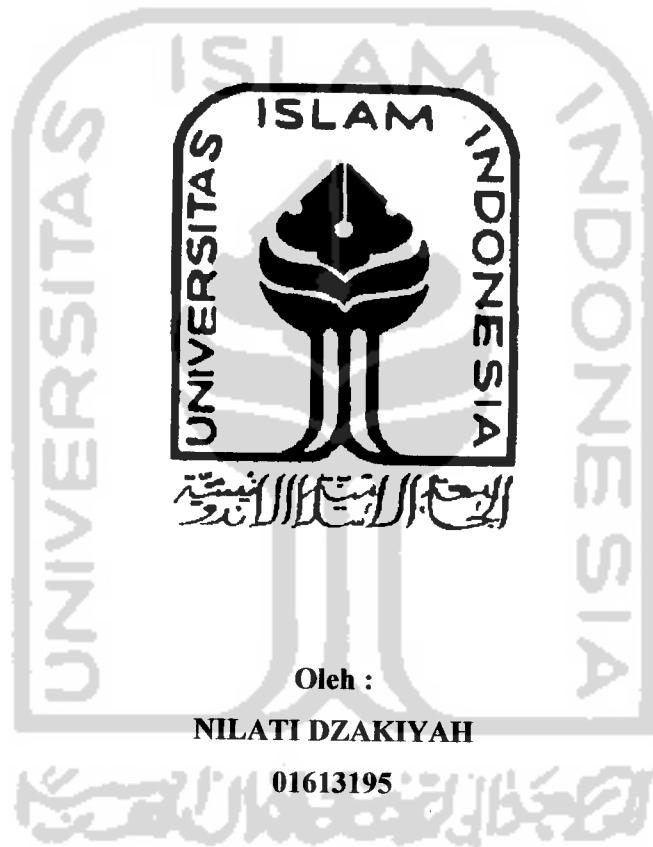


**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

SKRIPSI



Oleh :

NILATI DZAKIYAH

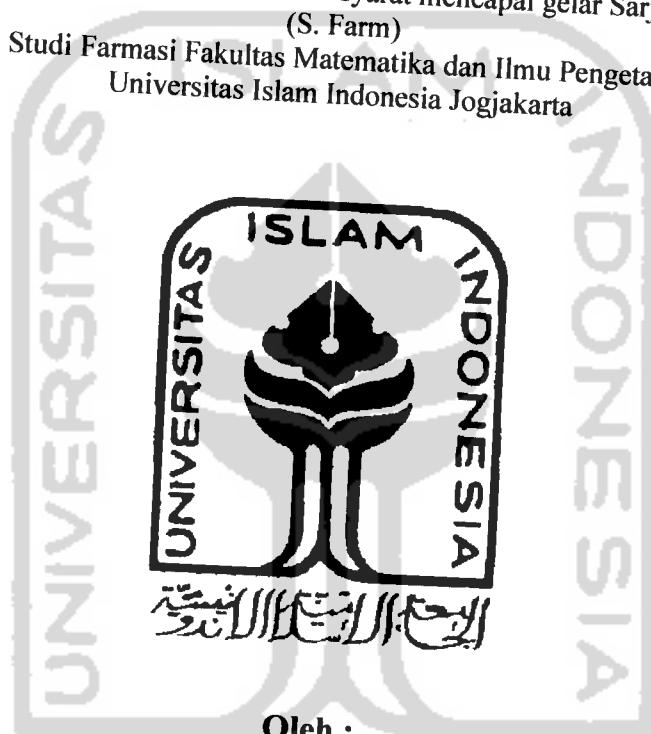
01613195

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
AGUSTUS 2006**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S. Farm)
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Jogjakarta



Oleh :

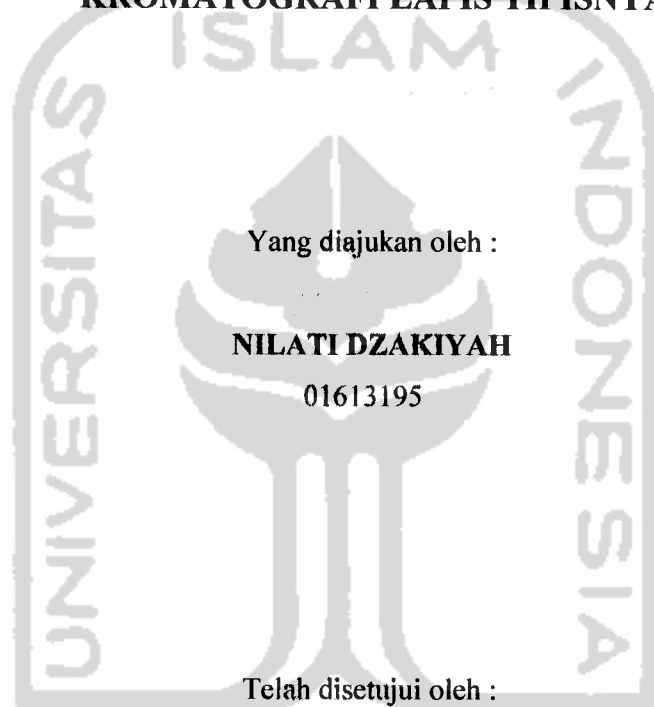
NILATI DZAKIYAH

01613195

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
AGUSTUS 2006**

HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**



Pembimbing Utama,

Dr. C. J. Soegihardjo, Apt

Pembimbing Pendamping,

Hady Anshory T, S.Si, Apt

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

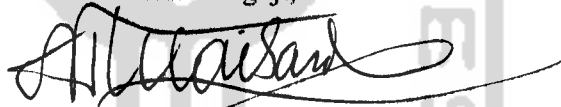
Oleh :
NILATI DZAKIYAH

01613195

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 16 Agustus 2006

Ketua Penguji,



Dr. C. J. Soegihardjo, Apt

Anggota penguji,




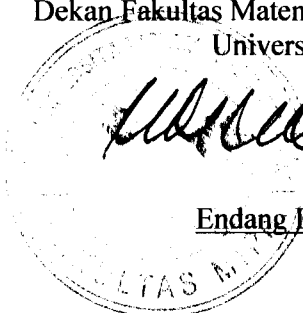
Hady Anshory T, S.Si, Apt

Anggota penguji



Indah Purwantini, M.Si, Apt

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Endang Darmawan, M.Si, Apt

HALAMAN PERNYATAAN

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

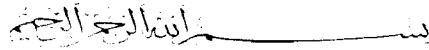


Jogjakarta, Agustus 2006

Penulis

Nilati Dzakiyah

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi **“UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS”**. Skripsi ini disusun guna melengkapi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis telah banyak memperoleh bantuan, dorongan dan pengarahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, tiada lain yang dapat penulis sampaikan selain ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada semua pihak yang telah membantu sampai terselesaikannya penulisan ini terutama kepada :

1. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan dari awal sampai terselesainya penulisan skripsi ini.
2. Hady Anshory, S.Si, Apt, selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dari awal sampai terselesainya penulisan skripsi ini.
3. Indah Purwantini, M.Si, Apt, selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan, kritikan, dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini.
4. Endang Darmawan, M.Si, Apt, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia
5. Yandi Syukri, M.Si, Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi FMIPA atas segala bimbingan dan masukannya.

6. Dra. Iyok Budiarti yang telah memberikan bantuan dalam determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini.
7. Seluruh Dosen dan Karyawan Jurusan Farmasi, FMIPA UII.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Harapan penulis semoga penelitian ini dapat memperkaya ilmu pengetahuan khususnya di Bidang Biologi Farmasi. Amin
Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Jogjakarta, Agustus 2006

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
INTISARI	ix
ABSTRACT	x
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Uraian dari tanaman <i>Terminalia catappa</i> , L.....	3
2. Uraian tentang senyawa-senyawa kimia	4
3. Uraian tentang Kromatografi Lapis Tipis	6
4. Uraian tentang teknik penyarian	8
5. Uraian tentang bakteri, jamur, dan mekanisme kerja antimikrobia	11
6. Uraian tentang media	16
7. Sterilisasi	18
8. Pengujian aktivitas antimikrobia	19
B. Keterangan Empirik.....	20
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Alat dan Bahan	
1. Alat yang digunakan	21
2. Bahan yang digunakan	21

B. Cara Penelitian	
1. Determinasi tanaman ketapang	22
2. Pengumpulan bahan	22
3. Penyarian serbuk.....	22
4. Uji antimikrobia	23
5. Pemeriksaan kandungan senyawa dengan KLT	24
C. Analisis Data	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi tanaman	26
B. Pengumpulan bahan	26
C. Penyarian serbuk	27
D. Hasil uji antimikrobia	28
E. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	45
B. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kromatogram KLT untuk mendeteksi saponin pada fraksi etanol.....	38
Gambar 2. Kromatogram KLT untuk mendeteksi flavonoid pada fraksi petroleum eter	40
Gambar 3. Kromatogram KLT untuk mendeteksi tanin pada ekstrak air.....	42



DAFTAR TABEL

Tabel I.	Hasil penyarian daun ketapang.....	28
Tabel II.	Hasil uji antimikrobia fraksi petroleum eter, etanol, dan air terhadap <i>S. aureus</i>	30
Tabel III.	Hasil uji antimikrobia fraksi petroleum eter, etanol, dan air terhadap <i>E. coli</i>	31
Tabel IV	Hasil uji antimikrobia fraksi petroleum eter, etanol, dan air terhadap jamur <i>Candida albicans</i>	32
Tabel V	Uji Tukey fraksi petroleum eter terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	33
Tabel VI	Uji Tukey fraksi etanol terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	34
Tabel VII	Uji Tukey ekstrak air terhadap bakteri <i>S. Aureus</i>	34
Tabel VIII	Uji Tukey fraksi petroleum eter terhadap jamur <i>Candida albicans</i>	35
Tabel IX	Uji Tukey fraksi etanol terhadap jamur <i>Candida albicans</i>	35
Tabel X	Data uji KLT senyawa saponin pada fraksi etanol	38
Tabel XI	Data uji KLT senyawa flavonoid pada fraksi petroleum eter.....	40
Tabel XII	Data uji KLT senyawa tanin pada ekstrak air	41
Tabel XIII	Kandungan senyawa kimia pada fraksi yang mampu memberikan hambatan pertumbuhan atau membunuh mikrobia uji	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Foto tanaman ketapang	49
Lampiran 2	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi petroleum eter terhadap <i>S. aureus</i>	50
Lampiran 3	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap <i>S. aureus</i>	50
Lampiran 4	Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap <i>S. aureus</i>	51
Lampiran 5	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi petroleum eter terhadap <i>E. coli</i>	51
Lampiran 6	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap <i>E. coli</i> .	52
Lampiran 7	Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap <i>E. coli</i>	52
Lampiran 8	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi petroleum eter terhadap <i>Candida albicans</i>	53
Lampiran 9	Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap <i>Candida albicans</i>	53
Lampiran 10	Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap <i>Candida albicans</i>	54
Lampiran 11	Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dideteksi di bawah UV ₂₅₄	55
Lampiran 12	Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dideteksi di bawah UV ₃₆₆	55
Lampiran 13	Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dideteksi di bawah sinar tampak	56
Lampiran 14	Foto kromatogram uji senyawa flavonoid dari fraksi petroleum eter dan etanol, di deteksi dibawah UV ₂₅₄	56
Lampiran 15	Foto kromatogram uji senyawa flavonoid dari fraksi petroleum eter dan etanol, di deteksi dibawah UV ₃₆₆	57
Lampiran 16	Foto kromatogram uji senyawa flavonoid dari fraksi petroleum eter dan etanol, dideteksi dibawah sinar tampak ..	57
Lampiran 17	Foto kromatogram uji senyawa tanin dari fraksi etanol,	

	dideteksi di bawah UV ₂₅₄	58
Lampiran 18	Foto kromatogram uji senyawa tanin dari fraksi etanol, dideteksi di bawah UV ₃₆₆	58
Lampiran 19	Foto kromatogram uji senyawa tanin dari fraksi etanol, dideteksi di bawah sinar tampak	59
Lampiran 20	Hasil anova satu arah dan uji Tukey ekstrak daun ketapang terhadap <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> dan <i>Candida albicans</i>	60



UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*, L) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* DAN *Candida albicans* SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

INTISARI

Daun ketapang dapat digunakan sebagai obat luka. Diduga daun ketapang ini mempunyai aktivitas sebagai antimikrobia. Dengan informasi di atas dijadikan acuan untuk melakukan penelitian tentang aktivitas senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman ketapang terutama yang berkhasiat sebagai antimikrobia menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans*.

Pertama kali yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pengumpulan dan penyarian bahan. Penyarian daun ketapang menggunakan alat Soxhlet dengan menggunakan pelarut berturut-turut petroleum eter, dan etanol. Selanjutnya dilakukan penyarian menggunakan alat infusa dengan pelarut air. Fraksi yang didapat kemudian dilakukan pengujian terhadap aktivitas antimikrobia dengan metode difusi cara sumuran. Untuk mengidentifikasi secara kualitatif kandungan senyawa dalam fraksi digunakan metode Kromatografi Lapis Tipis.

Fraksi petroleum eter, etanol, dan air mempunyai aktivitas antimikrobia terhadap *S. aureus*. Pada *E. coli* tidak ditemukan zona hambatan dari ketiga fraksi. Fraksi petroleum eter dan etanol mempunyai aktivitas antimikrobia terhadap *Candida albicans*. Dari uji Kromatografi Lapis Tipis didapatkan bahwa dalam fraksi petroleum eter terdapat flavonoid, sedangkan dalam fraksi etanol terdapat saponin, dan dalam fraksi air terdapat senyawa tanin.

Kata kunci : *Terminalia catappa*, L. , antimikrobia, Kromatografi Lapis Tipis.

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE LEAVES OF KETAPANG
(*Terminalia catappa*, L) AGAINST *Staphylococcus aureus*,
Escherichia coli AND *Candida albicans* WITH PROFILE THIN LAYER
CHROMATOGRAPHY**

ABSTRACT

Leaves of *Tropical almond* can be used as medicine to any injures. It is presumed that the *Tropical almond* leaves have activity to antimicrobial. Based on the information, in order to do the investigation of the chemical compounds activities, especially which have benefit as antimicrobial activity by using bacteria of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and a fungus of *Candida albicans*.

First must be done in the present study is collecting and looking for the materials. The looking for the materials of *Tropical almond* used Soxhlet tool by using successive solvent of petroleum ether, ethanol. Then it was done a testing with an infuse mean by using a water solvent. Frachsi that was obtained then was tested for its antimicrobial activity by a diffusion method. To identify qualitatively the compound inside the frachsi have been used the method of Thin Layer Chromatography.

Petroleum ether and ethanol frachsi also water have antimicrobial activity to *S. aureus*. *Escherichia coli* not did give any resistance zones. Meanwhile for *Candida albicans* only petroleum ether and ethanol frachsi which have activity as antimicrobial. From Thin Layer Chromatography test shown that in petroleum ether frachsi contained flavonoid, while in ethanol frachsi contained and saponin, and in water frachsi contained tannin.

Keywords : *Terminalia catappa*, L., antimicrobial, Thin Layer Chromatography.



Persembahan

bimaa allamtunni wa'allimnii maa yanfa'un wa'ala
ilman maa yanfa'unii.



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Karya ini, dengan segenap rasa, aku persembahkan kepada Allah SWT sebagai
Kupersembahkan kepada Allah SWT sebagai
Sumber kekuatan, pengharapan, serta satu salafat yang
dalam perjalanan panjang episode kehidupan ini.
Ibu Bapakku sebagai
Sebagai ungkapan rasa hormat dan terima kasih
Atas setiap tetes keringat dan air mata yang mereka curahkan
Serta atas tiap bisikan do'a yang mereka kirimkan untukku.
Adeh! Uu! Arzin dan Astri, ayo aku tunggu kalian disini.
Si kecil Arby yang aku sayang
Noer F, "cahaya hati" thanks for all

Serta Almamanah

doa dan dukungannya selama ini.

Suzhie, Dietha, Dyah makasih yo semuanya.....besok qt reuni bawa ke...

Ika, Dwi terima kasih atas semua bantuan dan masukannya

teman ngelabku, Yanti.....cepat donk diselesein

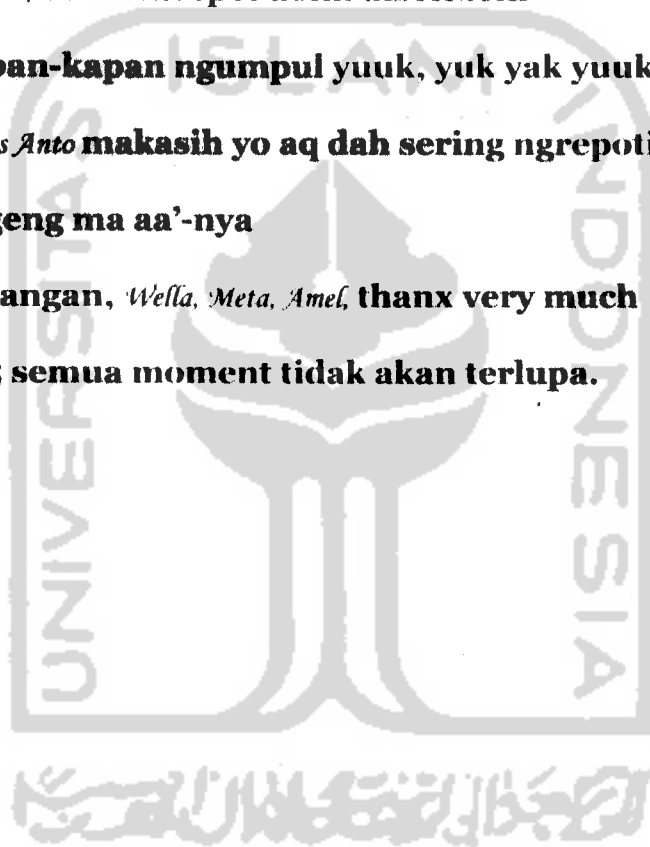
all Papharazhy, kapan-kapan ngumpul yuuk, yuk yak yuuk

Mas Yus, Melani, Mas Anto makasih yo aq dah sering ngrepotin kalian

lilieq, moga langgeng ma aa'-nya

temen2 seperjuangan, Wella, Meta, Amel, thanx very much

KKN Unit BT 75 semua moment tidak akan terlupa.



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat-obat tradisional selain menggunakan bahan ramuan dari tumbuhan yang mudah didapat di sekitar pekarangan rumah kita sendiri, juga tidak mengandung resiko yang membahayakan bagi pasien dan mudah dikerjakan dalam keadaan mendesak sekalipun. Obat tradisional adalah bahan baku atau ramuan bahan berupa tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Thomas, 1998; Anonim, 1995).

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan obat tradisional telah digunakan oleh sebagian besar rakyat Indonesia secara turun-temurun. Keuntungan penggunaan obat tradisional ialah karena mudah diperoleh dan bahan bakunya dapat ditanam di pekarangan sendiri, murah dan dapat diramu sendiri di rumah (Anonim, 1980). Pengetahuan tentang tanaman obat, merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman, yang secara turun-temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya termasuk generasi saat ini (Wijayakusuma, 1993).

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk obat tradisional adalah ketapang yang merupakan tumbuhan tropis. Biasanya daun ketapang digunakan sebagai obat disentri, batuk, asma, sakit kepala, gangguan perut, demam, luka, pendarahan pada gigi, kusta, masalah tenggorokan dan mulut. Kandungan kimia yang ada dalam daun ketapang adalah saponin, flavonoid, dan tannin (Tomlinson, 1986). Senyawa flavonoid diduga mempunyai aktivitas terhadap bakteri dengan cara membentuk kompleks dengan protein yang terdapat pada dinding maupun protoplas sel sedangkan senyawa tanin diduga memiliki aktivitas menginaktivasi enzim dan transfer protein membentuk kompleks dengan sakarida dan menghambat pertumbuhan serta aktivitas protease (Cowan, 1999). Senyawa saponin diduga dapat meningkatkan permeabilitas atau kebocoran membran sel

lipid sehingga mengakibatkan kematian sel karena kehilangan bahan-bahan yang esensial dari sel.

Pada penelitian terdahulu terhadap daun ketapang didapat hasil bahwa daun ketapang dapat digunakan untuk mengobati kelainan sel darah merah di mana kandungan dari daun ketapang adalah flavonoid, saponin, dan tanin (Anonim, 2003). Untuk membuktikan bahwa daun ketapang terdapat aktivitas antimikrobia maka perlu diadakan pemeriksaan aktivitas antimikrobia terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan adalah :

1. Apakah fraksi petroleum eter, etanol, dan air daun ketapang mempunyai aktivitas antimikrobia terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*?
2. Golongan senyawa kimia apa yang terdapat dalam fraksi petroleum eter, etanol, dan air daun ketapang?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikrobia daun ketapang terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* serta profil Kromatografi Lapis Tipis dari fraksi petroleum eter, etanol, dan air.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian dari tumbuhan Ketapang adalah sebagai berikut :

a. Klasifikasi

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Combretaceae
Marga	: Terminalia
Jenis	: <i>Terminalia catappa</i> L (Backer and Bakhuizen,

1965)

b. Sinonim

Tropical almond, Singapore almond, Alemendro, Myrobalan.

c. Nama umum/dagang :

Ketapang.

d. Nama daerah :

Aceh	: Geutapang
Nias	: Katafa
Madura	: Katapang
Sunda	: Katapang
Ternate	: Ngusu (Heyne, 1987).

e. Uraian tanaman :

Tumbuh liar sebagai tanaman tepi jalan, berkarakteristik seperti pagoda, daun berbentuk rosette, selama musim panas daun akan rontok yang disertai dengan perubahan warna agak merah keemasan, pohon akan berganti daun dua kali setiap tahun pada Januari-Februari dan Juli-Agustus. Pohon akan kehilangan semua daunnya ketika mencapai umur 3-4 tahun, panjang buah kira-

kira 2 inci, rata dan datar, kehijauan atau kemerahan, terdiri dari satu biji, termasuk kelompok buah yang berkulit (Anonim, 1986).

f. Khasiat

Disentri, reumatik, batuk, asma, kusta, sakit kepala, mual, perawatan problem mata, luka, menghentikan pendarahan pada pencabutan gigi, gangguan liver, sakit perut, kudis, sakit kulit, problem tenggorokan dan mulut.

g. Kandungan kimia dalam daun

Saponin, flavonoid, tanin (Tomlinson, 1986).

2. Uraian tentang senyawa-senyawa kimia

a. Saponin

Saponin atau glikosida sapogenin adalah salah satu tipe dari glikosida yang tersebar luas dalam tanaman. Tiap saponin terdiri dari sapogenin yang merupakan molekul aglikon dan sebuah gula. Saponin mempunyai rasa pahit, semua saponin mudah berbusa bila dikocok dengan air, membentuk emulsi minyak dalam air dan digunakan sebagai koloid pelindung. Meskipun hampir tidak toksik pada manusia, tetapi saponin mempunyai kemampuan untuk menghemolisa darah jika diinjeksikan ke dalam pembuluh darah (Windholz, 1968).

Golongan senyawa saponin dapat dideteksi dengan pereaksi semprot vanillin asam sulfat dan anisaldehyda, asam sulfat akan memberikan bercak warna biru atau biru violet, kadang-kadang bercak kekuningan. Bercak akan berwarna merah violet pada sinar tampak, biru atau fluoresensi hijau di bawah UV (Wagner dkk, 1984).

Saponin mempunyai karakteristik membentuk larutan koloid di dalam air yang akan membentuk busa jika dikocok, memiliki rasa pahit, tajam, dan kandungan di dalamnya mampu mengiritasi membran mukosa, merusak sel darah merah dengan menghemolisanya dan toksik terhadap hewan berdarah dingin, biasanya digunakan untuk racun ikan. Saponin juga dapat digunakan untuk menaikkan daya diuretika, serta merangsang kerja ginjal. Dalam pengobatan tradisional sering digunakan untuk mengobati rematik (Claus dkk, 1970).

b. Flavonoid

Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Pada tumbuhan tinggi flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga. Sebagai pigmen bunga flavonoid berperan jelas dalam menarik burung dan serangga penyerbuk bunga (Robinson, 1995).

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Di samping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas (Harborne, 1995).

c. Tanin

Tanin disebut juga asam tanat atau asam galonat. Tannin terdapat luas dalam tanaman berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Senyawa tannin diartikan sebagai senyawa alami dengan bobot molekul antara 500-3000. tannin mempunyai sejumlah gugus hidroksi fenolik dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan biopolimer lain misalnya selulosa dan pektin. Senyawa polifenol yang mempunyai bobot molekul rendah dapat mengikat protein, tapi bersifat labil. Sedangkan yang mempunyai bobot molekul tinggi tidak mempunyai sifat penyamak karena ukurannya besar yang dapat menghambat penetrasi ke kolagen (Manitto, 1992).

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Menurut batasannya, tanin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harbone, 1987).

Senyawa-senyawa tanin merupakan penghambat enzim yang kuat bila terikat pada protein. Bila dikecap akan memberikan rasa kelat dalam mulut, sama dengan rasa sehabis makan buah yang masam. Reaksi ini disebabkan oleh pengendapan glikoprotein tertentu yang terdapat dalam air ludah, yang biasanya mempunyai sifat sebagai pelumas. Dalam buah, tingkat polimerasi dari tanin

bertambah bila buah makin masak, sehingga kemampuan mengikat protein menjadi berkurang (Manitto, 1981).

Tanin dapat digunakan sebagai berikut.

- (1) Sebagai zat astringen, merupakan manfaat karakteristik,
- (2) mempresipitasikan gelatin,
- (3) mencegah infeksi luka karena mempunyai daya antiseptik, dan
- (4) sebagai obat luka bakar dengan cara mempresipitasikan protein (Robbers dkk, 1996).

3. Uraian tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih. Salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam absorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Anonim, 1995).

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembang). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi).

Untuk campuran yang tidak diketahui, lapisan pemisah (sifat penyerap) dan sistem larutan pengembang harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerja sama untuk mencapai pemisahan. Selain itu, hal yang juga penting adalah memilih kondisi kerja yang optimum yang meliputi sifat pengembang, atmosfer bejana, dan lain-lain.

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya

kapiler, yang digunakan hanyalah gaya pelarut yang bertingkat mutu analit dan bila diperlukan sistem pelarut multi komponen ini harus suatu campuran sederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (Stahl, 1985).

Sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Salah satu alasannya adalah untuk mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen yang memiliki sifat polar yang tinggi (terutama air) dalam campuran cukup akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik akan memberikan fase-fase bergerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dari dua komponen, terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan fase terhadap perubahan suhu. Kemurnian pelarut adalah penting dalam lapisan tipis daripada bentuk-bentuk dari kromatografi lain, karena disini digunakan sejumlah materi yang sedikit (Sastrohamidjojo, 1991).

Penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa, kieselgur dan turunan poliamida. Penyerap yang paling banyak digunakan adalah silika gel. Dengan silika gel senyawa netral yang mempunyai gugusan sampai tiga, pasti dapat dipisahkan pada lapisan yang diaktifkan dengan pelarut organik atau campuran pelarut yang normal. Sebagian besar silika gel bersifat sedikit asam sehingga asam lebih mudah dipisahkan (Stahl, 1985).

Fase diam dalam KLT adalah suatu lapisan yang dibuat dari bahan-bahan berbutir-butir halus yang ditempatkan dalam lempengan. Sifat-sifat umum penyerap untuk KLT adalah ukuran partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terdapat penyokong sangat tergantung pada mereka. Ukuran partikel yang biasa digunakan adalah 1-25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk menaikkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus (Sastrohamidjojo, 1991).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf. Angka Rf berjarak antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hRf ialah angka Rf dikalikan faktor 100 (h),

menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100. Tetapi, karena Rf merupakan fungsi sejumlah faktor, angka ini harus dianggap sebagai petunjuk saja (Stahl, 1985).

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

— Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode kromatografi cair yang paling sederhana selain kromatografi kertas. Metode sederhana, cepat dalam pemisahan dan tinggi serta mudah memperoleh kembali senyawa-senyawa yang terpisahkan. Biasanya yang sering digunakan sebagai materi pelapisnya adalah silika gel, tetapi kadangkala serbuk selulosa dan tanah diatome, kieselguhr juga dapat digunakan. Menetesnya sample yang akan dipisahkan dapat digunakan suatu *microsyringe* (penyuntik berukuran mikro). Sample diteteskan pada salah satu bagian tepi pelat kromatografi (sebanyak 0,01 µg zat). Pelarut harus nonpolar dan mudah menguap. Kelebihan KLT yang lain ialah pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit (Gritter, *et al.*, 1991).

4. Uraian tentang teknik penyarian

a. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Anonim, 1995). Penyarian merupakan proses pemisahan dimana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Kegunaan yang besar dari penyarian adalah kemungkinan pemisahan dua senyawa atau lebih berdasarkan perbedaan koefisien distribusinya (Sudjadi, 1988). Sari adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh matahari langsung (Anonim, 1972).

Tanaman yang akan digunakan dapat dikeringkan sebelum diekstraksi. Bila dilakukan pengeringan harus dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang terlalu banyak. Bahan dikeringkan secepat-

cepatnya, tanpa menggunakan suhu yang tinggi, lebih baik dengan aliran udara. Setelah betul-betul kering, tumbuhan dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama sebelum digunakan untuk analisis (Harborne, 1972).

Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (galih, biji kering, akar, daun) ialah dengan cara mengekstraksi serbuk bahan dengan alat Soxhlet yang menggunakan sederet pelarut (untuk memisahkan lipid dan terpenoid) yang berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak bumi dan kloroform. Kemudian digunakan alkohol dan etil asetat (untuk senyawa yang semi polar). Metode ini berguna bila kita bekerja dengan skala gram. Tetapi jarang sekali kita mencapai pemisahan kandungan dengan sempurna dan senyawa yang sama mungkin saja terdapat (dalam perbandingan yang berbeda) dalam beberapa ekstrak (Voigt, 1995).

b. Cara penyarian

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (Anonim, 1986) :

1) Infundasi

Infundasi adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

2) Maserasi

Maserasi (*macerare* = mengairi, melunakkan) adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari, menurut pengalaman 5 hari telah

memadai. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Persyaratannya adalah bahwa rendaman tadi harus dikocok berulang-ulang (kira-kira 2 kali sehari). Melalui upaya ini dapat dijamin konsentrasi bahan ekstraksif yang lebih cepat di dalam cairan (Voigt, 1995).

Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan didalam sel dengan larutan diluar sel (Anonim, 1986).

3) Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi (Anonim, 1986). Perkolasi (*percolate* = penetesan) dilakukan dalam wadah berbentuk silinder atau kerucut (*percolator*) yang memiliki jalan masuk dan jalan keluar sesuai. Bahan pengeksraksi yang dialirkan secara kontinyu, akan terjadi ekstraksi yang sempurna dari simplisia. Oleh karena itu, akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan sekelilingnya, maka pada perkolasi melalui suplai bahan pelarut segar, perbedaan konsentrasi tadi selalu dipertahankan (Voigt, 1995).

4). Penyarian berkesinambungan

Soxhletasi adalah suatu cara untuk menyari simplisia yang diteliti dengan pelarut yang dipanaskan secara berkesinambungan dengan menggunakan alat Soxhlet (Ansel, 1989). Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tanaman dengan mengekstrak serbuk bahan dengan alat Soxhlet menggunakan pelarut secara berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak tanah, dan kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid). Kemudian digunakan alkohol dan etil asetat untuk senyawa yang lebih polar (Harborne, 1987).

Soxhletasi atau ekstraksi merupakan proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berurutan beberapa kali. Serbuk yang akan diekstraksi diletakkan pada kelongsong (terbuat dari kertas saring yang kuat) dan diletakkan pada bagian dalam alat Soxhlet. Kemudian dipasang labu alas bulat yang sesuai ukurannya dan diisi pelarut sehingga terjadi sirkulasi dua kali. Bagian atas dipasang pendingin balik. Pelarut dididihkan, sehingga uap akan keluar keatas melalui pipa menuju ke pendingin dan akan dikondensasikan. Uap yang telah dikondensasikan akan turun sebagai tetesan pelarut dan dijatuhkan ke kelongsong, perlahan-lahan memenuhi alat Soxhlet. Setelah larutan mencapai, pelarut akan mengalir turun ke labu, dengan demikian zat dikatakan telah mengalami satu kali sirkulasi. Proses ini akan berlangsung terus-menerus secara otomatis sampai penyarian sempurna. Kekurangan alat ini adalah temperatur berada dibawah temperatur didihnya, sehingga temperatur pelarut untuk menyari rendah dan penyarian berlangsung relatif lama. Hal ini nampak jika kelarutan zat meningkat dengan kenaikan temperatur (Vogel, 1964).

5. Uraian tentang bakteri, jamur dan mekanisme kerja antimikrobia

Pengukuran aktivitas antibakteri secara *in vitro* dimaksudkan agar dapat ditentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan. Konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan serta kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz dkk, 1991). Antibakteri dari sari (ekstrak) tanaman biasanya digunakan metode penetapan standar secara *in vitro* dengan menggunakan bakteri pathogen dan non pathogen. Paling sedikit digunakan satu bakteri Gram positif dan satu bakteri Gram negatif, biasanya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dalam pengukuran antimikroba ini digunakan *Candida albicans* sebagai antijamur. Berdasarkan sifat pengecatannya, bakteri dibedakan atas : bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tahan terhadap alkohol, sehingga tetap mengikat warna cat pertama dan tidak mengikat warna cat kedua, sehingga bakteri berwarna ungu. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang pada

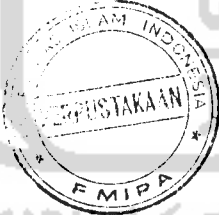
pegecatan Gram tidak tahan terhadap alkohol sehingga warna cat yang pertama akan dilunturkan dan bakteri tampak berwarna merah (Pelczar & Chan, 1988).

a. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus merupakan bakteri yang berbentuk bulat, dalam media padat membentuk koloni yang halus bergerombol seperti buah anggur dan mengkilat, sedang dalam media cair tersebar berderet. Berdasar pigmen yang dihasilkan, *Staphylococcus* digolongkan menjadi 3 jenis, yaitu :

- (1.) *Staphylococcus aureus*, dengan koloni berwarna kuning,
- (2.) *Staphylococcus citreus*, dengan koloni berwarna kuning kehijauan, dan
- (3.) *Staphylococcus albus*, dengan koloni berwarna putih.

Diantara marga *Staphylococcus* tersebut, yang mempunyai kemampuan terbesar untuk menimbulkan penyakit adalah *Staphylococcus aureus* (Jawetz dkk, 1991; Salle, 1961; Frobisher, 1974). *Staphylococcus aureus* termasuk jenis pathogen invasif cenderung menghasilkan koagulasi dan pigmen kuning, bersifat hemolitik, dan meragikan manitol (Jawetz, 1986). Klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut.

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizomycetes	
Bangsa	: Eubacteriales	
Suku	: Micrococcaceae	
Marga	: <i>Staphylococcus</i>	
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i>	

(Salle, 1961).

Beberapa *S. aureus* tergolong flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia lainnya dapat menyebabkan penanahan pada luka, abses, dermatitis, meningitis dan sebagainya. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada kulit saluran pencernaan, udara, makanan, air dan pakaian yang terkontaminasi bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang luka yang mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. Pada saluran pernafasan dapat menyebabkan pneumonia (Salle, 1961).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteri dalam keadaan aerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu 37°C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C). Batas-batas suhu untuk pertumbuhannya ialah 15°C dan 40°C, sedangkan suhu pertumbuhan optimum ialah 35°C. Pertumbuhan terbaik yang khas ialah pada suasana aerob, kuman inipun bersifat an aerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hydrogen dan pH optimum ialah 7,4 (Sujudi, 1993).

b. Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa menjadi asam dan gas, serta bersifat aerob dan an aerob. *Escherichia coli* secara normal terdapat di dalam saluran pencernaan sebagai flora usus. *Escherichia coli* yang pathogen dapat menyebabkan penyakit pada manusia, antara lain diare, infeksi kandung empedu, meningitis, endokarditis, radang dan sepsis (Jawetz dkk, 1986).

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut.

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Esterichia
Jenis	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Bakteri ini pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan diluar traktus intestinalis seperti saluran kencing, paru-paru, saluran empedu, peritoneum dan selaput otak. Pada keadaan kurang baik seperti prematur, usia tua, pada saat terserang penyakit tertentu atau setelah imunisasi. Bakteri ini dapat mencapai saluran darah dan terjadi sepsis *E. coli* diekskresikan dalam jumlah besar dalam feses, menyebabkan kontaminasi lingkungan termasuk tanah. Bakteri ini dapat bertahan hidup tanpa pertumbuhan untuk beberapa hari bahkan sampai beberapa minggu diluar tubuh. Bila *E. coli* ditemukan dalam persediaan

menandakan adanya kontaminasi dari feses manusia dan hewan (Jawetz, *et al.*, 1986).

Escherichia coli adalah bakteri batang pendek Gram negatif dengan ukuran 1,1-1,5 μm , kadang-kadang berbentuk oval bulat, tersusun tunggal atau berpasangan. Banyak galur mempunyai kapsul atau mikrokapsul. Bersifat fakultatif anaerob yang mempunyai tipe metabolisme respirasi maupun fermentasi (Sriwidodo, 1996).

c. Jamur *Candida albicans*

Klasifikasi *Candida albicans* sebagai berikut.

Divisi	: Mycota	
Kelas	: Eumycetes	
Bangsa	: Deuteromycetes	
Suku	: Pseudosacharomycetes	
Marga	: Cryptococcaceae	
Jenis	: <i>Candida albicans</i>	(Alexopoulos, 1970).

Candida albicans adalah jamur berbentuk oval, bersifat Gram positif, mempunyai sel-sel tunas memanjang menyerupai *hyphae* yang disebut pseudihyphae, juga memiliki *blastospora* dan *chlamydospora*. Jamur ini dapat memfermentasikan glukosa, maltosa, dan sukrosa, tetapi tidak dapat memfermentasikan laktosa. Berdasarkan sifat di atas dapat dibedakan *Candida albicans* dan jenis *Candida* yang lain (Romas, 1978).

Candida albicans dapat menimbulkan serangkaian penyakit pada beberapa lokasi, seperti.

1) Mulut, infeksi mulut

Terutama pada bayi, terjadi pada selaput lendir pipi dan tampak sebagai bercak-bercak putih yang sebagian besar terdiri dari pseudomiselium dan epitel terkelupas dan hyerosi minimal dari selaput lendir.

2) Genitalia wanita

Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat dan pengeluaran sekret.

3) Kulit

Infeksi kulit terutama pada bagian-bagian yang basah, hangat seperti ketiak, lipatan paha skrotum atau lipatan-lipatan di bawah payudara. Infeksi paling sering terjadi pada orang gemuk dan penderita diabetes.

4) Kuku

Rasa sakit, bengkak kemerahan pada lipatan kuku dapat mengakibatkan penebalan alur transversal dan akhirnya kehilangan kuku.

5) Paru-paru dan organ lain

Infeksi Candida dapat menyerupai invasi sekunder paru-paru, ginjal dan organ-organ lain dimana terdapat penyakit sebelumnya. Pada leukemia yang tidak terkontrol dan pada penderita yang mengalami penekanan imun atau pembedahan, lesi-lesi oleh Candida dapat terjadi pada banyak organ.

6) Kandidiasis mukokutan menahun

Kelainan ini merupakan tanda kegagalan kekebalan sekunder (Jawetz, *et al.*, 1986).

d. Mekanisme kerja antimikroba

Antimikroba adalah obat pembasmi bakteri maupun jamur, khususnya yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia ditentukan harus memenuhi toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya obat tersebut haruslah bersifat sangat toksis untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksis untuk hospes.

Peristiwa penghambatan pertumbuhan bakteri maupun jamur oleh bakteri maupun antijamur adalah melalui mekanisme tertentu, sesuai sifat bahan obat dan mikrobial yang digunakan. Berdasarkan mekanismenya, antimikroba dibagi dalam 4 kelompok :

- 1) Mengganggu metabolisme asam nukleat, misal aktinomisin D, doksorubisin, nitramisin, mikomisin, novobiasin, rifampisin, bleomisin,
- 2) Merusak membran sel bakteri, misal senyawa fenol, dan

- 3) Menghambat sintesis protein sel bakteri, misalnya basitrasin, sefalosporin, sikloserin, penicillin dan lain-lain.

Mekanisme kerja antijamur dapat dibagi menjadi 2 kelompok :

- 1) Pengikatan ergosterol, misal amfoterisin B dan
- 2) Penghambatan biosintesis ergosterol, misalnya antijamur turunan azol (Jawetz, *et al.*, 1986).

6. Uraian tentang media

Media adalah kumpulan zat organik dan anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba (Unus, 1986). Media juga digunakan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, melakukan diferensiasi, serta membawa material dari tempat lain ke laboratorium agar kuman dalam material tersebut hidup sesampainya di laboratorium (Anonim, 1995).

Susunan bahan dapat berbentuk alami (seperti wortel, daging dan telur) atau berbentuk sintesis (berbentuk senyawa kimia, baik organik maupun anorganik) sesuai dengan yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba. Keamanan media adalah kandungan air, nitrogen, sumber energi dan faktor pertumbuhan (vitamin, asam amino) (Unus, 1986).

Untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri maka media harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut.

a. Susunan makanan

Media yang digunakan untuk pertumbuhan harus mempunyai : air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin, dan gas.

1) Air

Air digunakan untuk pertumbuhan bakteri, menjaga kelembaban dan untuk pertukaran zat (metabolisme). Pada umumnya bakteri peka terhadap kekeringan, kecuali jenis-jenis tertentu dan yang mampu membentuk spora.

2). Sumber karbon

Sebagai sumber karbon, bakteri dapat menggunakan senyawa karbon yang kompleks seperti sitrat, tartrat, alkohol atau gula. Berbagai bakteri mempunyai

kelakuan yang berbeda terhadap berbagai macam gula (glukosa, laktosa dan maltosa) dan ini digunakan untuk membantu identifikasi bakteri.

3). Sumber nitrogen

Sebagai sumber nitrogen dapat digunakan unsur nitrogen sendiri atau senyawa-senyawa nitrogen yang sederhana, misal NO_2 , NO_3 , NH_3 , dan senyawa-senyawa nitrogen yang lebih kompleks seperti asam amino, polipeptid, peptid, dan pepton.

4). Mineral

Mineral yang penting adalah Na, K, Mg, Zn, P, S, dan Cl dibutuhkan dalam jumlah yang agak besar, terutama digunakan untuk menjaga agar tetap dalam keadaan isotonik.

5). Vitamin

Beberapa bakteri membutuhkan vitamin tertentu untuk kehidupannya, sebagai contoh vitamin K yang sangat dibutuhkan oleh *Bacteroides melaninigenicus*.

6). Gas

Beberapa bakteri membutuhkan gas tertentu dalam kehidupannya sebagai contoh *Gonococcus* sangat membutuhkan karbondioksida. Namun pada bakteri tertentu yakni pada bakteri anaerob adanya oksigen akan menghambat pertumbuhan bahkan membunuhnya.

b. Tekanan osmose

Mengingat sifat-sifat bakteri, sama seperti sifat-sifat yang lain maka untuk pertumbuhannya bakteri membutuhkan media yang isotonik. Bila media tersebut hipotonik maka bakteri akan mengalami *plasmoptysis*, sedangkan bila hipertonik akan mengalami *plasmolisis*.

c. Derajat keasaman (pH)

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral. Namun, ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang sangat alkali, yakni *Vibrio* yang butuh pH antara 8-10 untuk pertumbuhan yang optimal.

d. Temperatur

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal bakteri membutuhkan temperatur tertentu. Umumnya bakteri patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C ,

sesuai temperatur tubuh. Namun ada bakteri pathogen yang membutuhkan temperatur sekitar 42°C, yakni *Campylobacter*.

e. Sterilitas

Sterilitas media merupakan syarat yang sangat penting. Tidak mungkin kita dapat melakukan pemeriksaan biologik apabila media yang digunakan tidak steril, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atau hanya merupakan kontaminan. Untuk mendapatkan media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) serta alat-alat yang digunakan harus steril dan dikerjakan secara aseptis (Anonim, 1997).

Syarat-syarat suatu bahan dapat berfungsi sebagai media adalah sebagai berikut.

- (1.) Mendukung pertumbuhan yang cepat subur sejak inokulum masih kecil,
- (2.) memungkinkan pemisahan pendahuluan dari mikrobia berdasarkan produksi pigmen dan berbentuk koloni,
- (3.) selektif atau dapat menekan pertumbuhan mikroba kontaminan,
- (4.) tidak mempengaruhi stabilitas obat pada uji potensi antibiotik, dan
- (5.) murah dan mudah didapat (Anonim, 1986).

7. Sterilisasi

Bahan atau alat yang digunakan dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril artinya pada bahan atau alat tersebut tidak didapatkan mikroba baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun kehidupan dan proses mikroba yang sedang dikerjakan. Keadaan steril didapatkan melalui sterilisasi (Unus, 1986). Sterilisasi adalah proses menghancurkan semua bentuk kehidupan mikroba (Pelczar & Chan, 1988). Cara sterilisasi yang umum dikerjakan adalah sterilisasi secara fisis misalnya pemanasan, penggunaan radiasi, tekanan dan penyaringan. Sterilisasi secara kimia misalnya dengan desinfektan, alkohol, formalin, klor,

iodium dan etilen oksida. Sterilisasi secara mekanik misalnya menggunakan filter (Unus, 1986).

8. Pengujian aktivitas antimikrobia

Metode uji pada pemeriksaan uji potensi dapat dikerjakan dengan cara :

a. Dilusi cair

Pada prinsipnya antibiotik diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanam kuman (Anonim, 1999).

b Metode difusi agar

Pada metode ini zat akan ditentukan aktivitas antibakteri berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami bakteri yang akan diuji. Dasar pengamatannya adalah bentuk atau tidaknya zona hambatan disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Pelczar & Chan, 1986). Metode difusi ini dapat dilakukan dengan cara :

1) Cara Kirby-Baver

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar darah, disuspensikan dalam 0,5 ml media cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi diatas kemudian ditambah aquadestila steril hingga memenuhi standar Mc. Farland (10^8 CFU/ml). Dengan menggunakan kapas lidi steril suspensi bakteri dioleskan pada permukaan agar supaya merata, kemudian kertas samir yang berisi antibiotik diletakkan diatasnya dan diinkubasikan dalam suhu 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan atas ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling kertas samir (Lorian, 1980).

2) Cara sumuran

Pada medium agar yang telah ditanami mikroba dibuat lubang, kemudian diisi zat antimikroba. Modifikasi cara ini dengan meletakkan silinder pada medium agar, kemudian diisi dengan zat antimikrobanya. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang atau silinder (Lorian, 1980).

3) Cara Pour Plate

Dengan ose biasa diambil koloni bakteri dan dimasukkan dalam 0,5 ml BHI cair kemudian diinkubasikan selama 5-8 jam pada 37°C, kemudian diencerkan sampai mencapai kekeruhan standar. Hasil suspensi tersebut diambil 1 ose dimasukkan kedalam 4 ml agar base 1,5% pada temperatur 50°C, dicampur homogen, lalu dituang dalam media agar dan dibiarkan membeku. Disk uji diletakkan diatasnya kemudian diinkubasi selama 15-20 jam pada temperatur 37°C. hasilnya dibaca sesuai standar masing-masing (Anonim, 1995).

B. Keterangan Empirik

Daun ketapang memiliki kandungan kimia antara lain saponin, tannin, dan flavonoid. Dari kandungan kimia ini dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroba.

Untuk mengetahui aktivitas antimikrobia pada daun ketapang, dilakukan percobaan dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans*. Pengujian itu dilakukan dengan metode difusi cara sumuran. Juga dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis untuk mengetahui golongan senyawa apa yang terdapat dalam fraksi petroleum eter, etanol, dan air daun ketapang.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

- a. Alat untuk penyarian. Alat yang digunakan terdiri atas seperangkat alat gelas (Pyrex-Iwaki Glass), seperangkat alat Soxhlet (Schott Duran), penangas air, alat timbang, dan panci infus.
- b. Alat uji mikrobial. Alat yang digunakan antara lain Petri, ose, lampu spiritus, tabung reaksi (Pyrex-Iwaki Glass), autoklaf, inkubator (Memmert), jangka sorong, mikropipet (Brand Transferpette), dan pelubang gabus.
- c. Alat KLT. Alat yang digunakan adalah lempeng KLT GF 254 (Merck KG-A), lampu UV, pipa kapiler, bejana pengembang, dan alat penyemprot (Approx Vol).

2. Bahan yang digunakan

- a. Bahan yang digunakan adalah tanaman ketapang diperoleh dari daerah Danen, Sariharjo, Ngaglik, Sleman pada Januari 2005.
- b. Bahan untuk penyarian adalah petroleum eter (PE), etanol dan air.
- c. Bahan untuk uji aktivitas antimikrobia. Bakteri uji yang digunakan untuk uji aktivitas ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jamur uji yang digunakan dalam uji aktivitas ini adalah *Candida albicans*.
- d. Media yang digunakan adalah *nutrient broth*, *nutrient agar* dan *Sabouraud dextrose agar*, NaCl 0,9%, standar Mc Farland II, aquadestilata.
- e. Kontrol positif yang digunakan adalah thimol 0,5%, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO (E.Merck).
- f. Bahan untuk analisis KLT adalah :
 - 1) Fase diam : silika gel GF 254
 - 2) Fase gerak : metanol-asam formiat 10% (97:3), kloroform-metanol (95:5), toluen-etil asetat (96:4).

- 3) Lampu deteksi : UV 254 nm, UV 366 nm
- 4) Penyemprot : alumunium klorida, besi (III) klorida, Liebermann-Burchard.

Semua bahan yang digunakan dalam penelitian ini kecuali dinyatakan lain, adalah berderajat *pro analisa* (pa).

B. Cara Penelitian

1. Determinasi tanaman ketapang

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas MIPA UII, dengan bimbingan Dra Iyok Budiarti yang berpedoman pada buku “ Flora of Java “ karangan Backer and Bakhuizen van den brink (1965).

2. Pengumpulan bahan

Pengumpulan tanaman ketapang dipilih yang segar dan tidak rusak. Tanaman ketapang dibersihkan dari tanah dan kotoran lain dengan dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Bahan yang sudah kering diserbuk sampai halus dan kemudian diayak.

3. Penyarian serbuk

Serbuk tumbuhan ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam selongsong yang dibuat dari kertas saring lalu dimasukkan ke dalam Soxhlet. Setelah itu, ditambah petroleum eter yang kemudian diekstrak hingga sempurna yang ditandai dengan larutan penyari dalam tabung Soxhlet tidak berwarna atau jernih. Hasil yang telah didapat disebut fraksi petroleum eter, kemudian diuapkan. Ampasnya kemudian dikeringkan, setelah kering kemudian diekstraksi lagi dengan etanol hingga sempurna, dan didapat lagi fraksi etanol yang kemudian diuapkan. Setelah itu, ampasnya dikeringkan dan selanjutnya ampas kering diinfundasi sehingga didapat fraksi air dan diuapkan. Ketiga fraksi yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan pemeriksaan kandungan senyawa.

4. Uji antimikrobia

Uji antimikrobia dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut.

a. Sterilisasi

Alat yang digunakan untuk sterilisasi adalah autoklaf pada temperatur 121°C selama 15-20 menit. Larutan uji disterilkan dengan cara disinari UV selama 30 menit, sedangkan *Laminar Air Flow* disterilkan dengan cara disemprot dengan alkohol dan disinari UV selama 2 jam.

b. Penyiapan larutan uji

Larutan uji diambil dari hasil penyarian daun ketapang dengan penyari petroleum eter, etanol, dan air. Dibuat larutan uji dengan seri kadar 100 mg/ml; 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12,5 mg/ml menggunakan pelarut *DMSO*.

c. Pembuatan media *nutrient broth*

Ditimbang 1,3 g media larutkan dalam 100 ml aquades, dihomogenkan. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Pembuatan media *nutrient agar*

Ditimbang agar sebanyak 1,5 g dilarutkan dengan aquadest steril 100 ml, dihomogenkan dengan cara dikocok dan dibantu dengan pemanasan. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

e. Pembuatan media *Sabouroud dextrose agar*

Ditimbang media Sabouroud sebanyak 6,5 g dilarutkan dalam 100 ml aquadest, dihomogenkan dengan dikocok dan dibantu dengan pemanasan. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Penanaman bakteri dan jamur

Bakteri dan jamur biakan murni diambil sebanyak satu ose kemudian ditanam pada media *nutrient agar* steril, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil inkubasi diambil satu ose lagi, kemudian disuspensikan dalam *nutrient broth* steril sehingga didapat suspensi bakteri dan jamur dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

g. Pengujian aktivitas antimikrobia

Bakteri dan jamur yang telah disuspensikan dalam *nutrient broth* disesuaikan kadarnya dengan standar Mc Farland II, standar ini menunjukkan

kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml. Caranya bakteri yang telah disuspensikan dibandingkan dan disesuaikan kekeruhannya dengan standar Mc Farland II, apabila masih terlalu keruh diencerkan dengan aquadest steril atau NaCl 0,9%. Suspensi bakteri yang kekeruhannya telah sesuai dengan standar Mc Farland II kemudian dicampur dengan media *nutrient agar*, sedangkan untuk jamur dicampur dalam media *Sabouroud Dextrose agar*. Untuk setiap Petri yang berisi 20 ml media *nutrient agar* diperlukan 0,2 ml suspensi bakteri dan jamur kemudian dibiarkan sampai beku. Pada media yang telah beku dibuat sumuran. Pada setiap sumuran, volume yang digunakan baik suspensi uji, kontrol positif maupun kontrol negatif sebanyak 20 μ l. Untuk mengontrol timbulnya hambatan pertumbuhan bakteri uji disebabkan hanya oleh suspensi uji, maka DMSO yang merupakan pelarut digunakan sebagai kontrol negatif, sedangkan kontrol positif digunakan timol 0,5%, untuk mengetahui adanya hambatan pertumbuhan bakteri dan jamur dari suspensi uji. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam maka diperoleh hasil aktivitas antimikrobia berupa zona hambatan.

5. Pemeriksaan kandungan senyawa dengan KLT

Fraksi petroleum eter, etanol, dan air dilarutkan dalam penyaringnya semula, kemudian dianalisis kandungannya dengan KLT sebagai berikut :

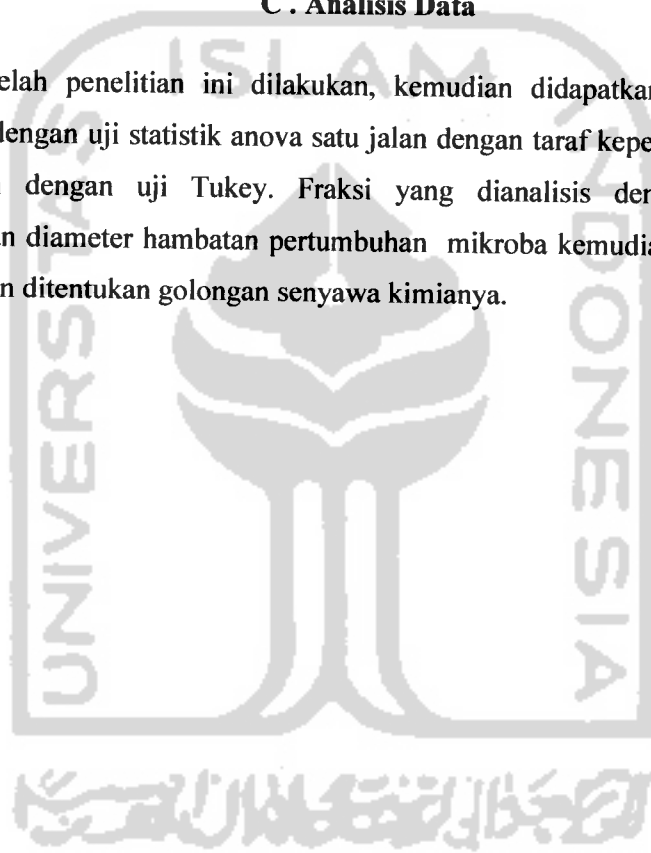
- a. Uji senyawa flavonoid
 - Fase diam : silika gel GF 254
 - Fase gerak : toluen-etil asetat (60 : 40)
 - Deteksi : pereaksi $AlCl_3$, UV 254 nm, UV 366 nm
- b. Uji senyawa tanin
 - Fase diam : silika gel GF 254
 - Fase gerak : metanol-asam formiat 10% (97:3)
 - Pembanding : asam tanin
 - Deteksi : UV 254 nm, UV 366 nm, $FeCl_3$
- c. Uji senyawa saponin
 - Fase diam : silika gel GF 254
 - Fase gerak : kloroform-metanol (95:5)

Deteksi :Liebermann Burchard, UV₂₅₄ nm, UV₃₆₆ nm

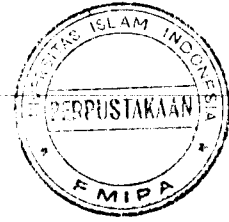
Dari hasil deteksi kandungan senyawa dengan KLT dicatat harga Rf dan hRf-nya dan penampakan bercak warna, kemudian dibandingkan dengan pustaka yang ada supaya dapat diperkirakan senyawa yang terdapat pada fraksi petroleum eter, etanol, dan air dari daun ketapang.

C . Analisis Data

Setelah penelitian ini dilakukan, kemudian didapatkan data dan akan dianalisis dengan uji statistik anova satu jalan dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Fraksi yang dianalisis dengan KLT yang memberikan diameter hambatan pertumbuhan mikroba kemudian dihitung harga hRf-nya dan ditentukan golongan senyawa kimianya.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN



A. Determinasi Tanaman

Tanaman sebelum dikumpulkan terlebih dahulu di determinasi menurut buku Panduan “ Flora of Java “(Backer & Bakhuizen van den brink, 1965). Maksud dilakukan determinasi adalah untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan dipakai dalam percobaan. Hasil determinasi tanaman ketapang sebagai berikut.

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12a (Golongan 6), 84b - 88a (*Combretaceae*), 1a (*Terminalia*) (Backer & Bakhuizen van den brink, 1965).

B. Pengumpulan Bahan

Pengumpulan daun ketapang diambil dari tanaman ketapang di daerah Danen, Sariharjo, Ngaglik, Sleman, Jogjakarta. Dipilih daun yang segar dan tidak rusak. Daun dikumpulkan sewaktu tanaman sebelum berbunga atau segera setelah bunga mekar (Wijayakusuma dkk., 2000).

Daun ketapang dibersihkan dari tanah dan kotoran lain dengan dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah terjadinya pembusukan oleh cendawan atau bakteri yang menyebabkan penurunan mutu simplisia dan serbuk bahan menjadi lebih tahan lama sehingga dapat dipergunakan dalam jangka waktu tertentu (Wijayakusuma dkk., 2000).

Bahan yang sudah kering diserbuk sampai halus dan diayak sehingga diperoleh ukuran yang lebih kecil atau halus. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin luas permukaan partikel atau serbuk yang kontak dengan pelarut semakin besar, sehingga kandungan kimia yang terdapat pada serbuk dapat terekstraksi dengan sempurna.

C. Penyarian Serbuk

Serbuk daun ketapang ditimbang dan disari menggunakan petroleum eter, etanol 96% dan aquadest. Penyarian dilakukan dengan menggunakan Soxhlet. Keuntungan dari metode ini adalah dapat menyari secara berkesinambungan dan volume pelarut yang diperlukan lebih sedikit dibandingkan dengan metode penyarian yang lain. Sedangkan kekurangan metode ini adalah jumlah bahan yang digunakan terbatas, tergantung besar selongsong yang digunakan (30-50 g) dan jika pemanasan berlebih dapat mempengaruhi kandungan kimia bahan yang disari terutama untuk bahan yang termolabil atau tidak tahan pemanasan.

Penyarian serbuk dengan Soxhlet didasarkan pada adanya sirkulasi berulang sehingga lebih banyak kandungan senyawa kimia yang tersari. Pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit karena pelarut yang telah menarik zat dapat menguap kembali dengan adanya pemanasan. Volume penyari yang digunakan minimal dua kali sirkulasi untuk menjaga agar tidak terjadi kekeringan sebelum proses penyarian selesai. Setelah melewati pendingin uap, pelarut akan berubah kembali menjadi tetesan-tetesan cairan yang akan terkumpul kembali dan membasahi serbuk bahan uji. Jika tinggi pelarut sudah melewati batas lubang pipa sampling dari Soxhlet maka akan terjadi sirkulasi.

Hanya pemanasan yang dapat merusak kandungan kimia yang termolabil, tetapi hal ini dapat diatasi dengan menjaga temperatur penyarian antara 40-60°C. Selain itu, diharapkan dalam rentang temperatur tersebut tidak terjadi penguapan penyari secara berlebihan sehingga proses sirkulasi tidak terlalu cepat, karena jika sirkulasi terlalu cepat maka waktu kontak antara bahan dengan penyari semakin sedikit, dimana hal itu akan menyebabkan penyarian tidak optimal karena masih ada zat yang belum tersari.

Penggunaan tiga jenis pelarut yang berbeda polaritasnya, karena di dalam tumbuhan terdapat berbagai senyawa kimia yang berbeda polaritasnya. Dengan demikian, senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam petroleum eter, senyawa yang agak polar akan terlarut dalam etanol dan senyawa yang paling polar akan terlarut dalam aquadest.

Pertama penyarian dilakukan dengan menggunakan petroleum eter yang dapat menyari senyawa non polar seperti: lemak, lilin, minyak atsiri, dan senyawa terpen yang ada di dalamnya. Penyarian dilakukan sampai sempurna yaitu sampai pelarut jernih atau tidak berwarna lagi. Hasil yang diperoleh berupa fraksi petroleum eter, kemudian diuapkan sampai kering dan ampasnya dikeringkan hingga terbebas dari pelarutnya untuk digunakan kembali pada tahap berikutnya.

Penyarian kedua dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% yang bersifat semi polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa hidrofilik dan lipofilik sehingga senyawa seperti flavonoid, alkaloid, fenol, saponin, dan tanin dapat tersari. Proses fraksinasi dilakukan sama seperti pembuatan fraksi petroleum eter, dan didapat fraksi etanol. Terakhir dilakukan dengan metode infudasi, yang dilakukan selama 15 menit dihitung ketika temperatur 90°C, fraksi yang didapat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian disimpan dalam eksikator.

Setelah masing-masing fraksi yang didapat diuapkan pelarutnya sampai habis maka didapat fraksi kering. Berat fraksi kering yang diperoleh dari masing-masing fraksinasi ditunjukkan pada Tabel I. Rendemen hasil penyarian daun ketapang ditunjukkan pada Tabel I.

Tabel I. Rendemen hasil penyarian daun ketapang

Fraksi	Berat serbuk (gr)	Berat fraksi (gr)	Rendemen (%)
Petroleum Eter	50	6,52	13,04
Etanol	50	9,56	19,12
Air	50	11,08	22,16

Keterangan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Fraksi}}{\text{Berat Serbuk}} \times 100\%$$

D. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia

Sebelum dilakukan uji aktivitas antimikrobia, bahan-bahan dan alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi ini bertujuan untuk

membunuh semua mikroorganisme yang ada, sehingga dapat mencegah terjadinya kontaminasi dan mikroorganisme yang ditumbuhkan nanti benar-benar mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian. Alat yang digunakan untuk sterilisasi ini adalah autoklaf pada temperatur 121°C selama 15-20 menit.

Sebelum uji antimikrobia dilakukan terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan, yang bertujuan untuk mengetahui kadar terkecil ketiga fraksi dari daun ketapang yang mampu memberikan aktivitas antimikrobia. Ketiga fraksi tersebut adalah petroleum eter, etanol, dan air, dilakukan pengujian aktivitas antimikrobia terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* pada seri kadar 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml dan 100 mg/ml. Uji ini menggunakan metode difusi sumuran yang mana pada media berisi bakteri ataupun jamur. Setelah membeku dibuat beberapa lubang sumuran, kemudian ditambahkan seri kadar setiap larutan fraksi (dilarutkan dalam DMSO) yang diuji ditambah kontrol positif (timol) dan kontrol negatif (DMSO) sebanyak 20µl. Apabila memiliki aktivitas antimikrobia maka akan timbul daerah jernih di sekitar sumuran. Di sini kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut DMSO karena dapat melarutkan semua fraksi dan diketahui tidak memiliki aktivitas antimikrobia. Jika pelarut yang digunakan untuk melarutkan fraksi memiliki aktivitas antimikrobia maka akan sulit ditentukan apakah yang menghambat pertumbuhan mikrobial tersebut adalah larutan uji atau pelarutnya. Timol digunakan sebagai kontrol positif karena timol merupakan turunan fenol salah satu golongan antiseptik yang dapat membunuh mikrobial. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, hasil uji dapat dilihat berupa adanya zona radikal disekitar sumuran. Hasil uji aktivitas antimikrobia ketiga fraksi tersebut dapat dilihat pada Tabel II, Tabel III dan Tabel IV.

Tabel II. Hasil uji aktivitas antibakteri masing-masing fraksi terhadap *S. aureus*

FRAKSI	KADAR (mg/ml)	DIAMETER HAMBATAN (mm)			X ± SD
		X1	X2	X3	
Petroleum eter	12,5	10,00	10,10	10,00	10,03 ± 0,06
	25	11,10	11,10	11,00	11,07 ± 0,06
	50	12,00	12,20	12,10	12,10 ± 0,10
	100	13,00	13,30	13,00	13,10 ± 0,17
	K (+)	12,10	12,30	12,20	12,20 ± 0,10
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
ETANOL	12,5	7,00	7,10	7,30	7,13 ± 0,15
	25	8,60	8,30	8,50	8,47 ± 0,15
	50	11,00	10,50	11,00	10,83 ± 0,29
	100	12,30	12,10	12,20	12,20 ± 0,10
	K (+)	12,00	12,30	12,00	12,10 ± 0,17
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
AIR	12,5	11,10	10,90	11,10	11,03 ± 0,11
	25	12,20	12,30	12,20	12,23 ± 0,06
	50	13,00	12,80	13,20	13,00 ± 0,20
	100	14,20	13,50	14,00	13,90 ± 0,36
	K (+)	12,20	12,10	12,40	12,23 ± 0,15
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (6 mm)
2. X1, X2, dan X3 merupakan replikasi
3. Kontrol positif adalah timol (0,5%)
4. Kontrol negatif adalah DMSO

Dari hasil di atas, dapat dilihat bahwa semua fraksi mempunyai aktivitas terhadap *S. aureus*. diameter hambatan fraksi petroleum eter, etanol, dan air daun ketapang terhadap bakteri *S.aureus* terlihat bahwa semakin besar kadar maka diameter hambatan atau zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran semakin besar pula.. Diameter zona hambatan uji antimikrobia dapat dilihat pada foto hasil uji terlampir pada Lampiran 2, 3 dan 4.

Tabel III. Hasil uji aktivitas antimikrobia masing-masing fraksi terhadap *E. coli*

FRAKSI	KADAR (mg/ml)	DIAMETER HAMBATAN (mm)			X ± SD
		X1	X2	X3	
Petroleum eter	12,5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	25	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	50	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	100	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	K (+)	13,00	12,80	13,10	12,97 ± 0,15
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
ETANOL	12,5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	25	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	50	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	100	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	K (+)	13,10	13,30	12,80	13,07 ± 0,25
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
AIR	12,5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	25	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	50	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	100	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	K (+)	13,40	13,10	13,20	13,23 ± 0,15
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (6mm)
2. X1, X2 dan X3 merupakan replikasi
3. Kontrol positif adalah timol (0,5%)
4. Kontrol negatif adalah DMSO

Pada uji terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa fraksi yang didapat baik dari petroleum eter, etanol maupun air tidak menunjukkan hambatan pertumbuhan atau membunuh bakteri *E. coli*, hal ini dapat dilihat pada Lampiran 5, 6, dan 7.

Perbedaan respon antara bakteri *S. aureus* (bakteri Gram positif) dan *E. coli* (bakteri Gram negatif) terhadap ekstrak daun ketapang ini diakibatkan oleh perbedaan sensitifitas masing-masing jenis bakteri uji. Selain itu, bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap zat antimikrobia daripada bakteri Gram negatif. *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif, mempunyai komponen dinding sel yang lebih sederhana, yaitu terdiri dari tiga lapis berupa selaput sitoplastik, lapisan peptidoglikan tebal yang terikat kuat dengan asam teikoat (tersusun atas asam N-asetilglokusiamin, asam N-asetil muramat dan rantai

samping peptida) dan lapisan luar bervariasi yang disebut simpai, sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang kompleks, yaitu terdiri dari peptidoglikan, lipoprotein, lipopolisakarida, dan ruang periplasma (Jawetz *et al.*, 1986). Lapisan-lapisan yang banyak pada dinding sel bakteri Gram negatif menjadi penghalang untuk masuknya senyawa aktif antimikrobia ke dalam sel bakteri.

Tabel IV. Hasil uji aktivitas antimikrobia masing-masing fraksi terhadap *C. albicans*.

EKTRAK	KADAR (%)	DIAMETER HAMBATAN (mm)			X ± SD
		X1	X2	X2	
Petroleum eter	12,5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	25	7,40	7,80	7,20	7,47 ± 0,30
	50	8,50	8,10	7,90	8,17 ± 0,31
	100	9,30	8,70	8,20	8,73 ± 0,55
	K (+)	12,00	12,20	12,10	12,10 ± 0,10
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
ETANOL	12,5	7,20	7,60	7,55	7,45 ± 0,22
	25	7,80	8,10	7,80	7,90 ± 0,17
	50	8,20	8,60	8,05	8,28 ± 0,28
	100	8,90	9,05	8,50	8,82 ± 0,28
	K (+)	12,75	11,40	12,30	12,15 ± 0,69
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
AIR	12,5	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	25	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	50	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	100	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00
	K (+)	12,40	12,60	12,00	12,23 ± 0,31
	K (-)	6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (6 mm)
2. X1, X2, dan X3 merupakan replikasi
3. Kontrol positif adalah timol (0,5%)
4. Kontrol negatif adalah DMSO

Pada uji antimikrobia terhadap jamur *C. albicans* terlihat bahwa fraksi petroleum eter dan fraksi etanol dari daun ketapang memberikan hambatan sedangkan untuk fraksi air tidak memberikan hambatan terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Hal ini dapat dilihat pada Lampiran 8-10. Daya hambat atau

kemampuan fraksi petroleum eter terlihat mulai kadar 25 mg/ml, sedangkan pada fraksi etanol daya hambat atau kemampuan untuk membunuh jamur terlihat mulai kadar fraksi uji terkecil, yaitu 12,5 mg/ml, semakin besar kadar fraksi yang diberikan maka semakin besar zona hambatan yang terbentuk disekitar daerah pertumbuhan jamur *C. albicans*. Seluruh diameter zona hambatan dianalisis menggunakan statistika analisis varian (anova) satu arah, apabila dari hasil anova terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95%.

Dari hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pada uji terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* mempunyai nilai signifikan $< 0,05$; maka dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok uji tersebut. Karena adanya perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui kelompok kadar mana yang berbeda bermakna dan mana yang berbeda tidak bermakna.

Tabel V. Uji Tukey fraksi petroleum eter terhadap bakteri *S. aureus*

Kadar	Kadar	Keterangan
Kontrol (+)	Kontrol (-); kadar 12,5; 25; dan 100 mg/ml	Berbeda bermakna
Kontrol (+)	Kadar 50 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna
Kontrol (-)	kontrol (+),Kadar 12,5; 25; 50; 100 mg/ml	Berbeda bermakna

Berdasarkan hasil uji Tukey fraksi petroleum eter yang diujikan pada bakteri *S. aureus* menunjukkan nilai signifikan antara kontrol negatif dan kelompok kadar. Untuk kontrol positif didapatkan perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif dan kadar uji 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 100 mg/ml dan berbeda tidak bermakna terhadap kadar 50 mg/ml. Ini berarti daya penghambatan kontrol positif berbeda dengan kadar 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 100 mg/ml dan kontrol negatif, tetapi sebanding dengan kadar 50 mg/ml dari fraksi petroleum eter.

Tabel VIII. Uji Tukey fraksi petroleum eter terhadap jamur *Candida albicans*

Kadar	Kadar	Keterangan
Kontrol (-)	Kontrol (+)	Berbeda bermakna
Kontrol (-)	Kadar 12,5 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna
Kontrol (+)	Kontrol (-); Kadar 12,5; 25; 50; 100 mg/ml	Berbeda bermakna
Kadar 25 mg/ml	Kadar 50 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna
Kadar 50 mg/ml	Kadar 25; 100 mg/ml	Tidak berbeda bermakna
Kadar 100 mg/ml	Kadar 50 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna

Pada hasil uji Tukey fraksi petroleum eter terhadap jamur *C. albicans* menunjukkan nilai signifikan antara kontrol negatif dengan kontrol positif dan kelompok kadar, antara kontrol positif dengan kontrol negatif dan kelompok kadar. Pada kontrol negatif didapatkan nilai berbeda tidak bermakna hanya dengan kadar 12,5 mg/ml. Begitu juga dengan kadar 25 mg/ml didapatkan nilai berbeda bermakna dengan semua kadar kecuali dengan kadar 50 mg/ml, sedangkan untuk kadar 50 mg/ml menunjukkan perbedaan bermakna untuk semua kadar kecuali terhadap kadar 25 mg/ml dan 100 mg/ml dan pada kadar 100 mg/ml menunjukkan nilai berbeda tidak bermakna hanya pada kadar 50 mg/ml.

Tabel IX. Uji Tukey fraksi etanol terhadap jamur *Candida albicans*

Kadar	Kadar	Keterangan
Kontrol (-)	Kontrol (+)	Berbeda bermakna
Kontrol (+)	Kadar 12,5; 25; 50; 100 mg/ml; kontrol (-)	Berbeda bermakna
Kadar 12,5 mg/ml	Kadar 25; 50 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna
Kadar 25 mg/ml	Kadar 12,5; 50; 100 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna
Kadar 50 mg/ml	Kadar 12,5; 25; 100 mg/ml	Tidak berbeda bermakna
Kadar 100 mg/ml	Kadar 25; 50 mg/ml	Tidak Berbeda bermakna

Berdasarkan hasil uji Tukey fraksi etanol terhadap jamur *C. albicans* menunjukkan nilai signifikan antara kontrol negatif dengan kontrol positif, dan semua kelompok kadar. Demikian juga dengan kontrol positif didapat nilai yang signifikan terhadap kontrol negatif dan juga semua kelompok kadar. Pada kadar 12,5 mg/ml didapat nilai signifikan terhadap kontrol positif, kontrol negatif dan kadar 100 mg/ml, yang berarti daya hambat kontrol 12,5 mg/ml sebanding dengan

daya hambat pada kadar 25 mg/ml dan kadar 50 mg/ml. Pada kadar 25 mg/ml dan 50 mg/ml didapat nilai signifikan terhadap kontrol positif dan kontrol negatif saja, dan menunjukkan nilai yang berbeda tidak bermakna untuk perbandingan kadarnya. Dan pada kadar 100 mg/ml menunjukkan nilai yang signifikan terhadap kontrol positif, kontrol negatif dan pada kadar 12,5 mg/ml, yang berarti daya hambat kadar 100 mg/ml sebanding dengan kadar 25 mg/ml, dan 50 mg/ml.

Adanya perbedaan penghambatan pertumbuhan pada *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* mungkin disebabkan adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel bakteri antara Gram positif dan Gram negatif dan juga jamur. Selain itu mungkin juga disebabkan perbedaan kadar dan komposisi kandungan senyawa dalam fraksi itu sendiri.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroba oleh larutan uji ini belum diketahui secara pasti karena masih berupa ekstrak kasar, belum murni dan belum diketahui dengan jelas rumus molekulnya. Namun yang jelas bahwa mekanisme suatu bahan antibakteri menembus dinding sel bakteri tergantung dari bahan aktif yang terkandung di dalam bahan yang diujikan antara lain dengan menghambat sintesis dinding sel atau dengan cara mengganggu metabolisme sel bakteri (Lorian, 1980).

Pada uji antimikrobia ini fraksi air daun ketapang hanya memberikan hambatan pada *S. aureus*, sedangkan pada bakteri *E. coli* dan jamur *C. albicans* tidak memberikan hambatan.

E. Hasil Deteksi Kandungan Senyawa Kimia dengan Metode KLT

Kandungan kimia senyawa dari tumbuhan dianalisis secara kualitatif untuk mengetahui dan mendapatkan gambaran golongan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Pemeriksaan kandungan kimia dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Dengan metode ini berbagai golongan senyawa kimia dapat dipisahkan menjadi komponennya masing-masing. Untuk mendapatkan hasil pemisahan yang terbaik, diperlukan pemilihan fase diam dan fase gerak yang sesuai sehingga memberikan bercak-bercak yang dapat dideteksi dengan sinar tampak, sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm dengan pereaksi spesifik.

Daun ketapang telah diketahui mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan tanin (Tomlinson, 1986). Hal itu dijadikan dasar dalam penelusuran senyawa yang terdapat dalam fraksi daun ketapang.

Identifikasi kandungan golongan senyawa kimia dalam fraksi petroleum eter, fraksi etanol maupaun fraksi air daun ketapang dilakukan untuk tiga golongan senyawa, yaitu saponin, flavonoid dan tanin. Berdasarkan hasil penelitian, ternyata golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etanol, petroleum eter dan air daun ketapang sama dengan yang terdapat dalam pustaka yaitu saponin, flavonoid, dan tanin.

1. Saponin

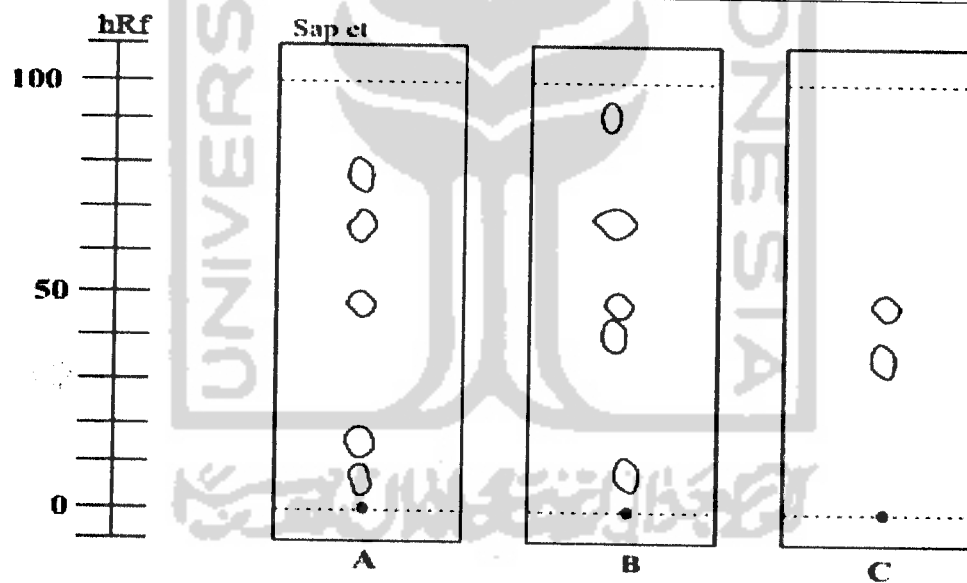
Untuk mengetahui adanya senyawa saponin dilakukan uji KLT menggunakan fase diam Silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform-metanol (95 : 5) v/v, memberikan beberapa bercak sampel dengan berbagai warna yang dapat dilihat pada sinar UV sebelum dan sesudah penyemprotan.

Untuk mendeteksi senyawa saponin dapat digunakan pereaksi penampak bercak Liebermann-Burchard. Setelah penyemprotan, maka kromatogram dipanaskan pada suhu 110°C selama 5-10 menit.

Pada fraksi etanol memberikan pepadaman pada UV₂₅₄ nm dengan memberikan 5 bercak. Dari kromatogram yang dilihat di bawah sinar tampak setelah disemprot Liebermann-Burchard dengan yaitu bercak berwarna biru violet dengan hRf 32. Hal itu menunjukkan bahwa dalam fraksi etanol daun ketapang terdapat senyawa aktif saponin. Dapat dilihat pada Tabel X; Gambar 1; Lampiran 11, 12, dan 13.

Tabel X. Data uji KLT senyawa saponin pada fraksi etanol

UV ₂₅₄		Deteksi			
UV ₂₅₄		UV ₃₆₆		Visibel (pereaksi semprot Lieberman Burchard)	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
7	Pemadaman	7	Kelabu	-	-
10	Pemadaman	-	-	-	-
-	-	-	-	27	Coklat muda
-	-	30	Biru	32	Biru violet
42	Pemadaman	-	-	-	-
-	-	54	Merah kelabu	-	-
-	-	58	Kelabu	-	-
68	Pemadaman	-	-	-	-
-	-	72	Kuning kelabu	-	-
75	Pemadaman	-	-	-	-
-	-	89	kelabu	-	-



Gambar 1. Kromatogram KLT untuk mendeteksi saponin pada fraksi etanol.

Keterangan :

A : deteksi sinar UV₂₅₄B : deteksi sinar UV₃₆₆

C : deteksi dengan pereaksi semprot Lieberman Burchard pada sinar visibel

Fase diam : silika gel GF₂₅₄

Fase gerak : kloroform-metanol (95 : 5)

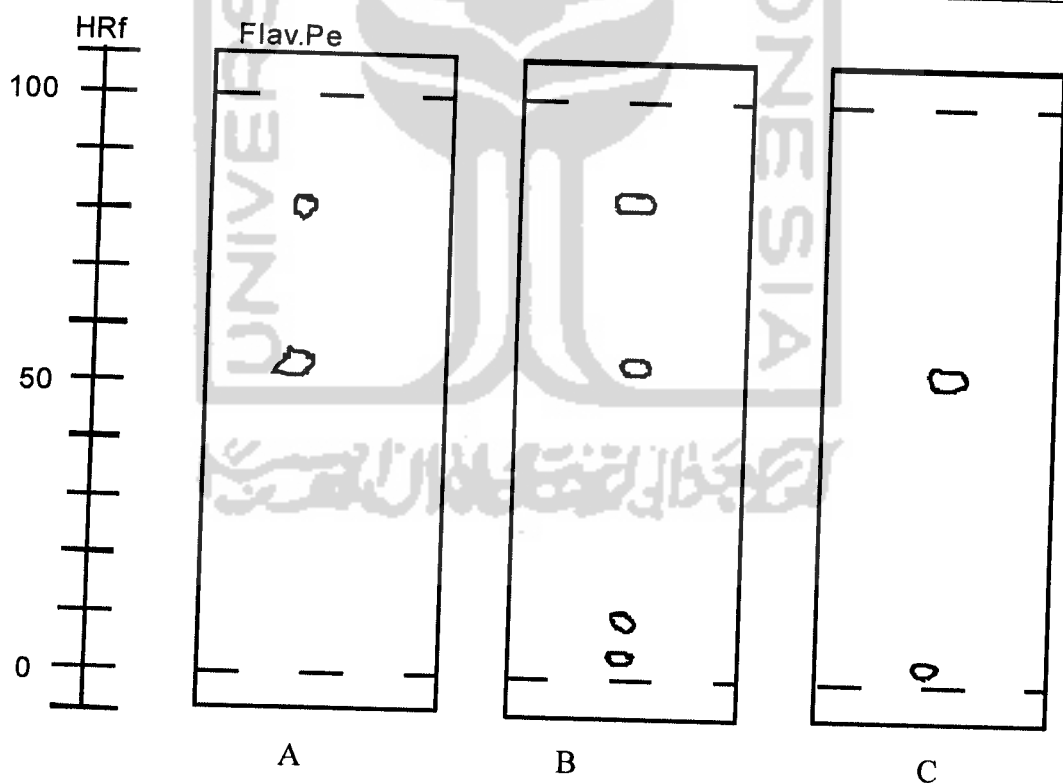
2. Flavonoid

Deteksi senyawa flavonoid dalam serbuk simplisia dilakukan dengan menggunakan fraksi petroleum eter yang ditotolkan dalam lempeng silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak toluen-etil asetat (96 : 4) v/v, memberikan beberapa bercak sampel dengan berbagai warna yang dapat dilihat pada sinar UV sebelum dan sesudah penyemprotan.

Deteksi senyawa flavonoid dalam fraksi petroleum eter dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot aluminium klorida yang terlebih dulu diuapi dengan amoniak. Bila pada kromatogram ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna kuning, setelah diuapi dengan amoniak warna tetap kuning. Flavonoid juga dapat membentuk warna jika diamati di bawah sinar UV₃₆₆ nm. Pada fraksi petroleum eter daun ketapang memberikan bercak kuning dengan hRf 54, dan bercak biru kelabu pada hRf 82 di bawah sinar UV₂₅₄ nm. Pada kromatogram yang dilihat pada sinar tampak, tampak satu bercak yang berwarna kuning setelah diuapi amoniak, sedangkan dua bercak lainnya berwarna hijau kelabu. Bercak pada kromatogram yang berwarna kuning tersebut terletak pada hRf 54, sedangkan bercak yang berwarna hijau kelabu terletak pada hRf 4. Flavonoid juga dapat membentuk warna jika diamati di bawah sinar UV₃₆₆ nm, yaitu merah kelabu yang terletak pada hRf 54. Berdasarkan hasil tersebut maka didapatkan daun ketapang mengandung flavonoid. Dapat dilihat pada Tabel XI,; Gambar 2: Lampiran 14, 15, dan 16.

Tabel XI. Data uji KLT senyawa flavonoid pada fraksi petroleum eter

UV ₂₅₄		Deteksi UV ₃₆₆		Visibel (Pereaksi semprot Aluminium Klorida)	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
-	-	4	Merah	4	Hijau kelabu
-	-	10	Biru muda	-	-
54	Kuning	54	Merah kelabu	54	Kuning
82	Biru kelabu	82	Biru kelabu	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-



Gambar 2. Kromatogram KLT untuk mendeteksi flavonoid pada fraksi petroleum eter.

Keterangan :

A : deteksi sinar UV₂₅₄B : deteksi sinar UV₃₆₆

C : deteksi dengan pereaksi semprot aluminium klorida pada sinar visibel

Fase diam : silika gel GF₂₅₄

Fase gerak : toluen-etil asetat (96 : 4) v/v

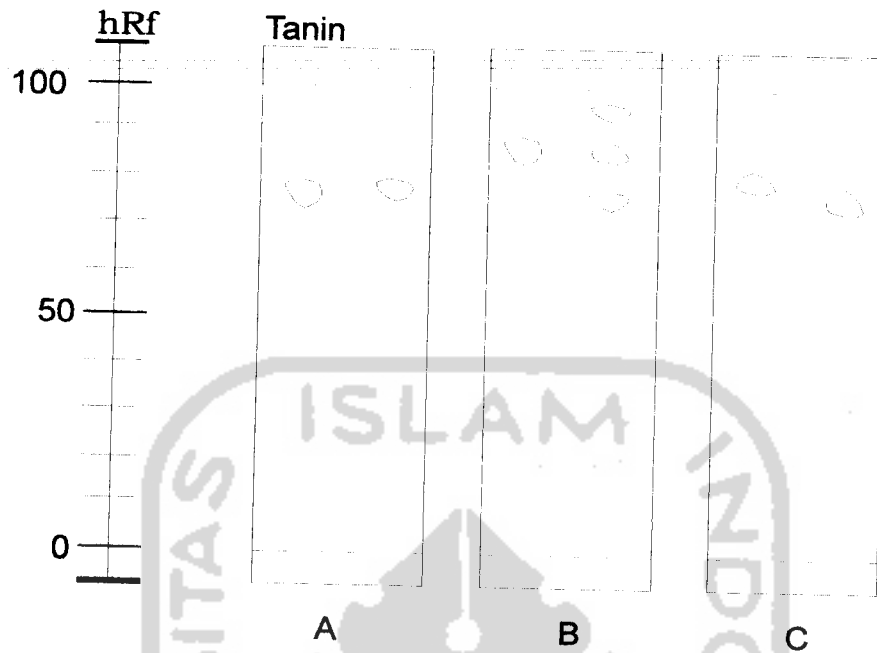
3. Tanin

Untuk mengetahui adanya senyawa tanin dilakukan uji KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak metanol-asam formiat (97 : 3) v/v, memberikan beberapa bercak sampel dengan berbagai warna yang dapat dilihat pada sinar UV sebelum dan sesudah penyemprotan.

Pada fraksi air daun ketapang memberikan pepadaman dibawah sinar UV 254 nm, dilihat pada sinar UV 365 nm pada kromatogram terdapat 3 bercak berwarna biru, biru muda dan merah dengan hRf 74, 84, 93. Sedangkan untuk pembandingnya, yaitu tanin murni, pada kromatogram terdapat satu bercak berwarna biru tua dengan HRf 84. Dari kromatogram fraksi air dilihat di bawah sinar UV visible didapatkan bercak yang menunjukkan adanya tanin setelah disemprot dengan besi (III) klorida, yaitu satu bercak berwarna hijau kelabu dengan hRf 74 dimana sesuai dengan pembandingnya, yaitu tanin murni. Berdasarkan hasil tersebut, maka didapatkan daun ketapang mengandung tanin pada fraksi air. Dapat dilihat pada Tabel XIV, Gambar 4 dan Lampiran 17-19.

Tabel XII. Data uji KLT senyawa tanin pada fraksi air

Pembanding		Deteksi					
		UV ₂₅₄		UV ₃₆₆		Visible (Pereaksi semprot Ferri Klorida)	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
74	Pepadaman	74	Pepadaman	74	Biru	74	Hijau Kelabu
75	Hijau Kelabu	-	-	-	-	-	-
84	Biru Tua	-	-	84	Biru Muda	-	-
-	-	-	-	93	Merah	-	-



Gambar 3. Kromatogram KLT untuk mendeteksi tanin pada fraksi air

Keterangan :

A : deteksi sinar UV₂₅₄

B : deteksi sinar UV₃₆₆

C : deteksi dengan pereaksi semprot ferri klorida pada sinar visibel

Fase diam : silika gel GF₂₅₄

Fase gerak : metanol-asam formiat 10% (97:3)

Kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri uji dapat dijelaskan dalam perbedaan dinding sel dari kedua jenis bakteri uji tersebut, dimana *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang relatif polar dibandingkan dinding sel bakteri Gram negatif. Sehingga relatif lebih mudah ditembus senyawa antibakteri. *S. aureus* sebagai bakteri Gram positif mempunyai komponen dinding sel yang terdiri dari 3 lapis yaitu, selaput sitoplastik, lapisan peptidoglikan tebal yang terikat kuat dengan asam teikoat (tersusun atas N-asetilglukosamin, Asam N-asetil muramat dan rantai samping peptida) dan lapisan luar bervariasi yang disebut simpai. Sedangkan pada bakteri Gram negatif, komponen penyusun dinding sel yang lebih kompleks, yaitu lipoprotein selaput luar dan lipopolisakarida. Sel luar atau sel ganda fosfolipid yang khas sebagian besar diganti dengan molekul-molekul lipopolisakarida (Jawetz dkk, 1986). Komponen dinding bakteri Gram negatif yang kompleks mengakibatkan sukarnya

bahan antibakteri untuk menembus dinding selnya. Dengan kadar yang sama, zona hambatan yang terbentuk lebih besar terhadap *S. aureus* daripada terhadap *E. coli*, ini membuktikan bahwa dinding sel bakteri Gram positif lebih mudah ditembus dengan senyawa aktif yang ada.

Mekanisme suatu bahan antibakteri menembus dinding sel tergantung dari bahan aktif yang terkandung di dalam bahan yang diujikan antara lain dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, merusak membran sel bakteri atau dengan cara mengganggu metabolisme sel bakteri (Lorian, 19980). Perbedaan respon yang disebabkan perbedaan kadar dan komposisi kandungan senyawa dalam fraksi. Apabila saponin diabsorpsi pada permukaan sel dan menyebabkan kerusakan dengan meningkatkan permeabilitas atau kebocoran membran sel lipid. Kematian sel bakteri kemudian terjadi karena hilangnya bahan-bahan esensial dari sel. Jadi senyawa saponin yang terdapat diduga dapat meningkatkan permeabilitas atau kebocoran membran sel lipid sehingga mengakibatkan kematian sel karena kehilangan bahan-bahan yang esensial dari sel.

Tabel XIII. Kandungan senyawa kimia pada fraksi yang mampu memberikan hambatan pertumbuhan atau membunuh mikrobia uji

Fraksi	Kandungan kimia
Petroleum eter	Flavonoid
Etanol	Saponin
Air	Tannin

Senyawa flavonoid dan tanin merupakan turunan senyawa fenol. Turunan fenol bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Pada konsentrasi rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis. Turunan fenol juga dapat merubah permeabilitas membran sel, dapat menimbulkan kebocoran konstituen sel yang esensial, sehingga sel bakteri mengalami kematian (Siswandono & Soekardjo, 1995). Senyawa flavonoid diduga mempunyai aktivitas terhadap bakteri dengan cara membentuk kompleks

dengan protein yang terdapat pada dinding maupun protoplas sel sedangkan senyawa tanin diduga memiliki aktivitas menginaktivasi enzim dan transfer protein membentuk kompleks dengan sakarida dan menghambat pertumbuhan dan aktivitas protease (Cowan, 1999).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada fraksi PE dan etanol menunjukkan adanya aktivitas antimikrobia terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Sedangkan pada *Escherichia coli* tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikrobia. Fraksi air hanya menunjukkan adanya aktivitas antimikrobia terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Dari uji identifikasi senyawa kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis didapatkan bahwa daun ketapang mengandung saponin pada fraksi etanol, flavonoid pada fraksi petroleum eter dan tanin pada fraksi air.

B. Saran

Dari hasil penelitian uji aktivitas antimikrobia daun ketapang (*Terminalia catappa, L*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* serta profil Kromatografi Lapis Tipisnya, maka dapat disarankan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antimikrobia dengan metode dilusi cair untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).
2. Perlu dilakukan uji bioautografi untuk menentukan senyawa aktif dari daun ketapang yang mempunyai aktivitas antimikrobia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C., J., 1970, *Introducing Micology*, 2nd edition, 409-410, John, Wiley & Sons, New York, London, Sidney.
- Anonim^a, 1995, *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Anonim^b, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, hal 7-9, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 1997, *Mikrobiologi*, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, UGM, Yogyakarta.
- Anonim, 1999, *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, hal 24-26, 116-117, Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran UGM, Jogjakarta.
- Backer, C. A., & Bachuizen van den Brink, R. C., 1965, *Flora of Java*, Volume I, 544-592, N. V. P. Noor Dhoff-Groningen-The Netherland.
- Cowan, M.M., 1999, *Plant Product as Antimicrobial Agent*, pp 569-571, America Society for Microbiology, USA.
- Claus, E. P., Tyler, V.E., Brandy, L.R., 1970, *Pharmacognosy*, Sixth Edition., Lea and Febiger., Philadelphia., 160.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., & Schwarting A.E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 107-137, Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih, P. dan Iwang, S., Penerbit ITB, Bandung.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, jilid III, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 1986, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, 16th ed., p.150-151, 242, 290, ECG, Jakarta.
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Jilid I, diterjemahkan oleh Saptohardjo, A., 155-156, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Lorian, V., 1980, *Antibiotic in Laboratory Medicine*, Waverly, Press. Inc, Mt. Royal and Guilford Aves, Baltimore, USA.

- Macek, K., 1972, *Pharmaceutical Application Of Thin-Layer and Paper Chromatography*, 534, Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Manitto, P.S., 1992, *Biosintesis Produk Alami*, hal 381-382, diterjemahkan oleh Koensoemardiyah, IKIP Semarang.
- Pelczar, M.J., & Chan., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid II, 115-160, 448, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Salle, A.J., 1961, *Fundamental Principles of Bacteriology*, 5th ed., 404-415, 485, Mc graw Hill Book Compaky Inc., Kogashuka Company Ltd, Tokyo.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Kromatografi*, Edisi II, 23-25, Penerbit Liberty, Jogjakarta.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, 3-16, Penerbit ITB, Bandung.
- Sudjadi, 1988, *Metode Pemisahan*, Penerbit Kanisius, UGM Fakultas Farmasi, Jogjakarta
- Sujudi, 1993, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, hal 103-113, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Thomas A.N.S, 1989, *Tanaman Obat Tradisional*, hal 11-12, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Tomlinson, P.B., 1986, *The Botany of Mangroves*, Cambridge University Press, Karibia.
- Unus, S., 1986, *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Cetakan Kelima, hal 61-65, Penerbit PT. Angkasa, Bandung.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, 551-584, Penerbit Gadjah Mada University Press, Jogjakarta.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E. M., 1984, *Plant Drugs Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer, Verlag, Tokyo.

LAMPIRAN



**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
LABORATORIUM BIOLOGI FARMASI**

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

SURAT KETERANGAN

Nomor:102/ UII/Jur Far/ det/VII/2006

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Nilati Dzakiyah
NIM : 01613195
Pada Tanggal : 27 Juli 2006

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Terminalia catappa*,Linn (ketapang)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.



Yogyakarta, 27 Juli 2006
Laboratorium Biologi Farmasi
Kepala

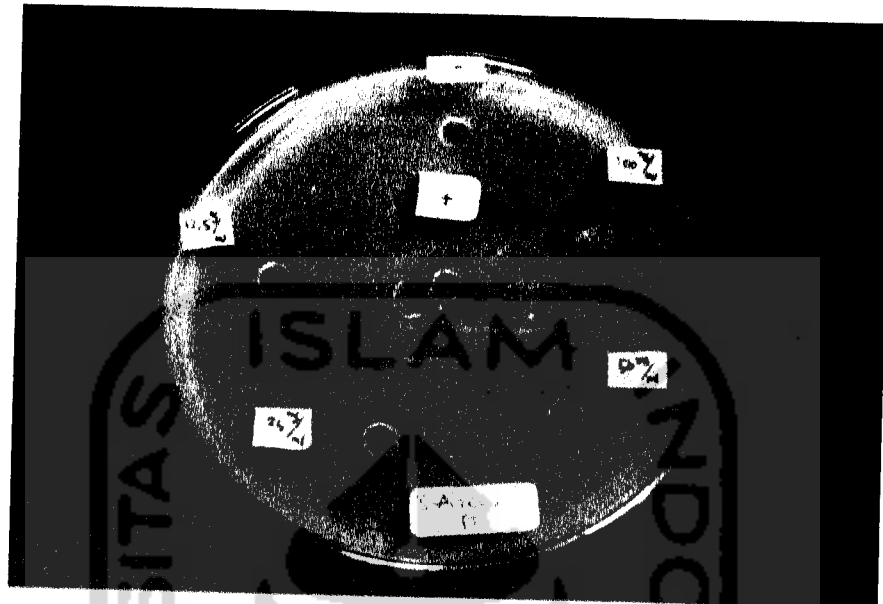
an

Asih Triastuti
Asih Triastuti, S.F., Apt
NIP. 03.469/MP

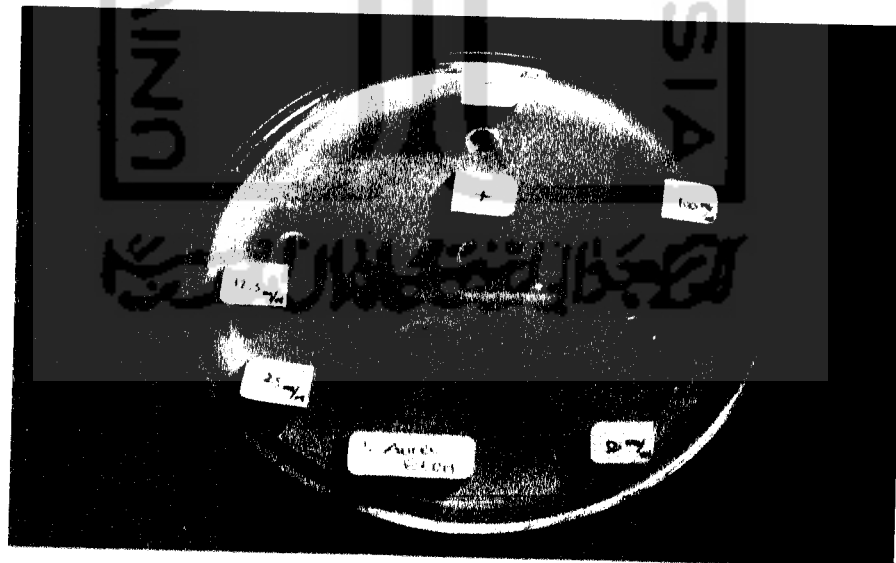
Lampiran 1. Foto tumbuhan ketapang (*Terminalia catappa*. L)



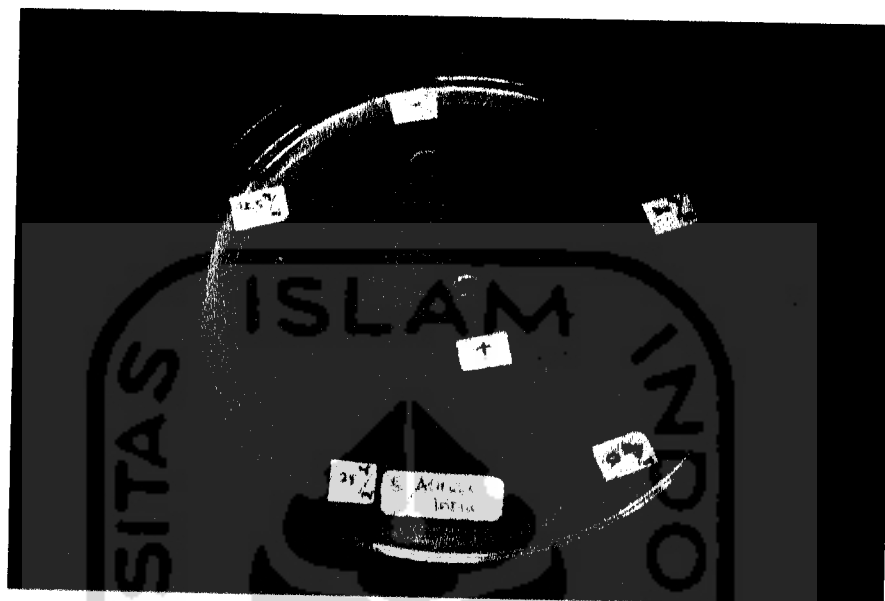
Lampiran 2. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi PE terhadap *S. aureus*



Lampiran 3. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap *S. aureus*



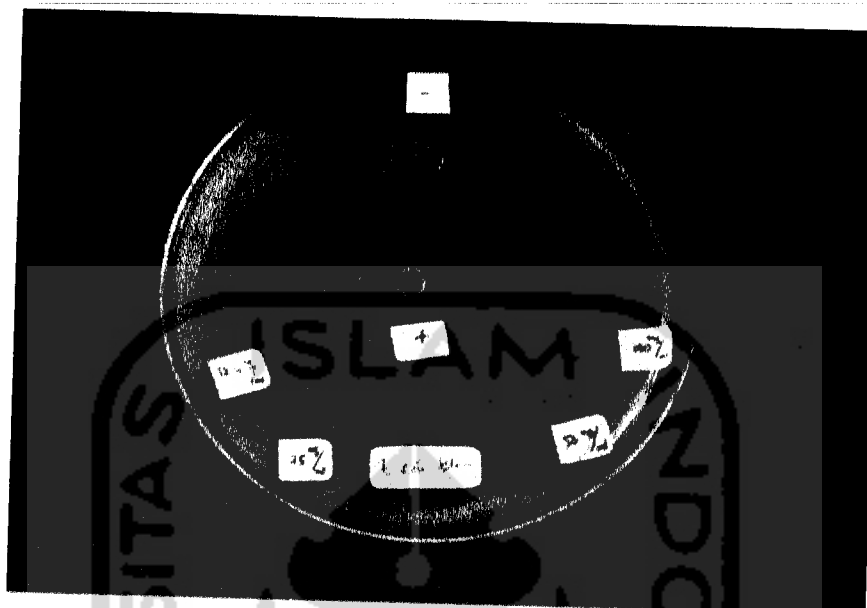
Lampiran 4. Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap *S. aureus*



Lampiran 5. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi PE terhadap *E. coli*



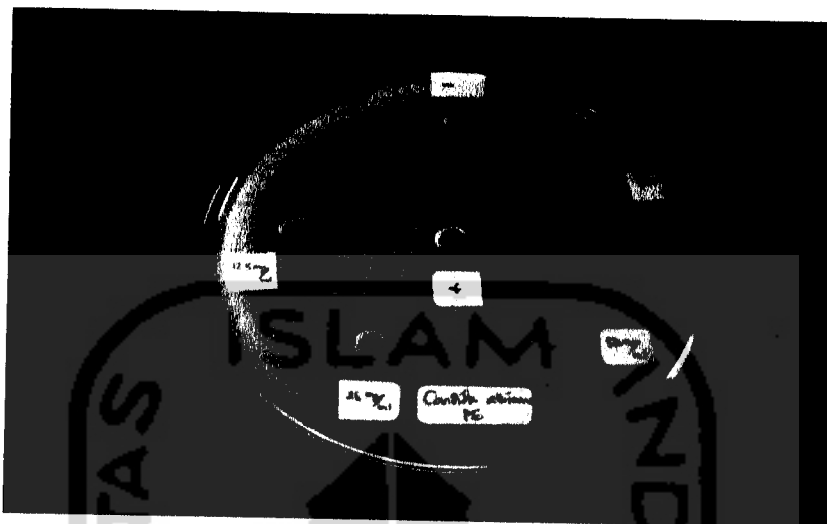
Lampiran 6. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap *E. coli*



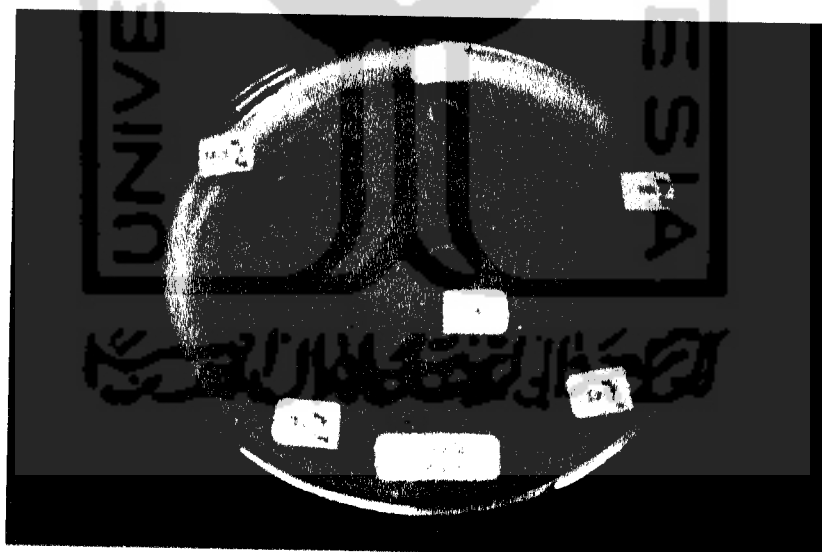
Lampiran 7. Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap *E. coli*



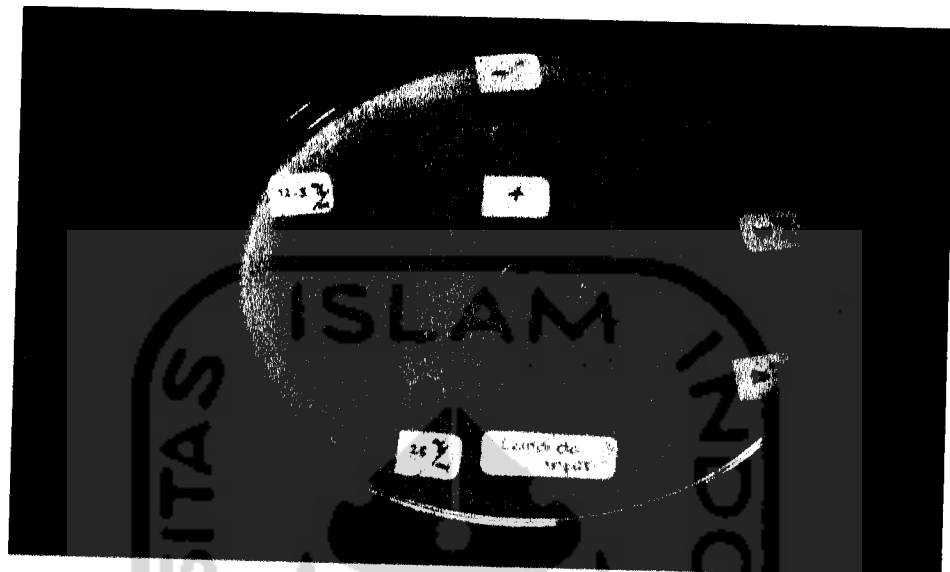
Lampiran 8. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi PE terhadap *Candida albicans*



Lampiran 9. Foto uji aktivitas antimikrobia fraksi etanol terhadap *Candida albicans*



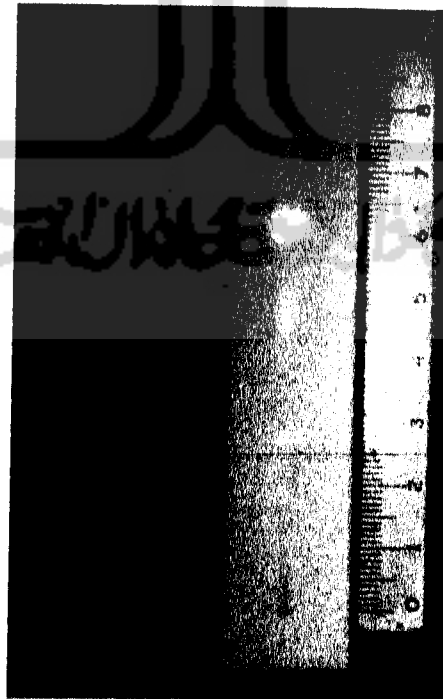
Lampiran 10. Foto uji aktivitas antimikrobia infus terhadap *Candida albicans*



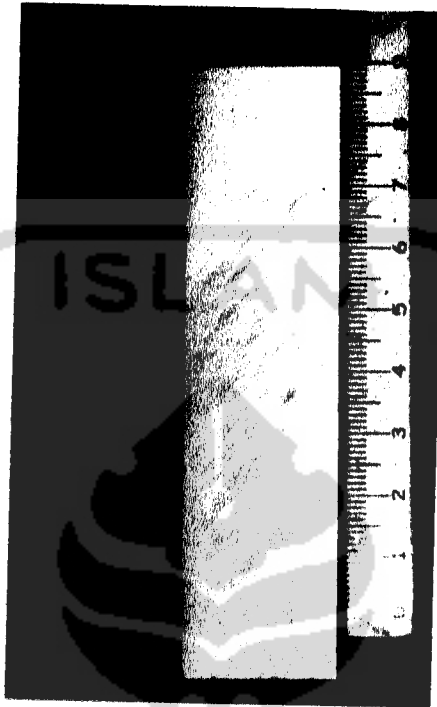
Lampiran 11. Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dengan pereaksi Liebermann-Burchard dideteksi di bawah UV₂₅₄



Lampiran 12. Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dengan pereaksi semprot Liebermann-Burchard dideteksi di bawah UV₃₆₆



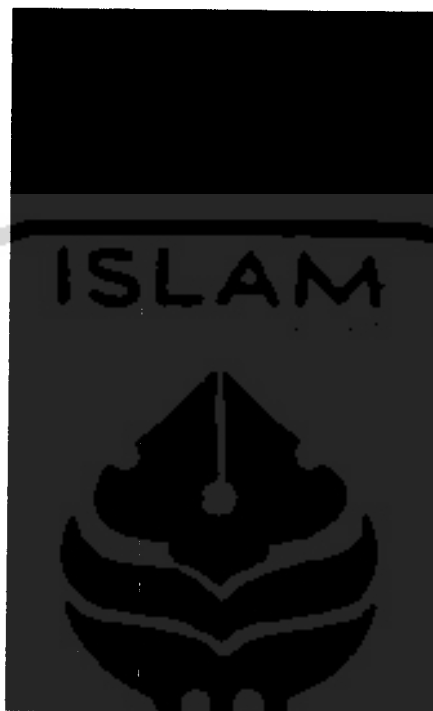
Lampiran 13. Foto kromatogram uji senyawa saponin dari fraksi etanol, dengan pereaksi semprot Liebermann-Burchard dideteksi di bawah sinar tampak



Lampiran 14. Foto kromatogram uji senyawa flavanoid dari fraksi PE, dengan pereaksi aluminium klorida dideteksi dibawah UV₂₅₄



Lampiran 15. Foto kromatogram uji senyawa flavanoid dari fraksi PE dengan pereaksi alumunium florida dideteksi dibawah UV₃₆₆



Lampiran 16. Foto kromatogram uji senyawa flavanoid dari fraksi PE, dengan pereaksi semprot alumunium klorida dideteksi dibawah sinar tampak



Lampiran 17. Foto kromatogram uji senyawa tanin dari ekstrak air, dengan pereaksi semprot Ferri klorida dideteksi dibawah UV₂₅₄



Lampiran 18. Foto kromatogram uji senyawa tanin dari ekstrak air, dengan pereaksi semprot ferri klorida dideteksi dibawah UV₃₆₆



Lampiran 19. Foto kromatogram uji senyawa tanin dari ekstrak air, dengan pereaksi ferri klorida dideteksi dibawah sinar tampak



Lampiran 20. Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak PE daun ketapang terhadap bakteri *S. aureus*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan PE (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	10.7500	2.40080	6.00	13.30

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan PE (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	10.7500
	Std. Deviation	1.75734	2.40080
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.211
	Positive	.137	.144
	Negative	-.137	-.211
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	.894
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.401

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.2000	.10000	.05774	11.9516	12.4484	12.10	12.30
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	10.0333	.05774	.03333	9.8899	10.1768	10.00	10.10
kadar 25	3	11.0667	.05774	.03333	10.9232	11.2101	11.00	11.10
kadar 50	3	12.1000	.10000	.05774	11.8516	12.3484	12.00	12.20
kadar 100	3	13.1000	.17321	.10000	12.6697	13.5303	13.00	13.30
Total	18	10.7500	2.40080	.56587	9.5561	11.9439	6.00	13.30

Lampiran 20. (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	97.872	5	19.574	2072.576	.000
Within Groups	.113	12	.009		
Total	97.985	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan PE (mg/ml)	(J) perlakuan PE (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.2000(*)	.07935	.000	5.9335	6.4665
	kadar 12.5	2.1667(*)	.07935	.000	1.9001	2.4332
	kadar 25	1.1333(*)	.07935	.000	.8668	1.3999
	kadar 50	.1000	.07935	.800	-.1665	.3665
	kadar 100	-.9000(*)	.07935	.000	-1.1665	-.6335
kontrol -	kontrol +	-6.2000(*)	.07935	.000	-6.4665	-5.9335
	kadar 12.5	-4.0333(*)	.07935	.000	-4.2999	-3.7668
	kadar 25	-5.0667(*)	.07935	.000	-5.3332	-4.8001
	kadar 50	-6.1000(*)	.07935	.000	-6.3665	-5.8335
	kadar 100	-7.1000(*)	.07935	.000	-7.3665	-6.8335
kadar 12.5	kontrol +	-2.1667(*)	.07935	.000	-2.4332	-1.9001
	kontrol -	4.0333(*)	.07935	.000	3.7668	4.2999
	kadar 25	-1.0333(*)	.07935	.000	-1.2999	-.7668
	kadar 50	-2.0667(*)	.07935	.000	-2.3332	-1.8001
	kadar 100	-3.0667(*)	.07935	.000	-3.3332	-2.8001
kadar 25	kontrol +	-1.1333(*)	.07935	.000	-1.3999	-.8668
	kontrol -	5.0667(*)	.07935	.000	4.8001	5.3332
	kadar 12.5	1.0333(*)	.07935	.000	.7668	1.2999
	kadar 50	-1.0333(*)	.07935	.000	-1.2999	-.7668
	kadar 100	-2.0333(*)	.07935	.000	-2.2999	-1.7668

kadar 50	kontrol +	-1.000	.07935	.800	-.3665	.1665
	kontrol -	6.1000(*)	.07935	.000	5.8335	6.3665
	kadar 12.5	2.0667(*)	.07935	.000	1.8001	2.3332
	kadar 25	1.0333(*)	.07935	.000	.7668	1.2999
	kadar 100	-1.0000(*)	.07935	.000	-1.2665	-.7335
kadar 100	kontrol +	.9000(*)	.07935	.000	.6335	1.1665
	kontrol -	7.1000(*)	.07935	.000	6.8335	7.3665
	kadar 12.5	3.0667(*)	.07935	.000	2.8001	3.3332
	kadar 25	2.0333(*)	.07935	.000	1.7668	2.2999
	kadar 50	1.0000(*)	.07935	.000	.7335	1.2665

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan PE (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol -	3	6.0000				
kadar 12.5	3		10.0333			
kadar 25	3			11.0667		
kadar 50	3				12.1000	
kontrol +	3				12.2000	
kadar 100	3					13.1000
Significance		1.000	1.000	1.000	.800	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak etanol daun ketapang terhadap bakteri *S. aureus*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan etanol (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	9.4556	2.47985	6.00	12.30

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan etanol (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	9.4556
	Std. Deviation	1.75734	2.47985
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.181
	Positive	.137	.141
	Negative	-.137	-.181
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	.767
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.598

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.1000	.17321	.10000	11.6697	12.5303	12.00	12.30
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	7.1333	.15275	.08819	6.7539	7.5128	7.00	7.30
kadar 25	3	8.4667	.15275	.08819	8.0872	8.8461	8.30	8.60
kadar 50	3	10.8333	.28868	.16667	10.1162	11.5504	10.50	11.00
kadar 100	3	12.2000	.10000	.05774	11.9516	12.4484	12.10	12.30
Total	18	9.4556	2.47985	.58451	8.2224	10.6888	6.00	12.30

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
3.814	5	12	.027

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	104.204	5	20.841	735.561	.000
Within Groups	.340	12	.028		
Total	104.544	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan etanol (mg/ml)	(J) perlakuan etanol (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.1000(*)	.13744	.000	5.6384	6.5616
	kadar 12.5	4.9667(*)	.13744	.000	4.5050	5.4283
	kadar 25	3.6333(*)	.13744	.000	3.1717	4.0950
	kadar 50	1.2667(*)	.13744	.000	.8050	1.7283
	kadar 100	-.1000	.13744	.975	-.5616	.3616
kontrol -	kontrol +	-6.1000(*)	.13744	.000	-6.5616	-5.6384
	kadar 12.5	-1.1333(*)	.13744	.000	-1.5950	-.6717
	kadar 25	-2.4667(*)	.13744	.000	-2.9283	-2.0050
	kadar 50	-4.8333(*)	.13744	.000	-5.2950	-4.3717
	kadar 100	-6.2000(*)	.13744	.000	-6.6616	-5.7384
kadar 12.5	kontrol +	-4.9667(*)	.13744	.000	-5.4283	-4.5050
	kontrol -	1.1333(*)	.13744	.000	.6717	1.5950
	kadar 25	-1.3333(*)	.13744	.000	-1.7950	-.8717
	kadar 50	-3.7000(*)	.13744	.000	-4.1616	-3.2384
	kadar 100	-5.0667(*)	.13744	.000	-5.5283	-4.6050
kadar 25	kontrol +	-3.6333(*)	.13744	.000	-4.0950	-3.1717
	kontrol -	2.4667(*)	.13744	.000	2.0050	2.9283
	kadar 12.5	1.3333(*)	.13744	.000	.8717	1.7950
	kadar 50	-2.3667(*)	.13744	.000	-2.8283	-1.9050
	kadar 100	-3.7333(*)	.13744	.000	-4.1950	-3.2717
kadar 50	kontrol +	-1.2667(*)	.13744	.000	-1.7283	-.8050
	kontrol -	4.8333(*)	.13744	.000	4.3717	5.2950
	kadar 12.5	3.7000(*)	.13744	.000	3.2384	4.1616
	kadar 25	2.3667(*)	.13744	.000	1.9050	2.8283

kadar 100	kadar 100	-1.3667(*)	.13744	.000	-1.8283	-.9050
	kontrol +	.1000	.13744	.975	-.3616	.5616
	kontrol -	6.2000(*)	.13744	.000	5.7384	6.6616
	kadar 12.5	5.0667(*)	.13744	.000	4.6050	5.5283
	kadar 25	3.7333(*)	.13744	.000	3.2717	4.1950
	kadar 50	1.3667(*)	.13744	.000	.9050	1.8283

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan etanol (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol -	3	6.0000				
kadar 12.5	3		7.1333			
kadar 25	3			8.4667		
kadar 50	3				10.8333	
kontrol +	3					12.1000
kadar 100	3					12.2000
Significance		1.000	1.000	1.000	1.000	.975

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak air daun ketapang terhadap bakteri *S. aureus*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan infus (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	11.4000	2.64464	6.00	14.20

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan infus (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	11.4000
	Std. Deviation	1.75734	2.64464
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.271
	Positive	.137	.146
	Negative	-.137	-.271
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	1.150
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.142

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.2333	.15275	.08819	11.8539	12.6128	12.10	12.40
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	11.0333	.11547	.06667	10.7465	11.3202	10.90	11.10
kadar 25	3	12.2333	.05774	.03333	12.0899	12.3768	12.20	12.30
kadar 50	3	13.0000	.20000	.11547	12.5032	13.4968	12.80	13.20
kadar 100	3	13.9000	.36056	.20817	13.0043	14.7957	13.50	14.20
Total	18	11.4000	2.64464	.62335	10.0849	12.7151	6.00	14.20

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
3.480	5	12	.036

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	118.480	5	23.696	677.029	.000
Within Groups	.420	12	.035		
Total	118.900	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var =

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan infus (mg/ml)	(J) perlakuan infus (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.2333(*)	.15275	.000	5.7202	6.7464
	kadar 12.5	1.2000(*)	.15275	.000	.6869	1.7131
	kadar 25	.0000	.15275	1.000	-.5131	.5131
	kadar 50	-.7667(*)	.15275	.003	-1.2798	-.2536
kontrol -	kadar 100	-1.6667(*)	.15275	.000	-2.1798	-1.1536
	kontrol +	-6.2333(*)	.15275	.000	-6.7464	-5.7202
	kadar 12.5	-5.0333(*)	.15275	.000	-5.5464	-4.5202
	kadar 25	-6.2333(*)	.15275	.000	-6.7464	-5.7202
kadar 12.5	kadar 50	-7.0000(*)	.15275	.000	-7.5131	-6.4869
	kadar 100	-7.9000(*)	.15275	.000	-8.4131	-7.3869
	kontrol +	-1.2000(*)	.15275	.000	-1.7131	-.6869
	kontrol -	5.0333(*)	.15275	.000	4.5202	5.5464
kadar 25	kadar 50	-1.2000(*)	.15275	.000	-1.7131	-.6869
	kadar 100	-1.9667(*)	.15275	.000	-2.4798	-1.4536
	kadar 12.5	-2.8667(*)	.15275	.000	-3.3798	-2.3536
	kontrol +	.0000	.15275	1.000	-.5131	.5131
kadar 50	kontrol -	6.2333(*)	.15275	.000	5.7202	6.7464
	kadar 12.5	1.2000(*)	.15275	.000	.6869	1.7131
	kadar 25	-.7667(*)	.15275	.003	-1.2798	-.2536
	kadar 100	-1.6667(*)	.15275	.000	-2.1798	-1.1536
	kontrol +	.7667(*)	.15275	.003	.2536	1.2798
	kontrol -	7.0000(*)	.15275	.000	6.4869	7.5131
	kadar 12.5	1.9667(*)	.15275	.000	1.4536	2.4798
	kadar 25	.7667(*)	.15275	.003	.2536	1.2798

kadar 100	kadar 100	-.9000(*)	.15275	.001	-1.4131	-.3869
	kontrol +	1.6667(*)	.15275	.000	1.1536	2.1798
	kontrol -	7.9000(*)	.15275	.000	7.3869	8.4131
	kadar 12.5	2.8667(*)	.15275	.000	2.3536	3.3798
	kadar 25	1.6667(*)	.15275	.000	1.1536	2.1798
	kadar 50	.9000(*)	.15275	.001	.3869	1.4131

- Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan infus (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol -	3	6.0000				
kadar 12.5	3		11.0333			
kontrol +	3			12.2333		
kadar 25	3			12.2333		
kadar 50	3				13.0000	
kadar 100	3					13.9000
Significance		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak PE daun ketapang terhadap bakteri *E. coli*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan PE (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	7.1611	2.67211	6.00	13.10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan PE (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	7.1611
	Std. Deviation	1.75734	2.67211
	Most Extreme Differences		
Absolute	Absolute	.137	.501
	Positive	.137	.501
	Negative	-.137	-.332
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	2.127
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.000

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.9667	.15275	.08819	12.5872	13.3461	12.80	13.10
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	18	7.1611	2.67211	.62982	5.8323	8.4899	6.00	13.10

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
7.692	5	12	.002

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	121.336	5	24.267	6240.143	.000
Within Groups	.047	12	.004		
Total	121.383	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan PE (mg/ml)	(J) perlakuan PE (mg/ml)	Mean Differenc e (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.9667(*)	.05092	.000	6.7956	7.1377
	kadar 12.5	6.9667(*)	.05092	.000	6.7956	7.1377
	kadar 25	6.9667(*)	.05092	.000	6.7956	7.1377
	kadar 50	6.9667(*)	.05092	.000	6.7956	7.1377
	kadar 100	6.9667(*)	.05092	.000	6.7956	7.1377
kontrol -	kontrol +	-.0000	.05092	1.000	-7.1377	-6.7956
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 12.5	kontrol +	6.9667(*)	.05092	.000	-7.1377	-6.7956
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 25	kontrol +	6.9667(*)	.05092	.000	-7.1377	-6.7956
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710

kadar 50	kontrol +	-	.05092	.000	-7.1377	-6.7956
	kontrol -	6.9667(*)	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 100	kontrol +	-	.05092	.000	-7.1377	-6.7956
	kontrol -	6.9667(*)	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan PE (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol -	3	6.0000	
kadar 12.5	3	6.0000	
kadar 25	3	6.0000	
kadar 50	3	6.0000	
kadar 100	3	6.0000	
kontrol +	3		12.9667
Significance		1.000	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak etanol daun ketapang terhadap bakteri *E. coli*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan etanol (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	7.1778	2.71132	6.00	13.30

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan etanol (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	7.1778
	Std. Deviation	1.75734	2.71132
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.501
	Positive	.137	.501
	Negative	-.137	-.332
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	2.127
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.000

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	13.0667	.25166	.14530	12.4415	13.6918	12.80	13.30
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	18	7.1778	2.71132	.63906	5.8295	8.5261	6.00	13.30

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
5.953	5	12	.005

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	124.844	5	24.969	2365.474	.000
Within Groups	.127	12	.011		
Total	124.971	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan etanol (mg/ml)	(J) perlakuan etanol (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	7.0667(*)	.08389	.000	6.7849	7.3484
	kadar 12.5	7.0667(*)	.08389	.000	6.7849	7.3484
	kadar 25	7.0667(*)	.08389	.000	6.7849	7.3484
	kadar 50	7.0667(*)	.08389	.000	6.7849	7.3484
	kadar 100	7.0667(*)	.08389	.000	6.7849	7.3484
kontrol -	kontrol +	-7.0667(*)	.08389	.000	-7.3484	-6.7849
	kadar 12.5	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 25	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 50	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 100	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
kadar 12.5	kontrol +	-7.0667(*)	.08389	.000	-7.3484	-6.7849
	kontrol -	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 25	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 50	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 100	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
kadar 25	kontrol +	-7.0667(*)	.08389	.000	-7.3484	-6.7849
	kontrol -	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 12.5	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 50	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 100	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
kadar 50	kontrol +	-7.0667(*)	.08389	.000	-7.3484	-6.7849
	kontrol -	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 12.5	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818

	kadar 25	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 100	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
kadar 100	kontrol +	-7.0667(*)	.08389	.000	-7.3484	-6.7849
	kontrol -	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 12.5	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 25	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818
	kadar 50	.0000	.08389	1.000	-.2818	.2818

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan etanol (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol -	3	6.0000	
kadar 12.5	3	6.0000	
kadar 25	3	6.0000	
kadar 50	3	6.0000	
kadar 100	3	6.0000	
kontrol +	3		13.0667
Significance		1.000	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak air daun ketapang terhadap bakteri *E. coli*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan infus (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	7.2056	2.77435	6.00	13.40

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan infus (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	7.2056
	Std. Deviation	1.75734	2.77435
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.501
	Positive	.137	.501
	Negative	-.137	-.332
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	2.127
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.000

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	13.2333	.15275	.08819	12.8539	13.6128	13.10	13.40
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	18	7.2056	2.77435	.65392	5.8259	8.5852	6.00	13.40

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
7.692	5	12	.002

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	130.803	5	26.161	6727.000	.000
Within Groups	.047	12	.004		
Total	130.849	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan infus (mg/ml)	(J) perlakuan infus (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	7.2333(*)	.05092	.000	7.0623	7.4044
	kadar 12.5	7.2333(*)	.05092	.000	7.0623	7.4044
	kadar 25	7.2333(*)	.05092	.000	7.0623	7.4044
	kadar 50	7.2333(*)	.05092	.000	7.0623	7.4044
	kadar 100	7.2333(*)	.05092	.000	7.0623	7.4044
kontrol -	kontrol +	-7.2333(*)	.05092	.000	-7.4044	-7.0623
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 12.5	kontrol +	-7.2333(*)	.05092	.000	-7.4044	-7.0623
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 25	kontrol +	-7.2333(*)	.05092	.000	-7.4044	-7.0623
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 50	kontrol +	-7.2333(*)	.05092	.000	-7.4044	-7.0623
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710

	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 100	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
kadar 100	kontrol +	-7.2333(*)	.05092	.000	-7.4044	-7.0623
	kontrol -	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 12.5	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 25	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710
	kadar 50	.0000	.05092	1.000	-.1710	.1710

- Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan infus (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol -	3	6.0000	
kadar 12.5	3	6.0000	
kadar 25	3	6.0000	
kadar 50	3	6.0000	
kadar 100	3	6.0000	
kontrol +	3		13.2333
Significance		1.000	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak PE daun ketapang terhadap jamur *Candida albicans*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan PE (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	8.0778	2.14025	6.00	12.20

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan PE (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	8.0778
	Std. Deviation	1.75734	2.14025
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.168
	Positive	.137	.168
	Negative	-.137	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	.711
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.693

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.1000	.10000	.05774	11.8516	12.3484	12.00	12.20
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 25	3	7.4667	.30551	.17638	6.7078	8.2256	7.20	7.80
kadar 50	3	8.1667	.30551	.17638	7.4078	8.9256	7.90	8.50
kadar 100	3	8.7333	.55076	.31798	7.3652	10.1015	8.20	9.30
Total	18	8.0778	2.14025	.50446	7.0135	9.1421	6.00	12.20

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
3.137	5	12	.049

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	76.871	5	15.374	184.491	.000
Within Groups	1.000	12	.083		
Total	77.871	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan PE (mg/ml)	(J) perlakuan PE (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.1000(*)	.23570	.000	5.3083	6.8917
	kadar 12.5	6.1000(*)	.23570	.000	5.3083	6.8917
	kadar 25	4.6333(*)	.23570	.000	3.8416	5.4250
	kadar 50	3.9333(*)	.23570	.000	3.1416	4.7250
	kadar 100	3.3667(*)	.23570	.000	2.5750	4.1584
kontrol -	kontrol +	-6.1000(*)	.23570	.000	-6.8917	-5.3083
	kadar 12.5	.0000	.23570	1.000	-.7917	.7917
	kadar 25	-1.4667(*)	.23570	.000	-2.2584	-.6750
	kadar 50	-2.1667(*)	.23570	.000	-2.9584	-1.3750
	kadar 100	-2.7333(*)	.23570	.000	-3.5250	-1.9416
kadar 12.5	kontrol +	-6.1000(*)	.23570	.000	-6.8917	-5.3083
	kontrol -	.0000	.23570	1.000	-.7917	.7917
	kadar 25	-1.4667(*)	.23570	.000	-2.2584	-.6750
	kadar 50	-2.1667(*)	.23570	.000	-2.9584	-1.3750
	kadar 100	-2.7333(*)	.23570	.000	-3.5250	-1.9416
kadar 25	kontrol +	-4.6333(*)	.23570	.000	-5.4250	-3.8416
	kontrol -	1.4667(*)	.23570	.000	.6750	2.2584
	kadar 12.5	1.4667(*)	.23570	.000	.6750	2.2584
	kadar 50	-.7000	.23570	.095	-1.4917	.0917
	kadar 100	-1.2667(*)	.23570	.002	-2.0584	-.4750
kadar 50	kontrol +	-3.9333(*)	.23570	.000	-4.7250	-3.1416
	kontrol -	2.1667(*)	.23570	.000	1.3750	2.9584
	kadar 12.5	2.1667(*)	.23570	.000	1.3750	2.9584

	kadar 25	.7000	.23570	.095	-.0917	1.4917
	kadar 100	-.5667	.23570	.229	-1.3584	.2250
kadar 100	kontrol +	-3.3667(*)	.23570	.000	-4.1584	-2.5750
	kontrol -	2.7333(*)	.23570	.000	1.9416	3.5250
	kadar 12.5	2.7333(*)	.23570	.000	1.9416	3.5250
	kadar 25	1.2667(*)	.23570	.002	.4750	2.0584
	kadar 50	.5667	.23570	.229	-.2250	1.3584

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan PE (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kontrol -	3	6.0000			
kadar 12.5	3	6.0000			
kadar 25	3		7.4667		
kadar 50	3		8.1667	8.1667	
kadar 100	3			8.7333	
kontrol +	3				12.1000
Significance		1.000	.095	.229	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak Etanol daun ketapang terhadap jamur *Candida albicans*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan etanol (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	8.4333	1.95373	6.00	12.75

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan etanol (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	8.4333
	Std. Deviation	1.75734	1.95373
Most Extreme Differences	Absolute	.137	.209
	Positive	.137	.209
	Negative	-.137	-.106
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	.889
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.408

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.1500	.68739	.39686	10.4424	13.8576	11.40	12.75
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	7.4500	.21794	.12583	6.9086	7.9914	7.20	7.60
kadar 25	3	7.9000	.17321	.10000	7.4697	8.3303	7.80	8.10
kadar 50	3	8.2833	.28431	.16415	7.5771	8.9896	8.05	8.60
kadar 100	3	8.8167	.28431	.16415	8.1104	9.5229	8.50	9.05
Total	18	8.4333	1.95373	.46050	7.4618	9.4049	6.00	12.75

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
3.629	5	12	.031

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	63.467	5	12.693	107.016	.000
Within Groups	1.423	12	.119		
Total	64.890	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan etanol (mg/ml)	(J) perlakuan etanol (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.1500(*)	.28120	.000	5.2055	7.0945
	kadar 12.5	4.7000(*)	.28120	.000	3.7555	5.6445
	kadar 25	4.2500(*)	.28120	.000	3.3055	5.1945
	kadar 50	3.8667(*)	.28120	.000	2.9221	4.8112
	kadar 100	3.3333(*)	.28120	.000	2.3888	4.2779
kontrol -	kontrol +	-6.1500(*)	.28120	.000	-7.0945	-5.2055
	kadar 12.5	-1.4500(*)	.28120	.003	-2.3945	-.5055
	kadar 25	-1.9000(*)	.28120	.000	-2.8445	-.9555
	kadar 50	-2.2833(*)	.28120	.000	-3.2279	-1.3388
	kadar 100	-2.8167(*)	.28120	.000	-3.7612	-1.8721
kadar 12.5	kontrol +	-4.7000(*)	.28120	.000	-5.6445	-3.7555
	kontrol -	1.4500(*)	.28120	.003	.5055	2.3945
	kadar 25	-.4500	.28120	.613	-1.3945	.4945
	kadar 50	-.8333	.28120	.096	-1.7779	.1112
	kadar 100	-1.3667(*)	.28120	.004	-2.3112	-.4221
kadar 25	kontrol +	-4.2500(*)	.28120	.000	-5.1945	-3.3055
	kontrol -	1.9000(*)	.28120	.000	.9555	2.8445
	kadar 12.5	.4500	.28120	.613	-.4945	1.3945
	kadar 50	-.3833	.28120	.747	-1.3279	.5612
	kadar 100	-.9167	.28120	.059	-1.8612	.0279
kadar 50	kontrol +	-3.8667(*)	.28120	.000	-4.8112	-2.9221
	kontrol -	2.2833(*)	.28120	.000	1.3388	3.2279

	kadar 12.5	.8333	.28120	.096	-.1112	1.7779
	kadar 25	.3833	.28120	.747	-.5612	1.3279
	kadar 100	-.5333	.28120	.448	-1.4779	.4112
kadar 100	kontrol +	-3.3333(*)	.28120	.000	-4.2779	-2.3888
	kontrol -	2.8167(*)	.28120	.000	1.8721	3.7612
	kadar 12.5	1.3667(*)	.28120	.004	.4221	2.3112
	kadar 25	.9167	.28120	.059	-.0279	1.8612
	kadar 50	.5333	.28120	.448	-.4112	1.4779

- Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan etanol (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
kontrol -	3	6.0000			
kadar 12.5	3		7.4500		
kadar 25	3		7.9000	7.9000	
kadar 50	3		8.2833	8.2833	
kadar 100	3			8.8167	
kontrol +	3				12.1500
Significance		1.000	.096	.059	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 20 (lanjutan) Hasil anova satu arah dan uji tukey ekstrak infus daun ketapang terhadap jamur *Candida albicans*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan infus (mg/ml)	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00
hambatan (mm)	18	7.0556	2.43098	6.00	12.60

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan infus (mg/ml)	hambatan (mm)
N		18	18
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	7.0556
	Std. Deviation	1.75734	2.43098
	Most Extreme Differences		
	Absolute	.137	.501
	Positive	.137	.501
	Negative	-.137	-.332
Kolmogorov-Smirnov Z		.580	2.127
Asymptotic Significance (2-tailed)		.890	.000

a Test Distribution is Normal

b Calculated from data

Oneway

ONEWAY Descriptives

hambatan (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol +	3	12.3333	.30551	.17638	11.5744	13.0922	12.00	12.60
kontrol -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
kadar 100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	18	7.0556	2.43098	.57299	5.8467	8.2645	6.00	12.60

Test of Homogeneity of Variances

hambatan (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Significance
7.692	5	12	.002

Lampiran 20 (lanjutan)

ONEWAY ANOVA

hambatan (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	100.278	5	20.056	1289.286	.000
Within Groups	.187	12	.016		
Total	100.464	17			

Robust Tests of Equality of Means(b)

hambatan (mm)

	Statistic(a)	df1	df2	Sig.
Welch				

a Asymptotically F distributed.

b Mean test of hambatan (mm), var = 0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hambatan (mm)

Tukey HSD

(I) perlakuan infus (mg/ml)	(J) perlakuan infus (mg/ml)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	kontrol -	6.3333(*)	.10184	.000	5.9913	6.6754
	kadar 12.5	6.3333(*)	.10184	.000	5.9913	6.6754
	kadar 25	6.3333(*)	.10184	.000	5.9913	6.6754
	kadar 50	6.3333(*)	.10184	.000	5.9913	6.6754
	kadar 100	6.3333(*)	.10184	.000	5.9913	6.6754
kontrol -	kontrol +	-6.3333(*)	.10184	.000	-6.6754	-5.9913
	kadar 12.5	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 25	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 50	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 100	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
kadar 12.5	kontrol +	-6.3333(*)	.10184	.000	-6.6754	-5.9913
	kontrol -	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 25	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 50	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 100	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
kadar 25	kontrol +	-6.3333(*)	.10184	.000	-6.6754	-5.9913
	kontrol -	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 12.5	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 50	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 100	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
kadar 50	kontrol +	-6.3333(*)	.10184	.000	-6.6754	-5.9913
	kontrol -	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 12.5	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421

	kadar 25	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 100	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
kadar 100	kontrol +	-6.3333(*)	.10184	.000	-6.6754	-5.9913
	kontrol -	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 12.5	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 25	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421
	kadar 50	.0000	.10184	1.000	-.3421	.3421

* Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

hambatan (mm)

Tukey HSD

perlakuan infus (mg/ml)	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol -	3	6.0000	
kadar 12.5	3	6.0000	
kadar 25	3	6.0000	
kadar 50	3	6.0000	
kadar 100	3	6.0000	
kontrol +	3		12.3333
Significance		1.000	1.000

Means are displayed ...

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000