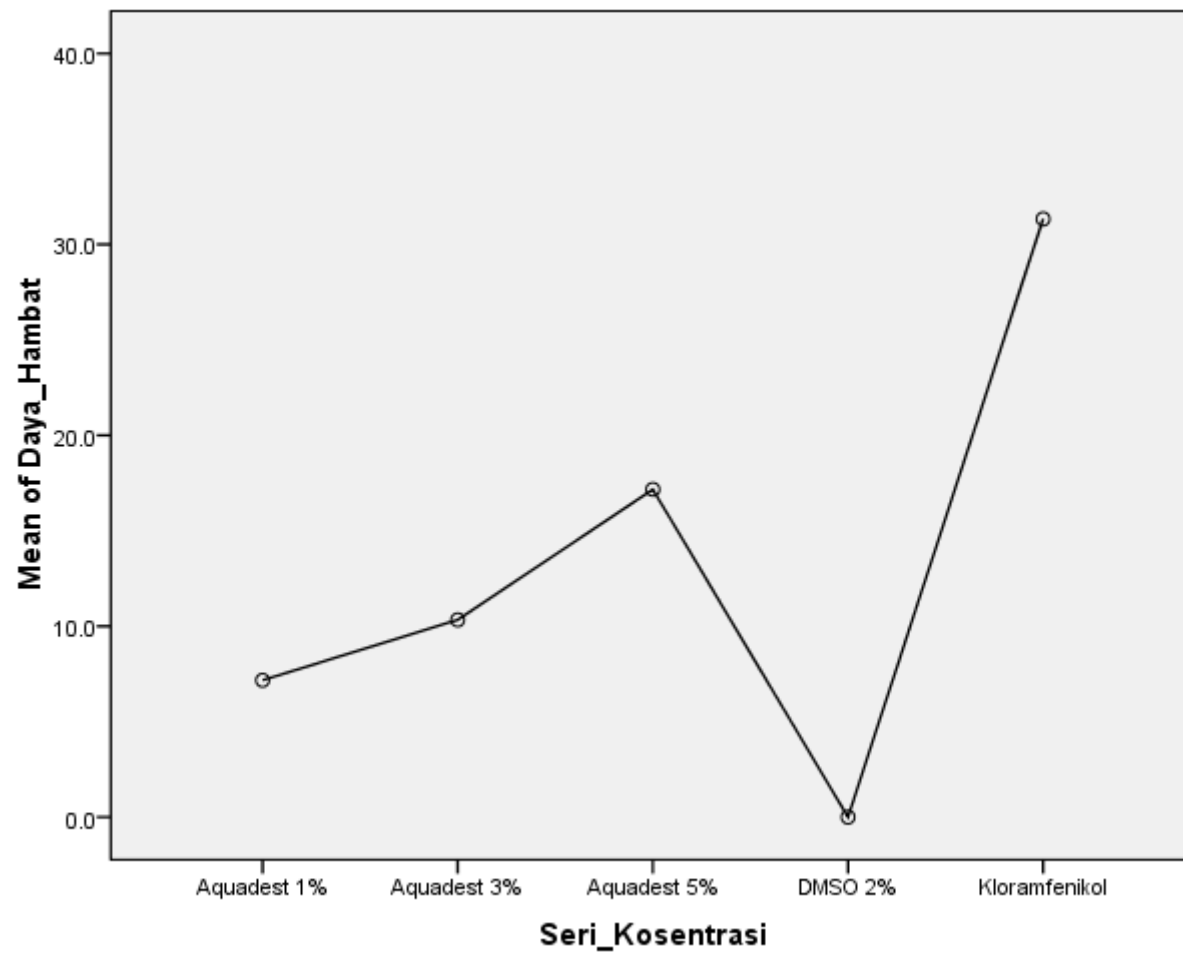
Daya_Hambat

		N	Subset for alpha = 0.05				
Seri_Kosentrasi	1		2	3	4	5	
Tukey HSD ^a	DMSO 2%	3	.000				
	Aquadest 1%	3		7.167			
	Aquadest 3%	3			10.333		
	Aquadest 5%	3				17.167	
	Kloramfenikol	3					31.333
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Means Plots



Correlations

Correlations

		Daya_Hambat	Seri_Kosentrasi
Daya_Hambat	Pearson Correlation	1	.506
	Sig. (2-tailed)		.054
	N	15	15
Seri_Kosentrasi	Pearson Correlation	.506	1
	Sig. (2-tailed)	.054	
	N	15	15

Nonparametric Correlations

Correlations

			Daya_Hambat	Seri_Kosentrasi
Spearman's rho	Daya_Hambat	Correlation Coefficient	1.000	.396
		Sig. (2-tailed)	.	.144
		N	15	15
	Seri_Kosentrasi	Correlation Coefficient	.396	1.000
		Sig. (2-tailed)	.144	.
		N	15	15

b. INPUT DATA SPSS (N-heksan)

SERI KOSENTRASI	DAYA HAMBAT
N-heksan 1%	8.0
N-heksan 1%	8.5
N-heksan 1%	8.0
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 3%	10.5
N-heksan 5%	11.5
N-heksan 5%	11.0
N-heksan 5%	11.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
DMSO 2%	0.0
Kloramfenikol	30.5
Kloramfenikol	30.5
Kloramfenikol	31.0

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Seri_Kosentrasi	Daya_Hambat
N		15	15
Normal Parameters ^a	Mean	3.00	12.100
	Std. Deviation	1.464	10.4560
Most Extreme Differences	Absolute	.153	.323
	Positive	.153	.323
	Negative	-.153	-.161
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	1.251
Asymp. Sig. (2-tailed)		.875	.088
a. Test distribution is Normal.			

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Daya_Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.000	4	10	.004

ANOVA

Daya_Hambat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1530.100	4	382.525	7.651E3	.000
Within Groups	.500	10	.050		
Total	1530.600	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:Daya_Hambat

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	N-heksan 1%	N-heksan 3%	-2.3333*	.1826	.000	-2.934	-1.732
		N-heksan 5%	-3.0000*	.1826	.000	-3.601	-2.399
		DMSO 2%	8.1667*	.1826	.000	7.566	8.768
		Kloramfenikol	-22.5000*	.1826	.000	-23.101	-21.899
	N-heksan 3%	N-heksan 1%	2.3333*	.1826	.000	1.732	2.934
		N-heksan 5%	-.6667*	.1826	.029	-1.268	-.066
		DMSO 2%	10.5000*	.1826	.000	9.899	11.101
		Kloramfenikol	-20.1667*	.1826	.000	-20.768	-19.566
	N-heksan 5%	N-heksan 1%	3.0000*	.1826	.000	2.399	3.601
		N-heksan 3%	.6667*	.1826	.029	.066	1.268
		DMSO 2%	11.1667*	.1826	.000	10.566	11.768
		Kloramfenikol	-19.5000*	.1826	.000	-20.101	-18.899

	DMSO 2%	N-heksan 1%	-8.1667*	.1826	.000	-8.768	-7.566
		N-heksan 3%	-10.5000*	.1826	.000	-11.101	-9.899
		N-heksan 5%	-11.1667*	.1826	.000	-11.768	-10.566
		Kloramfenikol	-30.6667*	.1826	.000	-31.268	-30.066
	Kloramfenikol	N-heksan 1%	22.5000*	.1826	.000	21.899	23.101
		N-heksan 3%	20.1667*	.1826	.000	19.566	20.768
		N-heksan 5%	19.5000*	.1826	.000	18.899	20.101
		DMSO 2%	30.6667*	.1826	.000	30.066	31.268
LSD	N-heksan 1%	N-heksan 3%	-2.3333*	.1826	.000	-2.740	-1.927
		N-heksan 5%	-3.0000*	.1826	.000	-3.407	-2.593
		DMSO 2%	8.1667*	.1826	.000	7.760	8.573
		Kloramfenikol	-22.5000*	.1826	.000	-22.907	-22.093
	N-heksan 3%	N-heksan 1%	2.3333*	.1826	.000	1.927	2.740
		N-heksan 5%	-.6667*	.1826	.004	-1.073	-.260
		DMSO 2%	10.5000*	.1826	.000	10.093	10.907
		Kloramfenikol	-20.1667*	.1826	.000	-20.573	-19.760

N-heksan 5%	N-heksan 1%	3.0000*	.1826	.000	2.593	3.407
	N-heksan 3%	.6667*	.1826	.004	.260	1.073
	DMSO 2%	11.1667*	.1826	.000	10.760	11.573
	Kloramfenikol	-19.5000*	.1826	.000	-19.907	-19.093
DMSO 2%	N-heksan 1%	-8.1667*	.1826	.000	-8.573	-7.760
	N-heksan 3%	-10.5000*	.1826	.000	-10.907	-10.093
	N-heksan 5%	-11.1667*	.1826	.000	-11.573	-10.760
	Kloramfenikol	-30.6667*	.1826	.000	-31.073	-30.260
Kloramfenikol	N-heksan 1%	22.5000*	.1826	.000	22.093	22.907
	N-heksan 3%	20.1667*	.1826	.000	19.760	20.573
	N-heksan 5%	19.5000*	.1826	.000	19.093	19.907
	DMSO 2%	30.6667*	.1826	.000	30.260	31.073

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

Homogeneous Subsets

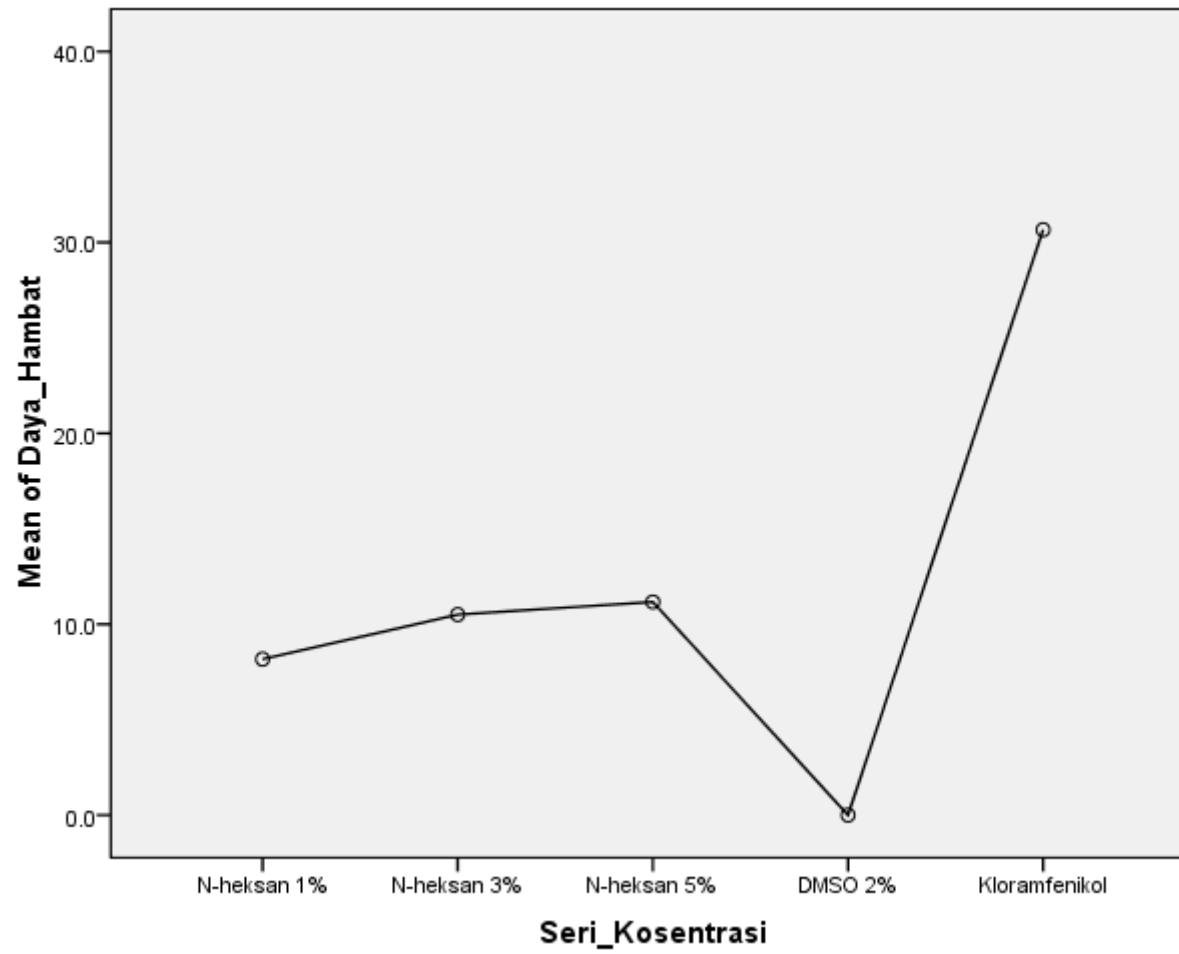
Daya_Hambat

		N	Subset for alpha = 0.05				
Seri_Kosentrasi			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	DMSO 2%	3	.000				
	N-heksan 1%	3		8.167			
	N-heksan 3%	3			10.500		
	N-heksan 5%	3				11.167	
	Kloramfenikol	3					30.667
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Means Plots



Correlations

Correlations

		Daya_Hambat	Seri_Kosentrasi
Daya_Hambat	Pearson Correlation	1	.483
	Sig. (2-tailed)		.068
	N	15	15
Seri_Kosentrasi	Pearson Correlation	.483	1
	Sig. (2-tailed)	.068	
	N	15	15

Nonparametric Correlations

Correlations

			Daya_Hambat	Seri_Kosentrasi
Spearman's rho	Daya_Hambat	Correlation Coefficient	1.000	.397
		Sig. (2-tailed)	.	.143
		N	15	15
	Seri_Kosentrasi	Correlation Coefficient	.397	1.000
		Sig. (2-tailed)	.143	.
		N	15	15