

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK
DAUN URANG ARING (*Eclipta prostrata* L.) TERHADAP
Candida albicans, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN
Escherichia coli ATCC 35218 DENGAN METODE
BIOAUTOGRAFI**

SKRIPSI



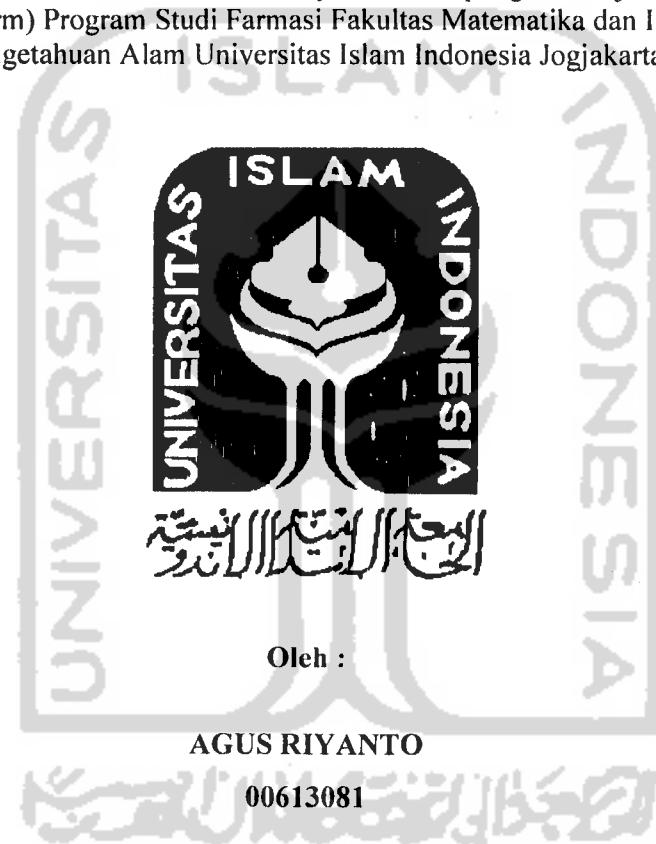
AGUS RYANTO
00613081

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
FEBRUARI 2005**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK
DAUN URANG ARING (*Eclipta prostrata* L.) TERHADAP
Candida albicans, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN
Escherichia coli ATCC 35218 DENGAN METODE
BIOAUTOGRAFI**

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 :

AGUS RIYANTO

00613081

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
FEBRUARI 2005

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK
DAUN URANG ARING (*Eclipta prostrata L.*) TERHADAP *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Escherichia coli* ATCC 35218 DENGAN METODE BIOAUTOGRAFI**



SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK DAUN URANG ARING (*Eclipta prostrata* L.) TERHADAP *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Escherichia coli* ATCC 35218 DENGAN METODE BIOAUTOGRAFI

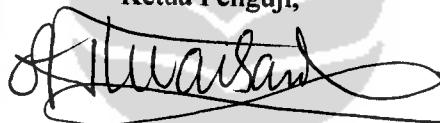
Oleh :

**AGUS RIYANTO
00613081**

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

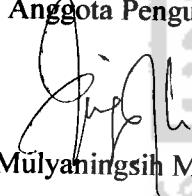
Tanggal : 16 Februari 2005

Ketua Penguji,



Dr. C.J. Soegihardjo, Apt

Anggota Penguji,



Sri Mulyaningsih M. Si, Apt

Anggota Penguji,



M. Hatta Prabowo S.F, Apt

Mengetahui

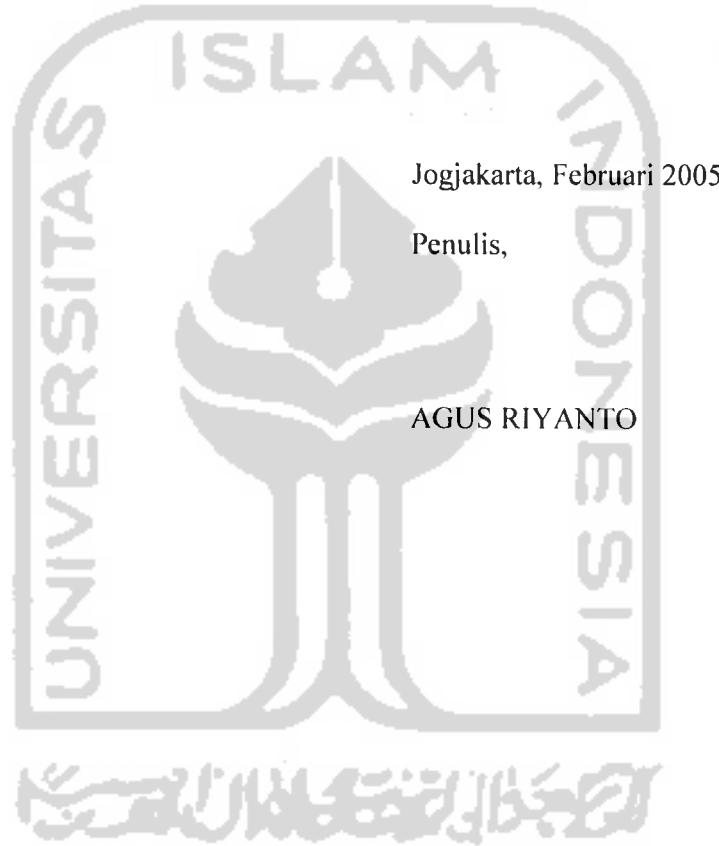
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Jaka Nugraha, M. Si.

PERNYATAAN

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



HALAMAN PERSEMPAHAN

".....Allah meninggikan orang yang beriman diantara kamu dan orang yang diberi ilmu pengetahuan berupa derajat....."

(QS. Mujaadilah (58): 11)

Dengan segala kerendahan hati
kupersembahkan karya kecilku ini teruntuk:

♥ Allah SWT atas ridlo-Nya skripsi ini dapat terwujud ♥

۞ Nabi besar Muhammad SAW atas suri tauladannya ۞

♥ Bapak dan Ibuku tercinta yang telah memberikan kepercayaan, do'a dan keridloannya selama ini untukku ♥

♥ Kakaku mas Agung, mbak Fajar, mbak yani, dan mbak Prapti terimakasih atas semangat, dorongan dan do'a kalian. ♥

♥ Keluarga besar "BANYU BENING", Bapak Sukardi Sekeluarga, Amin,

Dian, Tites, Fatur, Mirza, Wendi, dan Irwan. ♥

♥ Buat Dede' Andra Tersayang, terimakasih atas dorongan semangat serta perhatian dalam penyusunan skripsi ini. ♥

♥ Buat temen-temen dan saudaraku farmasi 2000 yang tak bisa kusebutkan satu persatu "semoga kita tetap satu" ♥

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji bagi Allah SWT kuhaturkan kehadirat-Nya, yang telah memberikan rahmat, kasih sayang dan petunjuknya dalam setiap langkah hidupku serta kemudahan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK DAUN URANG ARING (*Eclipta prostrata* L.) TERHADAP *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Escherichia coli* ATCC 35218 DENGAN METODE BIOAUTOGRAFI”** yang merupakan salah satu syarat kelengkapan untuk menyelesaikan program S1 jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Pada penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada skripsi ini dengan rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. C.J. Soegihardjo, Apt, selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dan fikiran dalam membimbing penulis hingga selesai.
2. Bapak Hatta Prabowo S.F., Apt, selaku Pembimbing Pendamping yang dengan kesabarannya mengarahkan dan membimbing penulis hingga selesai.

3. Ibu Sri Mulyaningsih, M. Si, selaku Dosen Pengaji yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta telah memberikan dukungan selama penelitian sampai penyusunan skripsi
4. Bapak Jaka Nugraha, M. Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Ibu Farida Hayati, M. Si, Apt, selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Seluruh staf dan karyawan Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia, yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian, terimakasih atas kerjasamanya.
7. Dan semua pihak yang telah membantu penulis yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan yang disebabkan oleh keterbatasan penulis. Oleh karena itu, penulis siap menerima saran dan kritik yang dapat membantu penyempurnaan penelitian ini, mudah-mudahan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan semoga Allah SWT senantiasa memberikan taufiq dan hidayah-Nya kepada kita dan membalas kebaikan orang yang berbuat baik kepada penulis dengan kebaikan yang lebih banyak. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Jogjakarta, Februari 2005

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
BAB II STUDI PUSTAKA	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Uraian tentang tumbuhan urang aring (<i>Eclipta prostrata</i> L.).....	8
2. Uraian tentang mikroba uji.....	8
3. Uraian tentang teknik penyarian	20
4. Uraian tentang kandungan kimia.....	25
5. Uraian tentang Kromatografi Lapis Tipis	25
6. Uraian tentang bioautografi	26
B. Keterangan Empiris	27

BAB III	METODE PENELITIAN	28
A.	Bahan dan Alat	28
B.	Cara Penelitian.....	29
C.	Analisis Hasil	33
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A.	Determinasi Tumbuhan Urang aring.....	34
B.	Hasil Uji Aktivitas Antimikroba	34
C.	Hasil Deteksi Kandungan senyawa Kimia dengan Metode KLT	39
D.	Hasil Uji KLT Bioautografi	46
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	49
A.	Kesimpulan	49
B.	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA50	
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur kimia beberapa senyawa kandungan tanaman urang aring (<i>Eclipta prostrata</i> L)	7
Gambar 2. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot FeCl_3	41
Gambar 3. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot FeCl_3	42
Gambar 4. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot AlCl_3	44
Gambar 5. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot AlCl_3	45
Gambar 6. Hasil uji bioautografi pada <i>S. aureus</i>	47
Gambar 7. Hasil uji bioautografi <i>E. coli</i>	48

DAFTAR TABEL

Tabel I. Bobot ekstrak kering masing-masing penyari dari 100 g daun urang aring.....	30
Tabel II. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring pada fungi <i>C. albicans</i>	36
Tabel III. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring pada bakteri <i>S. aureus</i>	37
Tabel IV. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring pada bakteri <i>E. coli</i>	38
Tabel V. Hasil uji KLT golongan lakton sebelum disemprot FeCl ₃	40
Tabel VI. Hasil uji KLT golongan lakton setelah disemprot FeCl ₃	40
Tabel VII. Hasil uji KLT golongan flavonoid sebelum disemprot AlCl ₃	43
Tabel VIII. Hasil uji KLT golongan flavonoid setelah disemprot AlCl ₃	43
Tabel IX. Hasil bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	47
Tabel X. Hasil bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>E. coli</i>	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji anova satu arah terhadap fungi <i>C. albicans</i>	52
Lampiran 2. Hasil uji anova satu arah terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	66
Lampiran 3. Hasil uji anova satu arah terhadap bakteri <i>E. coli</i>	80
Lampiran 4. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap fungi <i>C. albicans</i>	91
Lampiran 5. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	91
Lampiran 6. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>E. coli</i>	92
Lampiran 7. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot FeCl_3	93
Lampiran 8. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot FeCl_3	94
Lampiran 9 . Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot AlCl_3	95
Lampiran 10 .Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot AlCl_3	96
Lampiran 11. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	97
Lampiran 12. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri <i>E. coli</i>	97

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBIA EKSTRAK ETANOLIK DAUN URANG
ARING (*Eclipta prostrata* L) TERHADAP *Candida albicans*, *Staphylococcus
aureus* ATCC 25923 DAN *Escherichia coli* ATCC 35218
DENGAN METODE BIOAUTOGRAFI**

INTISARI

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L.) terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode bioautografi. Sebelum dilakukan uji mikrobiologi, dilakukan penyarian serbuk daun urang aring yang mengandung lakton dan flavonoid dengan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 70 % dan. Maserat yang dihasilkan dibuat seri kadar 5, 10, 15 dan 20 %, seri kadar ini untuk mengetahui pada kadar berapakah mikrobia dapat dihambat pertumbuhannya. Ekstrak etanolik diuji aktivitas antimikrobianya dengan menggunakan metode difusi. Setelah diketahui kadar aktifnya, diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis dilanjutkan dengan bioautografi untuk mengetahui golongan senyawa aktifnya, kemudian dibandingkan dengan data dari pustaka. Analisa hasil menggunakan uji statistik anava satu arah dengan taraf kepercayaan 95 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L.) mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* mulai kadar 5 % tetapi kurang efektif terhadap jamur *C. albicans*, hal ini ditunjukkan oleh hasil uji statistik dengan adanya perbedaan bermakna. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa golongan senyawa yang mempunyai aktivitas anti bakteri adalah lakton dan flavonoid.

Kata kunci : Urang aring (*Eclipta prostrata* L), bioautografi, lakton, flavonoid, dan antimikrobia.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOLIC EXTRACT
LEAVES OF URANG ARING (*Eclipta prostrata* L.) AGAINST *Candida*
albicans, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 AND *Escherichia coli* ATCC
35128 BY BIOAUTOGRAPHY METHOD

ABSTRACT

Have been conducted research with aim to know activity of antimicrobial ethanolic extract of urang aring leaves (*Eclipta prostrata* L.) against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with bioautography method. Before microbiological test, conducted by concentration of powder urang aring (*Eclipta prostrata* L) considering lactones and flavonoid by using method of maceration used ethanol 70 %. The concentrations of macerate were made of series concentration 5, 10, 15, and 20 %. Ethanolic extract was tested by the activity using diffusion method. After knowing active concentration of them, then was identified by thin layer chromatography continued by bioautography. After known the concentration having antimicrobial activity, then conducted test of thin layer chromatography, continued by bioautography to know the active compound. To know the contents of ethanolic extract, silica gel GF₂₅₄ as stationary phase and toluene-aceton-formic acid (11:6:1, v/v) as mobile phase, then sprayed by iron (III) chloride spray reagent, give green colour, this is estimated lactones compound, and then other chromatogram was sprayed by aluminium chloride spray reagent give the green-yellow, this is estimated flavonoid compound. Comparisons with literature data. The results were analyzed using statistical test of one way ANOVA with significance level 95 %. The result show that ethanolic extract of urang aring leaves (*Eclipta prostrata* L.) having activity to bacterium *S. aureus* and *E. coli* start 5 % concentration, but less effective to fungi of *C. albicans*. The result of TLC test shown that group of compound having antifungal activity were lactones and flavonoid.

Key word: urang aring (*Eclipta prostrata* L), bioautography, lactones, flavonoids, antimicrobial.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat tradisional telah lama dikenal dan masih digunakan oleh masyarakat Indonesia sampai sekarang. Hal ini didukung oleh adanya sumber bahan obat alam, terutama tanaman obat yang tumbuh subur dan tersebar luas di berbagai daerah diseluruh Indonesia. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenik, atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Anonim, 1990).

Dalam rangka meningkatkan pelayanan kesehatan secara luas dan merata, sekaligus memelihara dan mengembangkan warisan budaya bangsa, perlu terus dilakukan penggalian, penelitian, pengujian, dan pengembangan obat-obatan serta pengobatan tradisional. Disamping itu perlu didorong langkah-langkah pengembangan budidaya tanaman obat tradisional yang secara medis dapat dipertanggungjawabkan. Dengan demikian penggunaan obat tradisional perlu dikembangkan atas dasar hasil-hasil penelitian dan pengujian ilmiah.

Perkembangan obat tradisional memang tidak secepat perkembangan obat modern, hal ini disebabkan karena obat tradisional mempunyai susunan yang lebih kompleks dibanding obat modern. Obat tradisional mengandung sedemikian banyak bahan lain disamping bahan aktifnya yang berkhasiat. Zat yang berkhasiat

dalam ramuan obat tradisional sering kali tidak diketahui secara pasti. Pengembangan obat tradisional di Indonesia dilakukan dengan cara mendorong terjadinya pergeseran obat tradisional jamu menjadi fitofarmaka yang kegunaannya lebih jelas dan bahan bakunya berupa simplisia yang telah mengalami standarisasi (Suyono, 1979).

Pemerintah juga mengharapkan agar dilakukan penelitian yang terpadu dan terkoordinasi yang mencakup 4 bidang ; yaitu penggunaan bahan obat alam untuk penyakit tertentu, zat aktif kimia sebagai kandungan dari bahan alam yang berkaitan dengan proses isolasinya, teknologi yang dapat digunakan untuk produksi yang mencakup tinjauan aspek ekonominya, serta kultifikasi dalam rangka pelestarian bahan alam tersebut. Pengembangan obat tradisional pada akhirnya harus dapat menetapkan mana yang dapat dipakai untuk pengobatan atau mana yang tidak bermanfaat, bahkan yang dapat membahayakan untuk kesehatan. (Sirait, 1984).

Pemerintah juga memiliki kebijaksanaan melindungi masyarakat dari penggunaan obat dan obat tradisional yang tidak memenuhi syarat serta bahan berbahaya lainnya, usaha menjamin mutu obat, melindungi masyarakat dari kerugian akibat penggunaan obat dan obat tradisional. Hal ini dikarenakan sebelum memasuki atau beredar di pasaran, obat haruslah memenuhi persyaratan tertentu diantaranya berkhasiat (manjur), aman dalam penggunannya, serta mutunya memenuhi persaratan yang ditetapkan.

Menurut peraturan yang dikeluarkan oleh Menteri Kesehatan yaitu tentang fitofarmaka, semua obat tradisional perlu dilakukan uji toksisitas, uji farmakologi

eksperimental, dan uji klinik. Agar menunjang kebijaksanaan pemerintah tersebut, sudah selayaknya bila sebelum beredar di pasaran, bukti ilmiah tentang khasiat dan keamanan obat tradisional harus ditegaskan demi terjaminnya manfaat klinis yang diharapkan (Anonim, 1996).

Dewasa ini, mulai banyak beredar obat tradisional, baik ditujukan untuk perawatan kesehatan, kecantikan, maupun pengobatan penyakit. Salah satu obat tradisional yang beredar di Indonesia adalah urang aring (*Eclipta prostrata L*) di Indonesia umumnya digunakan sebagai penyubur dan penghitam rambut. Urang aring dapat juga digunakan sebagai obat sesak napas, pusing kepala, bronkhitis, haid tidak teratur, panas (Anonim, 1986), diare, hepatitis kronik, kurang gizi pada anak, keputihan, dan menghentikan pendarahan. Selain itu, pada pemakaian luar dapat digunakan untuk eksim, tinea pedis (jamur), korengan, dan luka berdarah, gusi berdarah, dan kudis (Wijayakusuma, 1992).

Akhirnya permasalahan di atas dapat dipersempit lagi menjadi, apakah ekstrak etanol urang aring memiliki efek antimikrobia. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan mengingat hasilnya dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang tingkat dan batas keamanan pemakaian ekstrak etanol urang aring sebagai antimikrobia.

B. Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat dirumuskan permasalahan yang timbul, yaitu :

1. Apakah ada aktivitas antimikroba dari ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L) terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 ?
2. Apakah kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L) dapat diketahui senyawanya dengan metode KLT ?
3. Golongan senyawa apakah yang terdapat dalam ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L) yang mempunyai aktivitas antimikroba dengan metode bioautografi ?

C.Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Aktivitas antimikroba ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L) terhadap *C. albicans*, *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218.
2. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanolik daun urang aring (*Eclipta prostrata* L).
3. Golongan senyawa kimia dalam ekstrak etanolik yang memberikan aktivitas antimikroba dengan metode bioautografi.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1.Uraian tentang tanaman Urang aring (*Eclipta prostrata* L.)

Urang aring merupakan salah satu bangsa dari bunga matahari yang umumnya terdapat di Jawa. Tumbuh di daerah-daerah cerah matahari yang basah tetap atau berkala, dari pantai laut hingga 1350 m (van Steenis et al., 1975). Urang aring tumbuh di daerah tropik atau subtropik di seluruh dunia, di kebun atau di tanah gembur hitam. Urang aring sering kali sebagai tumbuhan pengganggu. (Wagner et al., 1986).

Urang aring berbau lemah, khas, dan tidak berasa. Di Indonesia, umumnya sebagai penyubur dan penghitam rambut. Urang aring juga dapat digunakan sebagai obat sesak napas, pusing kepala, bronkhitis, haid tidak teratur, panas (Anonim,1986), diare, hepatitis kronik, kurang gizi pada anak, keputihan, dan menghentikan pendarahan. Pada pemakaian luar dapat digunakan untuk eksem, tinea pedis, korengan, luka berdarah, gusi Bengkak, dan kudis (Wijayakusuma, 1992).

a. Klasifikasi Tanaman

Divisi : Spermatophytha

Subdivisi: Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae (Compositae)

Marga : *Eclipta*

Jenis : *Eclipta prostrata* L.

b. Nama daerah

Urang aring mempunyai nama daerah berbeda-beda, di Sumatera dikenal dengan nama daun sipat, bunga pagar, kayu singapur, tai ayam dan kesemak janten, di Madura orang menyebutnya telenteyan, di Jawa disebut gonan dan urang aring, sedangkan di daerah Banda lebih dikenal dengan nama daun tinta (Wijayakusuma, 1992).

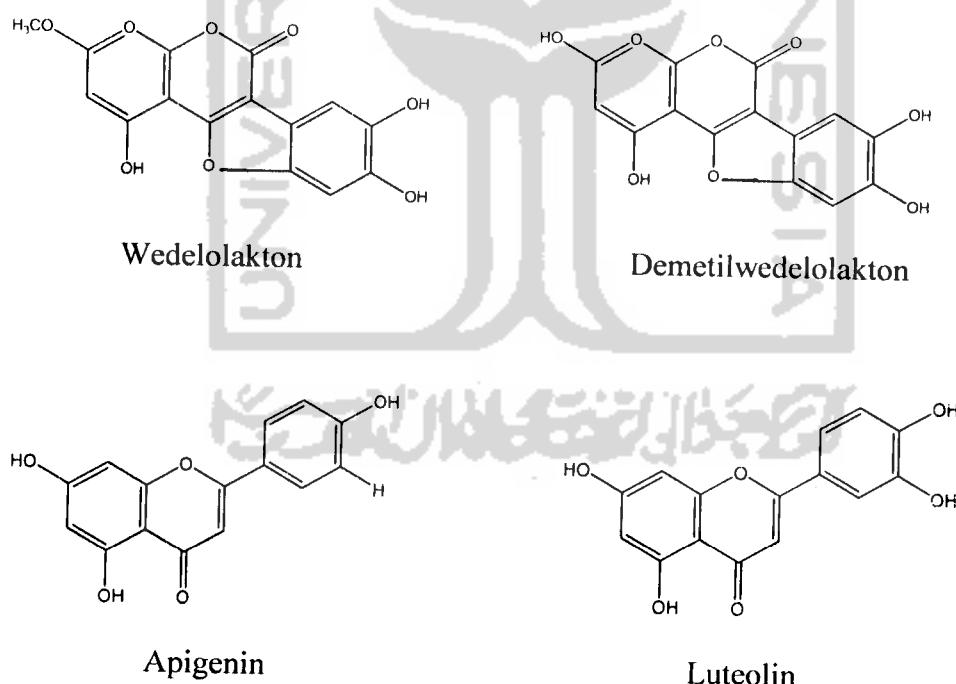
c. Morfologi

Herba berumur pendek kering bercabang, sangat berubah-ubah, dengan batang berbaring atau tegak; 0,1-0,8 meter tingginya. Batang bulat, masif, sering keungu-unguan, berambut putih. Daun berhadapan, duduk, dengan pangkal menyempit, dan ujung runcing. Bulat telur memanjang, atau memanjang lancet, bergerigi atau hampir rata, kedua sisi berambut, sering kasar, 2-12,5 x 0,5-3,5 cm. Bongkol 2-3 bersama-sama, terminal atau ketiak daun, tangkai 2-70 mm panjangnya, berambut. Pembalut bentuk lonceng bentuk mangkuk. Daun pembalut 2 lingkaran, lingkar 5 mm panjangnya. Dasar bunga bersama sisi jerami hijau. Bunga tepi beina atau binci, mahkota bentuk pita, sempit, bergerigi-gerigi. Bunga cakram banyak, berkelamin-kelamin. Tabung pendek, pinggiran berlekuk 4-5, putih. Tabung kepala sari mula-mula kuning kemudian tua. Tangkai putik dengan 2 cabang pipih, berjerawat rapat, pada ujungnya kadang-kadang dengan bangunan

bentuk cawan bergerigi-gerigi dan beberapa rambut pendek, panjang 2 mm (van Steenis, 1975).

d. Kandungan kimia

Urang aring mengandung turunan tiofen, steroid, triterpen, nikotin, flavonoid, wedelolakton, demetil wedelolakton; alkaloida, saponin, tanin. Senyawa flavonoid yang biasa terdapat adalah apigenin dan luteolin, sedangkan senyawa-senyawa lakton berupa wedelolakton dan demetil wedelolakton. Wedelolakton, demetilwedelolakton, apigenin, dan luteolin merupakan kandungan senyawa bioaktif yang banyak diteliti pengaruhnya terhadap antimikroba dan nekrosis hati



Gambar 1. Struktur kimia beberapa senyawa kandungan tanaman urang aring

e. Kegunaan

Daun urang aring mempunyai banyak manfaat, selain sebagai penghitam dan penyubur rambut, selain itu akar urang aring dapat digunakan sebagai obat influensa, TBC kelenjar, rheumatik, dan keputihan. Sedangkan bunganya dapat digunakan sebagai obat TBC dengan batuk darah, ashmatis. Sedang untuk daunnya sebagai obat sakit kulit, bisul, bengkak, gatal-gatal, panas tinggi, rheumatik dan memar.

Untuk pemakaian luar, daun segar dilumatkan untuk ditempelkan ke tempat yang sakit atau direbus secukupnya untuk cuci pada penyakit kulit, bisul, luka berdarah, memar, dan keputihan.

2. Uraian mikrobia uji

a. *Candida albicans*

Klasifikasi dari jamur *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

Divisi : Fungi (Mycota)

Subdivisi : Eumycotina

Kelas : Deuteromycetes (Fungi Imperfecti)

Bangsa : Pseudosacharomycetales

Species : Cryptococaceae

Marga : Candida

Jen's : *Candida albicans*

(Frobisher, 1974 ; Alcamo, 1983).

b. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kokus gram positif yang memiliki klasifikasi :

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Staphylococaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus aureus* (Anonim, 2001).

Staphylococcus merupakan sel gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Stafilocokus tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan berbagai macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Beberapa merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia, yang lain ada yang menyebabkan supurasi dan bahkan septicemia fatal. Stafilocokus yang pathogen sering menghemolisasi darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. Stafilocokus cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba dan ini merupakan masalah besar pada terapi (Jawetz *et al.*, 2001).

Staphylococcus adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair.



Stafilocokus bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Di bawah pengaruh obat seperti penisilin, stafilocokus mengalami lisis. Stafilocokus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteri dibawah suasana aerobik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperature kamar (20-35°C). Koloni pada media yang berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat (Jawetz *et al.*, 2001).

c. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang memiliki klasifikasi :

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Enterobacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Escherichia
Jenis	: <i>Escherichia coli</i>

(Anonim, 2001).

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri gram negatif berbentuk batang yang habitat alaminya berada pada sistem usus manusia dan binatang. Enterobacteriaceae merupakan fakultatif anaerob atau aerob yang dapat memfermentasikan karbohidrat, memiliki struktur antigenik yang kompleks, dan menghasilkan berbagai toksin yang mematikan.

Escherichia coli dan sebagian besar bakteri enterik yang lain membentuk koloni bulat, cembung serta lembut dengan tepi yang berbeda. Koloni

Untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri, maka pembuatan media harus memenuhi beberapa hal:

1). Komposisi media

Dalam suatu media yang digunakan pertumbuhan haruslah ada:

- (a). Air,
- (b). sumber karbon,
- (c). sumber nitrogen,
- (d). mineral,
- (e). vitamin, dan
- (f.). gas.

2). Lingkungan media

a). Tekanan osmosis

Mengingat sifat-sifat bakteri, juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmosis, maka bakteri untuk pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Bila media tersebut hipotonis maka bakteri akan mengalami *plasmoptosis*, sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi *plasmolysis*.

b). Derajat keasaman (pH)

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral. Namun pada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang sangat alkalis, yakni vibrio yang butuh pH antara 8–10 untuk pertumbuhannya yang optimal.

c). Temperatur

Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C , sesuai temperatur tubuh. Namun ada bakteri patogen yang membutuhkan sekitar 42°C yakni *Campylobacter*.

d). Kesterilan

Sterilisasi media merupakan syarat yang paling penting. Adalah tidak mungkin kita dapat melakukan pemeriksaan mikrobiologis apabila media yang digunakan tidak steril, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atau hanya merupakan kontaminan (Anonim, 1993).

e. sterilisasi

Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media) serta alat yang digunakan (tabung, petri) harus steril dan dikerjakan secara aseptis.

Terdapat berbagai macam cara sterilisasi yang dikenal dan pemilihan cara sterilisasi tergantung dari alat atau bahan yang disterilkan. Secara garis besar sterilisasi dapat dikerjakan dengan:

1). Pemanasan kering:

a). Membakar

Cara ini digunakan untuk sterilisasi alat-alat yang berupa: logam (ose, pinset), gelas (ujung pipet, bibir tabung, bibir atau mulut erlemeyer) pada penuangan media.

g. Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba (bakteri dan jamur) suatu bahan obat maupun kandungan tumbuhan. Pada pemeriksaan uji sensitivitas antimikroba dapat dilakukan beberapa cara, yaitu :

1). Dilusi

Prinsipnya adalah sampel diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing - masing konsentrasi sampel yang diduga memiliki aktivitas antimikroba ditambahkan suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat setiap konsentrasi yang diduga memiliki aktivitas antimikroba dicampur dengan media agar, lalu ditanami kuman dan kemudian dieramkan.

Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan kuman, atau jika mungkin tingkat kesuburan dari pertumbuhan kuman yaitu dengan cara menghitung jumlah koloni. Cara dilusi dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) atau kadar bunuh minimum (KBM).

Macam-macam metode dilusi antara lain:

a). Metode agar dilusi

Metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi mikroba campuran atau yang terkontaminasi.

- b). Metode *Macro Broth Dilution*, cara mengerjakan adalah sebagai berikut:

Dibuat dari pengenceran antibiotik. Pertumbuhan kuman dalam media cair yang dipakai mengandung 10^6 CFU/ml. Dari masing-masing pengenceran antibiotik diambil 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ml suspensi kuman. Untuk kontrol dipakai: suspensi antibiotik tanpa kuman, suspensi kuman tanpa media, media serta aquadest yang digunakan ditambah media. Dieramkan pada suhu 35°C selama 15-20 menit.

Dicari KHMnya (Anonim, 1993).

2). Difusi

Pada metode ini yang sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu antimikrobia ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan antimikrobia terhadap organisme uji. (Jawetz *et al*, 2001).

Pada metode difusi ada beberapa cara, yaitu:

a. Cara Kirby Bauer

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair diinkubasi selama 5 – 8 jam pada suhu 37°C . Suspensikan diatas, ditambahkan aquades steril hingga kekeruhan tertentu dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi kuman lalu ditekan – tekan

pada dinding tabung hingga kapas tidak terlalu basah, kemudian dioleskan dipermukaan media hingga rata. Kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibiotika atau sampel yang diduga mempunyai aktivitas antimikroba ai atasnya, diinkubasi pada 37°C selama 18 – 24 jam.

Hasilnya merupakan zona radikal dan irradikal. Zona radikal adalah suatu daerah disekitar disk yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik atau sampel yang diduga mempunyai aktivitas antimikroba diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal. Zona irradikal adalah suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik atau oleh sampel tersebut, tetapi tidak dimatikan. Disini akan terlihat adanya pertumbuhan bakteri yang kurang subur atau lebih jarang, dibanding dengan daerah diluar pengaruh antibiotik atau antimikrobia tersebut.

b. Cara sumuran

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair diinkubasi selama 5 – 8 jam pada suhu 37°C . Kapas lidi steril dicelupkan kedalam suspensi kuman lalu ditekan – tekan pada dinding tabung hingga kapas tidak terlalu basah, kemudian dioleskan dipermukaan media hingga rata. Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Ke dalam sumuran tersebut diteteskan larutan antimikroba atau sampel yang digunakan. Diinkubasi selama 37°C selama 18 – 24 jam.

c. Cara pour plate

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair diinkubasi selama 5 – 8 jam pada suhu 37⁰ C. Suspensikan diatas, ditambahkan aquades steril hingga kekeruhan tertentu dengan standar konsentrasi kuman 10⁸ CFU per ml.

Dengan menggunakan ose khusus, ambilah satu mata ose dan masukkan kedalam 4 ml agar base 1,5 % yang mempunyai temperatur 50⁰ C (diambil dari water bath). Setelah suspensi kuman tersebut dibuat homogen, tuangkan pada media Muller Hilton agar. Tunggulah sebentar sampai agar tersebut membeku, letakkanlah disk antimikrobia. Tamkanlah 15 – 20 jam dengan temperatur 37⁰C. Bacalah dengan disesuaikan standar masing – masing antimikrobia.

(Anonim, 1993).

3. Uraian tentang teknik penyarian

Tahap awal pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani dan mineral.

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik apabila

permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik penyarian. Tetapi dalam pelaksannya tidak selalu demikian, karena penyarian masih tergantung juga pada sifat fisika dan kimia simplisia (Anonim, 1985).

Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sendiri-sendiri hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Anonim, 1982).

a. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat akan larut dank arena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan zat aktif di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari.

Cairan penyari yang digunakan biasa berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara penggerjaan dan peralatan

yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian cara maserasi adalah pengeraannya yang lama dan penyariannya kurang sempurna. (Anonim, 1985).

Maserasi dilakukan dengan cara menyatukan bahan pengekstraksi dengan bahan simplisia yang dihaluskansesuai syarat farmakope (umumnya terpotong – potong atau berupa serbuk kasar). Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna), dan di kocok kembali. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Menurut pengalaman, 5 hari telah memadai, untuk memungkinkan berlangsungnya proses yang menjadi dasar dari cara ini (Voight, 1995).

Proses maserasi dapat dilakukan modifikasi seperti maserasi dengan digesti, maserasi dengan mesin pengaduk, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat (Anonim, 1985).

b. Perkolasi

Istilah perkolası berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi.

Perkolasi (*percolare* = penetesan) dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (percolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengekstraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara kontinyu, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak. Jika pada maserasi sederhana, tidak terjadi ekstraksi

yang sempurna dari simplisia, oleh karena akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya, maka pada proses perkolasai melalui suplai bahan pelarut segar, perbedaan konsentrasi tadi selalu dipertahankan.

Dengan demikian ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan (praktis jumlah bahan yang dapat diekstraksi mencapai 95%). Pada simplisia yang dapat membengkak dengan kuat atau sangat voluminus, cara perkolasai dinilai kurang tepat untuk ekstraksi (Voigt, 1995).

c. Penyarian berkesinambungan (penyarian dengan alat Soxhlet)

Penyarian berkesinambungan adalah suatu cara menyari simplisia dengan pelarut panas secara berkesinambungan dengan menggunakan alat yang dinamakan Soxhlet (Ansel, 1989).

Bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton dan sebagainya) dibagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan diantara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai ke dalam pendinginaliran balik melalui pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes keatas bahan yang diekstraksi dan menarik keluar bahan yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut murni berikutnya. Pada cara ini diperlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil, juga

simpisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus-menerus (pembaharuan pendekatan konsentrasi secara kontinyu). Keburukannya adalah waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama (sampai beberapa jam) sehingga kebutuhan energinya tinggi (listrik, gas). Selanjutnya simplisia dibagian tengah alat pemanas, langsung berhubungan dengan labu, dimana bahan pelarut menguap. Pemanasan bergantung dari lama ekstraksi, khususnya dari titik didih bahan pelarut yang digunakan, dapat berpengaruh negative terhadap bahan tumbuhan yang peka suhu (glikosida, alkaloida). Demikian pula bahan terekstraksi yang terakumulasi dalam labu mengalami beban panas dalam waktu lama. Meskipun cara soxlet sering digunakan dalam Laboratorium penelitian untuk mengekstraksi tumbuhan, namun peranannya dalam pembuatan obat dari tumbuhan kecil artinya (Voigt, 1995).

4. Uraian tentang kandungan kimia

Wedelolakton, yang dapat diisolasi dalam bentuk kristal dari batang dan daun ,stigmasterol dan L-tertienil metanol dapat juga diidentifikasi, beta-amirin dan 7- dimetilwedelolakton- 7- glukosida, asam wedeliat, apigenin, luteolin.

5. Uraian tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatogram pada pelat KLT akan tampak setelah visualisasi secara kimia atau fisika. Visualisasi cara fisika, yaitu dengan melihat noda kromatogram yang mengabsorbsi radiasi ultraviolet atau berflouresensi dengan radiasi ultraviolet pada 254 nm atau 366 nm. Visualisasi secara kimia adalah dengan mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna atau flouresensi yang spesifik dengan

penyemprotan atau memberikan uap zat kimia pada kromatogram atau dengan cara pencelupan kedalam pereaksi penampak warna.

Pada kromatogram KLT dikenal istilah atau pengertian factor retardasi (R_f) untuk tiap-tiap noda kromatogram yang didefinisikan sebagai :

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi fase mobil}} = \frac{dR}{dM} = \frac{hRf}{100}$$

Sedangkan untuk maksud analisis kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan noda kromatogram sampel dengan noda kromatogra “reference standart” yang dikenal sebagai factor retensi relatif (R_x) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi komponen}}{\text{Jarak migrasi} " \text{reference standart} " } = \frac{hRf}{100}$$

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakn dalam angka R_f atau hRf .

$$hR_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \times 100$$

Angka R_f berjangka antara 0,00-100 dan harga dapat ditentukan dua desimal. hRf adalah angka R_f dikalikan faktor 100 (hundred), menghasilkan nilai berjangka 0,-100. Jika dipilih 10 cm sebagai jarak pengembangan, maka jarak rambat suatu senyawa (titik awal sampai puncak dalam cm) $\times 100$ menghasilkan angka hRf . Tetapi karena angka R_f merupakan fungsi sejumlah faktor, angka ini harus dianggap sebagai petunjuk saja. Inilah yang menjadi alasan mengapa angka hRf -lah yang dicantumkan untuk menunjukkan letak suatu senyawa pada kromatogram (Stahl, 1985).

6. Uraian tentang bioautografi

Dalam mengevaluasi campuran antimikrobia yang berupa bercak pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT), ada dua metode yang digunakan untuk mendeteksi bercak atau komponen yang aktif sebagai antimikrobia. Kedua metode tersebut adalah deteksi mikrobiologi (bioautografi) dan deteksi kimia dengan reaksi warna spesifik.

Metode bioautografi hanya menunjukkan bercak yang aktif, dan tidak mendeteksi bercak yang tidak aktif. Metode kimia disatu sisi tidak memiliki informasi tentang aktivitas biologi dari komponen dalam bercak. Deteksi secara kimia umumnya tidak spesifik dan harus dicobakan pada berbagai substansi. Bioautografi merupakan metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis yang mempunyai aktivitas antibakteri, antifungi, dan antiviral. Bioautografi juga digunakan untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui jenis analisisnya dengan metode kimia atau fisika. Deteksi kimia dengan warna spesifik digunakan sebagai pembanding hasil bioautografi sehingga kedua metode tersebut saling melengkapi (Stahl, 1985).

Dalam prakteknya, kromatogram diletakkan pada permukaan media agar di dalam petri yang telah di inokulasi dengan mikroorganisme yang sensitive untuk antibiotik yang akan dipelajari. Setelah inkubasi selama 15-20 jam pada suhu 37°C akan tampak zona jernih pada lapisan media agar yang antibakteri berdifusi ke lapisan tersebut dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Sedangkan lapisan media agar yang ditumbuhkan mikroorganisme akan tampak buram (Zweig dan Whitaker, 1971).

B. Keterangan Empiris

Keterangan empiris yang dapat diperoleh dalam penelitian ini, yaitu ekstrak etanolik daun urang aring dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap *C. albicans* *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218, karena dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat membunuh mikroba tersebut.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan yang digunakan

- a. Bahan utama. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tumbuhan urang aring (*Eclipta prostrata* L) diambil pada bulan Mei dari daerah Sleman, Jogjakarta.
- b. Bahan penyari. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70 % (tehnik).
- c. Bahan uji mikrobiologi. Bahan yang digunakan berupa aquadest steril, media Saburoud cair (Oxoid), nutrient agar (Oxoid), nutrient broth (Oxoid), dan DMSO (E. merck).
- d. Bahan untuk fase gerak pada analisis KLT. Bahan kimia yang digunakan berderajat pro analisis (p.a). Bahan kimia yang dimaksud adalah toluena: aseton: asam formiat (11: 6: 1).
- e. Bahan untuk fase diam. Bahan yang dipakai adalah lempeng silica gel GF₂₅₄ (E.Merck).
- f. Bahan pereaksi semprot. Bahan yang digunakan untuk penyemprot adalah Besi (III) klorida dan AlCl₃.

2. Alat

- a. Alat pembuat serbuk. Alat yang digunakan adalah blender (Nasional).
- b. Alat untuk penyarian. Alat yang digunakan antara lain seperangkat alat gelas, alat timbang, penangas air dan Erlenmeyer.

- c. Alat uji mikrobiologi dan bioautografi. Alat yang digunakan adalah petri disk, ose, lampu spiritus, tabung reaksi (pyrex), mikropipet (Finn), autoklaf, inkubator (Memmert), jangka sorong, pelubang gabus, plat kromatogram, *blue tip*, dan *yellow tip*.
- d. Alat untuk identifikasi senyawa dengan KLT . Alat yang digunakan antara lain plat silica gel, pipa kapiler, bejana pengembang, oven, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, spatel dan seperangkat alat semprot.

B. Cara Penelitian

1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel meliputi pengumpulan tumbuhan urang aring yang diperoleh dari daerah sekitar Sleman, Jogjakarta pada bulan Mei 2004. Selain itu juga dilakukan pengambilan mikrobia untuk pengujian (*C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran UGM, Jogjakarta.

2. Determinasi tumbuhan urang aring

Tumbuhan urang aring yang diperoleh dari daerah sekitar Sleman Jogjakarta, kemudian dideterminasikan di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Jogjakarta.

3. Pembuatan serbuk kering tumbuhan urang aring

Daun urang aring diambil dari daerah Sleman, dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Bahan yang telah bersih kemudian dikeringkan pada lemari pengering pada suhu 40°C selama dua hari. Bahan yang kering kemudian

dihaluskan dengan cara diblender, ayak dengan pengayak nomor 20, serbuk halus yang diperoleh masukkan dalam wadah tertutup rapat dan simpan.

4. Pembuatan ekstrak larutan

Serbuk urang aring yang diperoleh diekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk kering ditimbang sebanyak 100 gram, disari dengan etanol 70% selama dua hari, maserat / ekstrak ditampung dalam erlenmeyer, ini dilakukan sampai tiga kali. Kemudian ekstrak dikeringkan menggunakan evaporator. Ekstrak yang didapat dibuat dalam konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 % b/v, dengan penambahan DMSO, masukkan dalam flakon steril. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kering yang diperoleh dari masing-masing penyari pada proses maserasi terlihat pada tabel.

Tabel 1. Bobot kering ekstrak etanolik dari 100 gram serbuk daun urang aring

Nama penyari	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
Etanol 70%	9,9	9,9

Keterangan :

Rendemen yang diperoleh dari : $\frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$

5. Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut.

- a. Sterilisasi. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan aktivitas antimikrobia disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121^0 C selama 30 menit. Bahan untuk media disterilkan pada suhu 121^0 C selama 15 menit.
- b. Uji pendahuluan. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kadar terkecil untuk menghambat pertumbuhan mikrobia.
- c. Penyiapan larutan uji. Larutan uji dibuat dari ekstrak etanolik yang diperoleh kemudian diuapkan dari pelarutnya kemudian dibuat dengan berbagai seri kadar 5, 10, 15, 20 % b/v.

- d. Pembuatan media nutrien agar. Sebanyak 1,3 gram nutrient broth dilarutkan dengan aquadest 100 ml dilarutkan dalam erlenmeyer, kemudian larutkan agar sampai larut jika perlu dipanaskan. Ditutup dengan kapas dan aluminium foil, dan sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Erlenmeyer disimpan dalam lemari pendingin. Pembuatan media uji sebanyak 0,4 gram nutrien agar dilarutkan dalam 20 ml aquadest untuk satu petri, kemudian dipanaskan. Ditutup dengan kapas dan aluminium foil, lalu disterilkan pada suhu 121° C selama 15 menit. Disimpan dalam lemari pendingin jika akan digunakan dicairkan kembali dan tuang untuk satu petri steril.
- e. Pengujian aktivitas antimikrobia terhadap *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*. Dari biakan murni diambil satu ose kuman kemudian dilarutkan dalam 0,5 ml media nutrien broth lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Kemudian suspensi kuman dalam media nutrient broth diencerkan dengan NaCl 0,9 % sampai tercapai kerapatan 10^8 CFU/ml. Suspensi kuman sebanyak 1 ml disesuaikan konsentrasiya dengan menggunakan standar Brown III, yaitu kerapatan 10^8 CFU/ml. Untuk setiap petri yang berisi 20 ml media nutrien agar atau saburoud diperlukan 200 μ l suspensi bakteri atau jamur. Pada media yang telah membeku dibuat sumuran dengan diameter 7 mm, kemudian pada masing-masing sumuran ditambahkan ekstrak etanolik sebanyak 20 μ l dengan konsentrasi 5, 10, 15 dan 20 %, serta pelarut DMSO sebagai kontrol negatif dan Thymol kadar 1 % sebagai kontrol positif uji mikrobia, kemudian

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0 C. Hasil uji aktivitas antimikrobia diperoleh dengan mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan terhadap *C. albicans*, *S. aureus* dan *E. coli*, yaitu berupa zona radikal dan zona irradikal.

6. Pemeriksaan kandungan senyawa dengan KLT

a. Lakton

Fase diam	: Silika gel GF 254.
Fase gerak	: toluena – aseton - asam formiat (11: 6: 1)v/v.
Deteksi	: Pereaksi semprot Besi (III) klorida.

b. Flavonoid

Fase diam	: Silika gel GF 254.
Fase gerak	: toluena – aseton - asam formiat (11: 6: 1)v/v.
Deteksi	: Pereaksi semprot AlCl_3 .

7. Uji bioautografi

Dalam uji aktivitas antimikrobia ini disiapkan dua petri, tuangkan 20 ml media yang telah dicampur dengan suspensi bakteri *S. aureus* dan petri satu dengan *E. coli* sebanyak 200 μl , setelah media membeku, lalu pada petri tersebut diletakkan kromatogram dari ekstrak aktif daun urang aring diatas permukaan media, kemudian kromatogram dibiarkan kontak dengan media selama 30 – 60 menit, kromatogram diangkat dari media, petri ditutup rapat dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0 C. Zona jernih yang terbentuk diamati

dan diukur hRf. Dihitung hRf hasil dari KLT yang dideteksi dengan beberapa pereaksi semprot dan hRf zona jernih hasil bioautografi.

C. Analisis Hasil

1. Determinasi tanaman uang aring dilakukan dengan buku acuan “*Flora of Java*” (Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965).
2. Data ditampilkan dalam bentuk tabel hubungan konsentrasi ekstrak etanolik dengan zona hambatan pertumbuhan mikroba.
3. Analisis hasil yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba adalah Uji anava satu arah, apabila probabilitas $> 0,05$ dilanjutkan dengan Uji T untuk mengetahui perbedaan dari keseluruhan hasil uji antimikroba

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman Urang aring

Determinasi terhadap daun urang aring yang akan diteliti berfungsi untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman urang aring (*Eclipta prostrata* L.), sehingga dapat dicegah kesalahan akibat kekeliruan dalam mengenali tanaman tersebut. Adapun urutan determinasinya adalah sebagai berikut :

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23a
(asteraceae) 1b - 3b - 33b - 41a - 42a - 43a - 44b - 45b - 46b - 47b - 48b - 49b
- 54b - 55b - 56b - 57a (51. *Eclipta*)

1. *Eclipta prostrata* L.

B. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia

Metode yang dipilih adalah metode difusi cara sumuran, dimana pada media berisi mikrobia setelah membeku dibuat beberapa lubang sumuran kemudian diteteskan seri kadar setiap larutan ekstrak yang diuji yaitu kadar 5, 10, 15 dan 20 %, kontrol positif dan kontrol negatif, masing-masing larutan uji yang diteteskan pada sumuran adalah 20 μ l.

Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas dari ekstrak yang telah didapat terhadap *C. albicans* mewakili fungi, *S. aureus* mewakili bakteri gram positif dan *E. coli* mewakili bakteri gram negatif, juga

untuk mengetahui kadar terkecil dari ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga mikrobia tersebut, serta membandingkannya dengan larutan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah timol 1 % sedangkan kontrol negatif adalah DMSO 100%.

Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut ekstrak karena jika pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak memiliki aktivitas antimikroba maka akan sulit ditentukan apakah yang menghambat pertumbuhan mikrobia tersebut adalah larutan uji atau pelarutnya. Timol 1 % digunakan sebagai pembanding karena timol merupakan salah satu golongan antiseptik yang dapat membunuh mikrobia.

Hasil yang dapat dilihat berupa adanya zona radikal disekitar sumuran. Zona radikal ini merupakan zona jernih yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan mikrobia. Selain zona radikal biasanya juga terdapat zona irradikal yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikrobia tetapi tidak dimatiakan. Kemudian hasil uji mikrobiologi dihitung secara statistik menggunakan anava dengan taraf kepercayaan 95 %.

a. Hasil uji pada fungi *C. albicans*

Untuk *C. albicans*, seperti yang ditunjukkan pada tabel II terlihat bahwa pada kadar 5 dan 10 % belum terdapat zona hambatan dan mulai kadar 15 % terdapat zona irradikal yang hampir sama dengan kadar 20 %. Dari hasil perhitungan secara statistik dengan anova satu arah diperoleh *Test homogeneity of variances* dengan probabilitas $0,002 < 0,05$ sehingga tidak dilakukan uji T. Dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* data untuk perbandingan

seri kadar rata-rata $H_0 < 0,05$ ini berarti H_0 ditolak atau rata-rata dari berbagai konsentrasi adalah tidak sama atau berbeda secara nyata kecuali perbandingan antara kadar 5 % dan 10 %, 5 % dan K (-), 10 % dan K (-) diperoleh nilai $H_0 > 0,05$, maka H_0 diterima atau rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi adalah sama atau tidak berbeda secara nyata.

Tabel II. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring pada jamur *C. albicans*.

Ekstrak	Kadar (%)	Zona hambatan (mm)			Rerata ± SD (mm)
		X ₁	X ₂	X ₃	
Etanolik	5	7,00	7,00	7,00	7,00 ± 0,00
Etanolik	10	7,00	7,00	7,00	7,00 ± 0,00
Etanolik	15	7,64	7,22	7,26	7,37 ± 0,23
Etanolik	20	8,20	8,48	8,24	8,31 ± 0,15
K +	1	12,66	12,48	12,00	12,38 ± 0,34
K -	100	7,00	7,00	7,00	7,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (7mm) dan merupakan nilai rata-rata
2. X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi
3. Kontrol negatif adalah DMSO 100 %
4. Kontrol positif adalah Timol 1 %

b. Hasil uji pada bakteri *S. aureus*

Pada tabel III untuk bakteri *S. aureus* terdapat zona radikal di sekitar lubang, pada kadar 5, 10, 15, 20 % terdapat zona hambatan. Semakin besar kadar maka akan terdapat pula zona hambatan yang besar. Dari hasil perhitungan secara statistik dengan anova satu arah didapat *Test of homogeneity of variances* dengan probabilitas $0,027 < 0,05$ sehingga tidak dilakukan uji T, dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*, diperoleh data untuk perbandingan seri kadar rata-rata $H_0 < 0,05$ ini berarti H_0 ditolak atau rata-rata dari berbagai konsentrasi

adalah tidak sama atau berbeda secara nyata, kecuali pada perbandingan kadar K (+), 5%, 10%, 15%, dan 20% didapat nilai $H_0 = 0,05$.

Tabel III. Data hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanolik daun urang aring pada bakteri *S. aureus*.

Ekstrak	Kadar (%)	Zona hambatan (mm)			Rerata ± SD (mm)
		X ₁	X ₂	X ₃	
Etanolik	5	7,20	8,74	7,68	7,87 ± 0,78
Etanolik	10	9,38	9,72	10,46	9,85 ± 0,55
Etanolik	15	11,12	11,36	11,42	11,30 ± 0,16
Etanolik	20	12,56	12,82	12,66	12,68 ± 0,13
K +	1	14,28	14,84	15,12	14,75 ± 0,43
K -	100	7,00	7,00	7,00	7,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (7mm) dan merupakan nilai rata-rata
2. X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi
3. Kontrol negatif adalah DMSO 100 %
4. Kontrol positif adalah Timol 1 %

c. Hasil uji pada bakteri *E. coli*

Untuk bakteri *E. coli*, seperti yang ditunjukkan pada tabel IV terlihat bahwa pada kadar 5, 10, 15, 20 % terdapat zona hambatan. Perbedaan kadar yang ada begitu berpengaruh terhadap zona hambatan yang terjadi. Dari hasil perhitungan secara statistik dengan anova satu arah didapat nilai *Test homogeneity of variances* dengan probabilitas 0,051, oleh karena probabilitasnya > 0,050 maka dilakukan uji T. Pada uji T perbandingan antar kadar didapat nilai probabilitas >0,05 kecuali pada perbandingan antara kadar K(+) dan K(-) didapat nilai probabilitas 0,035 < 0,050, sehingga antara kadar K(+) dan (-) berbeda secara bermakna.

Tabel IV. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanolik daun urang aring pada bakteri *E. coli*.

Ekstrak	Kadar (%)	Zona hambatan (mm)			Rerata ± SD (mm)
		X ₁	X ₂	X ₃	
Etanolik	5	7,60	7,70	7,68	7,61 ± 0,09
Etanolik	10	9,86	10,22	9,64	9,91 ± 0,29
Etanolik	15	11,64	10,26	10,94	10,95 ± 0,69
Etanolik	20	12,20	12,66	12,40	12,42 ± 0,23
K +	1	14,28	13,90	15,34	14,51 ± 0,75
K -	100	7,00	7,00	7,00	7,00 ± 0,00

Keterangan :

1. Diameter terukur (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran (7mm) dan merupakan nilai rata-rata,
2. X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi,
3. Kontrol negatif adalah DMSO 100 %
4. Kontrol positif adalah Timol 1 %

Dari hasil yang diperoleh tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik daun urang aring lebih efektif untuk meghambat pertumbuhan bakteri dari pada fungi. Bakteri gram positif yang diwakili oleh *S. aureus* dan bakteri gram negatif yang diwakili oleh *E. coli*. Zona hambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada zona hambatan pada bakteri gram negatif, hal ini bisa terjadi adanya perbedaan struktur sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif mempunyai struktur dinding sel tunggal dengan kandungan lipid rendah, peptidoglikan ada dalam lapisan tunggal sehingga ekstrak akan lebih mudah berdifusi menembus dinding sel bakteri, sedangkan pada bakteri gram negatif struktur dinding sel berlapis-lapis dan kandungan lemak tinggi, peptidoglikan ada dalam lapisan kaku sebelah dalam sehingga ekstrak lebih sulit untuk bisa menembus dinding sel. Dari tabel II, yaitu zona hambatan pada *Candida albicans* terlihat bahwa zona hambatan yang disebabkan larutan uji tidak menunjukkan perbedaan yang terlalu besar, yang berarti bahwa ekstrak etanolik

dari daun urang aring lebih efektif sebagai antimikrobia pada bakteri dibandingkan dengan jamur.

C. Hasil Deteksi Kandungan Senyawa Kimia dengan Metode KLT

Kandungan senyawa kimia 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 kandungan 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 dan pereaksi semprot. Dalam pemilihan ini digunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak toluena - aseton - asam formiat (11: 6: 1).

Setelah dilakukan pengamatan bercak pada sinar tampak, UV₂₅₄ dan UV_{366 nm} kemudian kromatogram disemprot dengan pereaksi semprot untuk mengidentifikasi kandungan zat aktif dalam ekstrak tersebut. Pada KLT digunakan pereaksi yang terbatas macamnya sehingga hasil yang diperoleh baru memberikan informasi mengenai golongan senyawa yang kemungkinan terdapat dalam ekstrak aktif daun urang aring dan tidak memberikan informasi yang lebih terperinci. Dalam penelitian ini juga tidak dilakukan uji kuantitatif sehingga belum diketahui kadar senyawa dalam ekstrak tersebut. Adapun pereaksi semprot yang digunakan

adalah FeCl_3 dan AlCl_3 . Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan menggunakan pereaksi semprot diterangkan sebagai berikut:

1. Lakton

Adanya lakton ditunjukkan dengan adanya bercak hijau pada sinar UV 254 nm dan warna biru pada UV 366 nm.

Tabel V. Hasil uji KLT golongan lakton sebelum disemprot FeCl_3

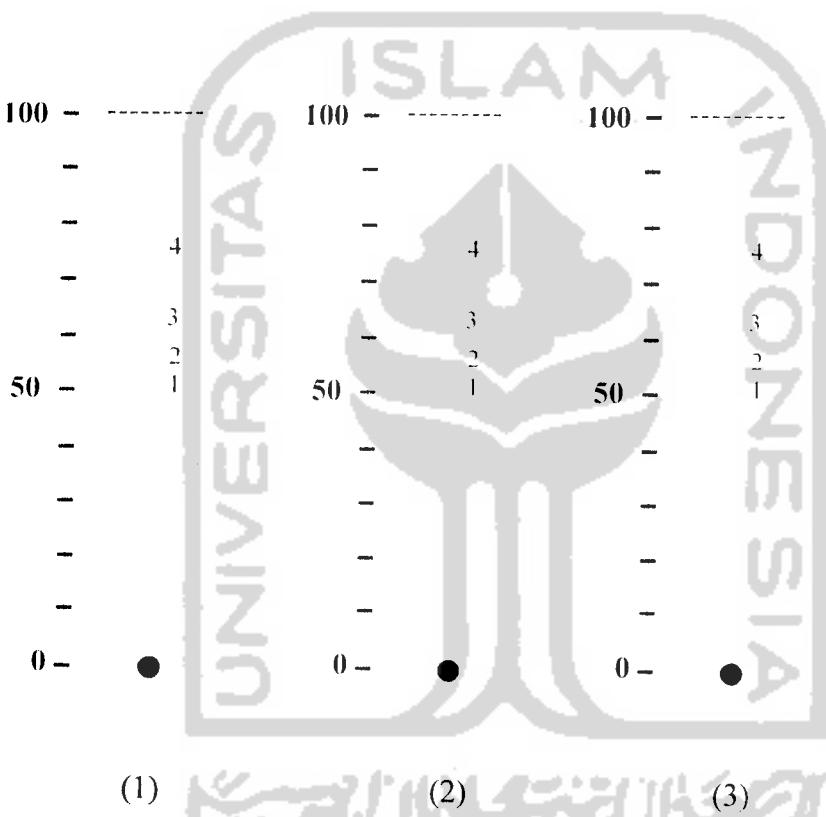
Nama ekstrak	No. bercak	hR_f	pengamatan		
			UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Sinar tampak
Etanolik	1	52	pemadaman	Biru	Coklat
Etanolik	2	57	pemadaman	Fluoresensi merah	Hijau
Etanolik	3	62	pemadaman	Biru	Coklat
Etanolik	4	75	pemadaman	Fluoresensi merah	Hijau

Tabel VI. Hasil uji KLT golongan lakton setelah disemprot FeCl_3

Nama ekstrak	No. bercak	hR_f	pengamatan		
			UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Sinar tampak
Etanolik	1	52	pemadaman	Hitam	Hijau kecoklatan
Etanolik	2	57	pemadaman	-	Hijau
Etanolik	3	62	pemadaman	-	Hijau kecoklatan
Etanolik	4	75	pemadaman	-	Hijau

Hasil yang diperoleh pada plat kromatogram terdapat 4 bercak, lakton diperkirakan terdapat pada hR_f 52 dan 62 pada UV 254 terjadi pemadaman, dan berwarna biru pada UV 366. Setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 pada sinar tampak akan berwarna hijau atau hijau kecoklatan. Urang aring diketahui mengandung dua senyawa lakton yaitu wedelolakton dan demetylwedelolakton.

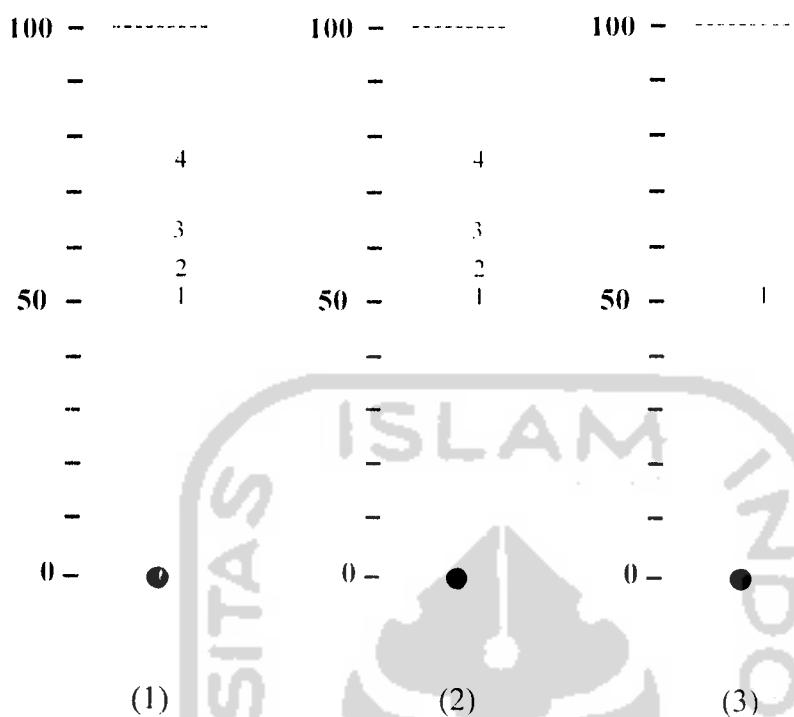
Berdasarkan struktur kimianya demetilwedelolakton bersifat lebih polar dibanding wedelolakton. Hal ini menyebabkan waktu tambat yang lebih lama pada fase diam, sehingga dapat diduga bahwa senyawa yang mempunyai hRf lebih kecil adalah demetilwedelolakton. Jadi senyawa yang mempunyai hRf 52 adalah demetilwedelolakton dan senyawa yang mempunyai hRf 62 adalah wedelolakton.



Gambar 2. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot dengan FeCl_3

Keterangan :

- | | |
|------------|--|
| Fase gerak | : toluen - aseton - asam formiat (11: 6: 1) |
| Fase diam | : Silika gel GF ₂₅₄ |
| Deteksi | : Sinar tampak (1)
Sinar UV ₂₅₄ (2)
Sinar UV ₃₆₆ (3) |



Gambar 3. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot dengan FeCl_3

Keterangan :

- Fase gerak : toluen - aseton - asam formiat (11: 6: 1)
- Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
- Deteksi : Sinar tampak (1)
Sinar UV₂₅₄ (2)
Sinar UV₃₆₆ (3)
- Pereaksi semprot : FeCl_3

2. Flavonoid

Tabel VII. Hasil uji KLT golongan flavonoid sebelum disemprot dengan AlCl_3

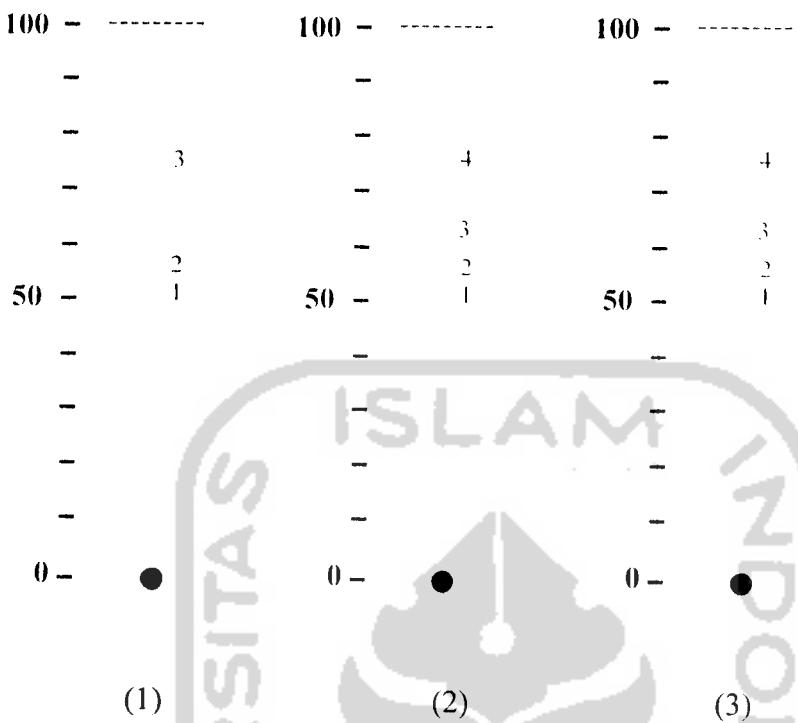
Nama ekstrak	No. bercak	hR_f	pengamatan		
			UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Sinar tampak
Etanolik	1	52	pemadaman	Biru gelap	Coklat
Etanolik	2	57	pemadaman	Merah	Hijau
Etanolik	3	62	pemadaman	Biru	-
Etanolik	4	75	pemadaman	Fluoresensi biru kemerahuan	Hijau

Tabel VIII. Hasil uji KLT golongan flavonoid setelah disemprot dengan AlCl_3

Nama ekstrak	No. bercak	hR_f	pengamatan		
			UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Sinar tampak
Etanolik	1	52	pemadaman	Biru gelap	Coklat
Etanolik	2	57	pemadaman	Merah	Hijau
Etanolik	3	62	pemadaman	Biru	-
Etanolik	4	75	pemadaman	Fluoresensi biru	Hijau kekuningan

Dari hasil yang diperoleh pada plat kromatogram adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya bercak pada sinar tampak yang berwarna hijau atau hijau kekuningan, pada UV 366 nm bercak akan berfluoresensi kuning, biru atau hijau.

Setelah plat kromatogram disemprot dengan AlCl_3 ditunjukkan dengan adanya bercak pada sinar tampak berwarna hijau kekuningan dan pada sinar UV 254 nm terjadi pemadaman, dan pada UV 366 nm akan berfluoresensi biru. Dari kedua tabel di atas senyawa flavonoid terdapat pada hR_f 75, yaitu apigenin.



Gambar 4. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot dengan AlCl_3

Keterangan :

Fase gerak

: toluen - aseton - asam formiat (11: 6: 1)

Fase diam

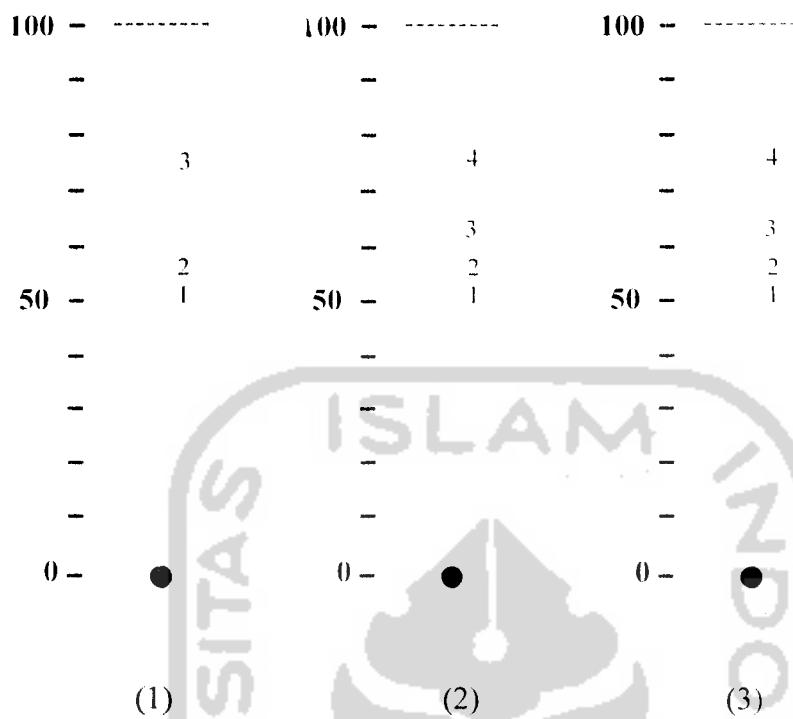
: Silika gel GF₂₅₄

Deteksi

: Sinar tampak (1)

Sinar UV₂₅₄ (2)

Sinar UV₃₆₆ (3)



Gambar 5. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonopid ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot dengan AlCl_3

Keterangan :

Fase gerak	: toluen - aseton - asam formiat (11: 6: 1)
Fase diam	: Silika gel GF ₂₅₄
Deteksi	: Sinar tampak (1) Sinar UV ₂₅₄ (2) Sinar UV ₃₆₆ (3)
Pereaksi semprot	: AlCl_3

D. Hasil Uji KLT Bioautografi

Kromatogram hasil KLT diletakkan pada permukaan media agar didalam petri yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang sensitif untuk antibiotik yang akan dipelajari. Setelah inkubasi selama 15-20 jam pada suhu 37°C akan tampak zona jernih pada lapisan media agar yang mana antibiotik berdifusi kelapisan tersebut dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan lapisan media agar yang ditumbuhi mikroorganisme akan tampak buram (Zweig dan Whitaker, 1971).

Pada uji ini hanya ekstrak yang memiliki aktivitas antimikroba dari hasil uji pendahuluan saja yang di uji secara KLT bioautografi, yaitu pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* karena pada bakteri inilah ekstrak memiliki aktivitas yang baik sedangkan pada jamur *C. albicans* tidak dilakukan uji KLT bioautografi karena kurang efektif untuk membunuh ataupun menghambat pertumbuhan jamur tersebut.

Sampel yang diujikan harus yang mempunyai aktivitas antimikroba, karena pada saat dikembangkan pada fase gerak akan terjadi pemisahan senyawa sehingga konsentrasi senyawa pada plat akan semakin kecil. Semakin tebal media yang digunakan maka semakin jauh pula senyawa harus berdifusi. Selain itu, semakin besar jumlah bakteri maka semakin tinggi konsentrasi yang dibuat untuk mematikannya.

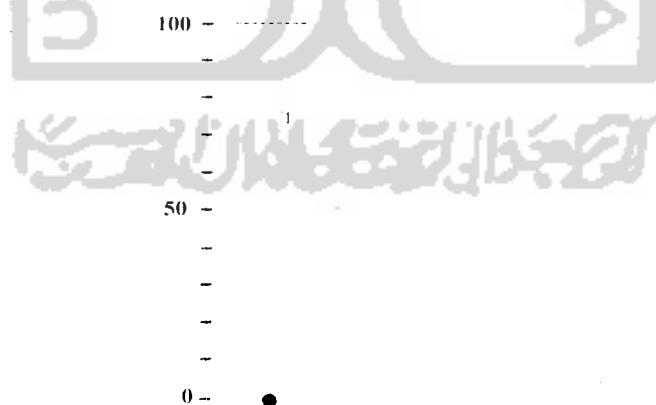
Penololan sampel yang berlebihan dapat menyebabkan “tailing” (bercak berekor) dan terjadi pemisahan bercak yang kurang baik, sehingga sulit untuk menentukan jenis senyawanya. Penempelan kromatogram pada media dilakukan

selama satu jam, selama waktu tersebut senyawa akan berdifusi kedalam media dan jika mempunyai aktivitas antimikrobia maka akan timbul zona jernih pada media.

Hasil bioautografi pada bakteri *S. aureus* terdapat zona radikal pada hR_f 75, sehingga untuk mengetahui senyawa yang mempunyai aktivitas antimikrobia tersebut dilakukan deteksi pada plat KLT dengan reaksi sempurna FeCl₃ dan AlCl₃ dihasilkan bercak berwarna hijau. Maka dimungkinkan senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antimikrobia tersebut adalah senyawa yang mempunyai hR_f 75, yaitu apigenin.

Tabel IX. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap jamur *S. aureus*.

Mikroba uji	ekstrak	Fase diam	Fase gerak	Hasil bioautografi
<i>S. aureus</i>	etanolik	Silika gel GF ₂₅₄	Toluen-aseton-asam formiat (11:6:1)	Daerah radikal pada hR _f 75

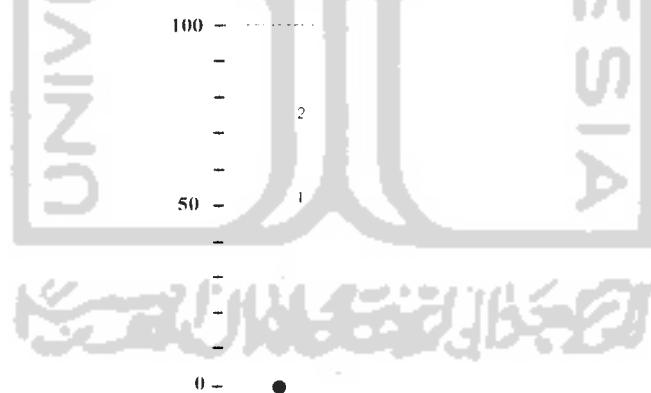


Gambar 5. Hasil uji bioautografi pada *S. aureus*

Hasil bioautografi pada bakteri *E. coli* terdapat zona radikal pada hR_f 62 dan 75. Sehingga untuk mengetahui senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba tersebut dilakukan deteksi pada plat KLT dengan pereaksi semprot FeCl₃ dan AlCl₃ dihasilkan bercak berwarna hijau. Maka dimungkinkan senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba tersebut adalah senyawa yang mempunyai hR_f 62, yaitu wedelolakton dan pada hR_f 75, yaitu apigenin.

Tabel X. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri *E. coli*.

Mikroba uji	ekstrak	Fase diam	Fase gerak	Hasil bioautografi
<i>E. coli</i>	etanolik	Silika gel GF ₂₅₄	Toluuen-aseton-asam formiat (11:6:1)	Daerah radikal pada hR _f 62 dan 75



Gambar 6. Hasil uji bioautografi pada *E. coli*

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanolik daun urang aring mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 35218, tetapi kurang efektif terhadap *C.albicans*.
2. Ekstrak etanolik daun urang aring (*E. prostrata*) mengandung senyawa lakton dan flavonoid.
3. Golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah lakton dan flavonoid.

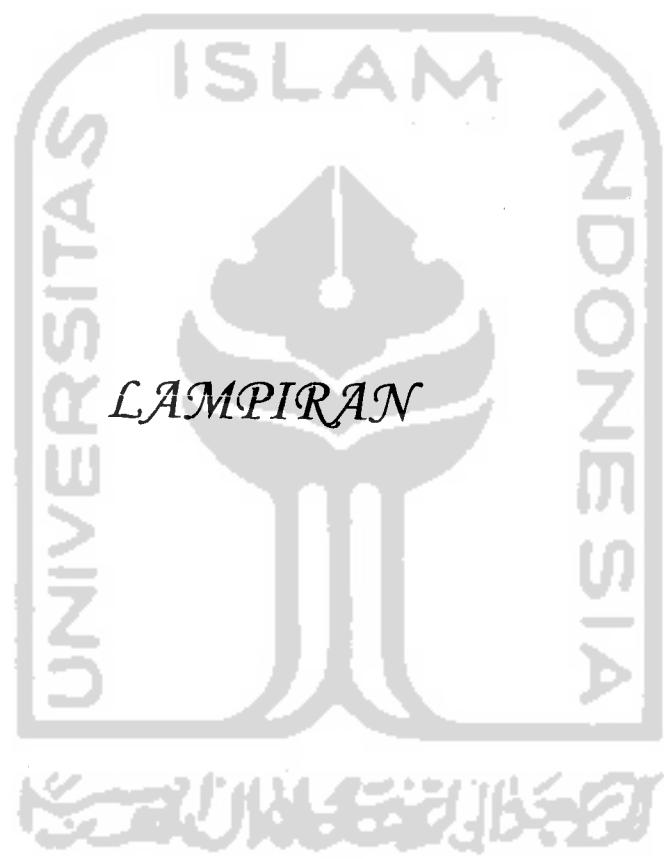
B. Saran

1. Hendaknya dilakukan difraksinasi, dengan cara perkolasai atau sohkleksi hingga diperoleh ekstrak dengan kandungan kimia yang maksimum.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan jenis senyawa dalam ekstrak etanolik daun urang aring yang mempunyai aktivitas antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997, *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Makanan*, Andi, Yogyakarta.
- Alcamo, I. C., 1983, *Fundamental of Microbiology*, Addison-Wesley Publishing Company, Inc, Massachusetts.
- Anonim, 1985, *Cara Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 1989, *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim, 1993, *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Anonim, 2000. *Petunjuk praktikum Fitokimia II*, Laboratorium fitokimia bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.
- Anonim, 2000, *Acuan Sediaan Herbal*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11-12.
- Ansel, H. C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, ed. IV, diterjemahkan oleh Farida Ibrahi n, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 607.
- Backer, C. A., and Bakhuizen van den Brink, R. C. B., 1965, *Flora of Java*, volume I, N. V. P.,Noordhooff-Groningen- Netherland.
- Claus, E. P., Tayler, V. E., Brady L. R., 1970, *Pharmacognosy*, 4th Ed., Febiger, Philadelphia, 97, 108.
- Guenther, C.,1987, *Minyak Atsiri*, jilid I, diterjemahkan oleh Ketaren, S., penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 19.
- Duke,J.A., 1987, *CRC Hanbook of Medicinal Herbs*, CRC Press. INC. Bocca Raton, Florida.
- Jawetz, E., Melnik, dan Adelberg's, 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Surabaya, 211,234,238, dan 627.
- Markham, K.R., 1988, *Techniques of Flavonoids Identification*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.

- Pramono, S., 1989, *Pemisian Flavonoid*, Pasca Sarjana UGM, Jogjakarta.
- Robbers, J.E., Speedie, K.M., Tyler, V.E., *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, William and Wilkins, Baltimore.
- Sastrohamidjojo, H., 1985, *Dasar-dasar Spektroskopi*, Liberty, Jogjakarta
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi Lapis Tipis dan Mikroskopi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Suyono, J., 1979, *Obat dan Masalahnya*, Edisi 1, Penerbit, Yayasan Kanisius, Jakarta.
- Syamsuhidayat, S.S, dan Hutapea, J.R., 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tyler,.E.. Brady V. R - Robbers E.J., 1988, *Pharmacognosy* 9th edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- van Steenis, C.G.G.J.,, 1975, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*, Cetakan III, PT. Pradyna Paramita, Jakarta.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pembelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soewandi, S.N. dan Widianto, M.B., Jurusan Farmasi FMIPA ITB, UGM, Press, Yogyakarta, 561, 564, 568, 570.
- Wagner, H., Geyer, B., Kiso, .. Hikino,h., & Rao, G.S., 1986, Coumestans as the man active Principles of liver drug Eclipta alba and wedelia calendulacea, *Planta Medica.*, 52, 370-374.
- Wagner, H, Bladt, S, Zgainski, E.M., 1984, *Plant Drug Analysis*, Translatet by Th. A. Scott, Berlin, Heidenberg, New York, Tokyo, 163-193.
- Zweigh, G. and Whitaker, J, R., 1971, *Paper Chromatography and Elektrophoresis*, Academic Press, New York, 398-399.



Lampiran 1. Hasil uji anava satu arah pada fungi *C. albicans*

Oneway

Descriptives

ZONA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kadar 5%	3	7,0000	,00000	,00000	7,0000	7,0000	7,00	7,00
kadar 10%	3	7,0000	,00000	,00000	7,0000	7,0000	7,00	7,00
kadar 15%	3	7,3733	,23180	,13383	6,7975	7,9492	7,22	7,64
kadar 20%	3	8,3067	,15144	,08743	7,9305	8,6829	8,20	8,48
kontrol +	3	12,3800	,34117	,19698	11,5325	13,2275	12,00	12,66
kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000	7,0000	7,0000	7,00	7,00
Total	18	8,1767	1,99761	,47084	7,1833	9,1701	7,00	12,66

Test of Homogeneity of Variances

ZONA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7,274	5	12	,002

ANOVA

ZONA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	67,452	5	13,490	419,244	,000
Within Groups	,386	12	,032		
Total	67,838	17			

Lampiran 1 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZONA

	(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	
						Upper Bound	
Tukey HSD	kadar 5%	kadar 10%	.0000	.14646	1,000	-.4920	.4920
		kadar 15%	-.3733	.14646	,184	-,8653	,1186
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	-1,7986	-,8147
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,8720	-4,8880
		kontrol -	,0000	.14646	1,000	-,4920	,4920
	kadar 10%	kadar 5%	,0000	.14646	1,000	-,4920	,4920
		kadar 15%	-.3733	.14646	,184	-,8653	,1186
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	1,7986	-,8147
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,8720	-4,8880
		kontrol -	,0000	.14646	1,000	-,4920	,4920
kadar 15%	kadar 5%	kadar 10%	,3733	.14646	,184	-,1186	,8653
		kadar 10%	,3733	.14646	,184	-,1186	,8653
		kadar 20%	-,9333*	.14646	,000	-1,4253	-,4414
		kontrol +	-5,0067*	.14646	,000	-5,4986	-4,5747
		kontrol -	,3733	.14646	,184	-,1186	,8653
	kadar 20%	kadar 5%	1,3067*	.14646	,000	,8147	1,7986
		kadar 10%	1,3067*	.14646	,000	,8147	1,7986
		kadar 15%	,9333*	.14646	,000	,4414	1,4253
		kontrol +	-4,0733*	.14646	,000	-4,5653	-3,5814
		kontrol -	1,3067*	.14646	,000	,8147	1,7986
kontrol +	kadar 5%	kadar 10%	5,3800*	.14646	,000	4,8880	5,8720
		kadar 15%	5,3800*	.14646	,000	4,8880	5,8720
		kadar 20%	5,0067*	.14646	,000	4,5147	5,4986
		kadar 20%	4,0733*	.14646	,000	3,5814	4,5653
		kontrol -	5,3800*	.14646	,000	4,8880	5,8720
	kontrol -	kadar 5%	,0000	.14646	1,000	-,4920	,4920
		kadar 10%	,0000	.14646	1,000	-,4920	,4920
		kadar 15%	-,3733	.14646	,184	-,8653	,1186
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	-1,7986	-,8147
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,8720	-4,8880
Bonferroni	kadar 5%	kadar 10%	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
		kadar 15%	-,3733	.14646	,383	-,9078	,1611
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	-1,8411	-,7722
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,9144	-4,8456
		kontrol -	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
	kadar 10%	kadar 5%	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
		kadar 15%	-,3733	.14646	,383	-,9078	,1611
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	-1,8411	-,7722
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,9144	-4,8456
		kontrol -	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
kadar 15%	kadar 5%	kadar 10%	,3733	.14646	,383	-,1611	,9078
		kadar 10%	,3733	.14646	,383	-,1611	,9078
		kadar 20%	-,9333*	.14646	,001	-1,4678	-,3989
		kontrol +	-5,0067*	.14646	,000	-5,5411	-4,4722
		kontrol -	,3733	.14646	,383	-,1611	,9078
	kadar 20%	kadar 5%	1,3067*	.14646	,000	,7722	1,8411
		kadar 10%	1,3067*	.14646	,000	,7722	1,8411
		kadar 15%	,9333*	.14646	,001	,3989	1,4678
		kontrol +	-4,0733*	.14646	,000	-4,6078	-3,5089
		kontrol -	1,3067*	.14646	,000	,7722	1,8411
kontrol +	kadar 5%	kadar 10%	5,3800*	.14646	,000	4,8456	5,9144
		kadar 15%	5,3800*	.14646	,000	4,8456	5,9144
		kadar 20%	5,0067*	.14646	,000	4,4722	5,5411
		kadar 20%	4,0733*	.14646	,000	3,5389	4,6078
		kontrol -	5,3800*	.14646	,000	4,8456	5,9144
	kontrol -	kadar 5%	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
		kadar 10%	,0000	.14646	1,000	-,5344	,5344
		kadar 15%	-,3733	.14646	,383	-,9078	,1611
		kadar 20%	-1,3067*	.14646	,000	-1,8411	-,7722
		kontrol +	-5,3800*	.14646	,000	-5,9144	-4,8456

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 1 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

ZONA

KADAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Tukey HSD ^a				
kadar 5%	3	7,0000		
kadar 10%	3	7,0000		
kontrol -	3	7,0000		
kadar 15%	3	7,3733		
kadar 20%	3		8,3067	
kontrol +	3			12,3800
Sig.		,184	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank
ZONA		
kadar 5%	3	5,00
kadar 10%	3	5,00
kadar 15%	3	11,00
kadar 20%	3	14,00
kontrol +	3	17,00
kontrol -	3	5,00
Total	18	

Test Statistics ^{a,b}

	ZONA
Chi-Square	16,760
df	5
Asymp. Sig.	,005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	3,50	10,50
kadar 10%	3	3,50	10,50
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	10,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	2,00	6,00
kadar 15%	3	5,00	15,00
Total	6		

Lampiran 1 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	2,00	6,00
kadar 20%	3	5,00	15,00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 5%	3	2,00	6,00
	kontrol +	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 5%	3	3,50	10,50
	kontrol -	3	3,50	10,50
	Total	6		

Lampiran 1 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	10,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 10%	3	2,00	6,00
kadar 15%	3	5,00	15,00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 10%	3	2,00	6,00
kadar 20%	3	5,00	15,00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 10%	3	2,00	6,00
kontrol +	3	5,00	15,00
Total	6		

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 10%	3	3,50	10,50
kontrol -	3	3,50	10,50
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	10,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 15%	3	2,00	6,00
kadar 20%	3	5,00	15,00
Total	6		

Lampiran 1 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	3	2,00	6,00
kadar 15%	3	5,00	15,00
kontrol +			
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Lampiran 1 (lanjutan)

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 15%	3	5,00	15,00
kontrol -	3	2,00	6,00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 20%	3	2,00	6,00
kontrol +	3	5,00	15,00
Total	6		

Lampiran 1 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 20%	3	5,00	15,00
kontrol -	3	2,00	6,00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 1 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	8,1767	1,99761	7,00	12,66
KADAR	18	3,5000	1,75734	1,00	6,00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kontrol +	3	5,00	15,00
	kontrol -	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Hipotesis :

H_0 = keenam rata-rata populasi adalah identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah sama/tidak berbeda secara nyata).

H_1 = keenam rata-rata populasi adalah tidak identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah tidak sama/berbeda secara nyata).

Pengambilan keputusan :

Berdasarkan nilai probabilitas

Jika probabilitas < 0,05, maka H_0 ditolak

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Keputusan :

a. Uji anava

Didapat tes homogeneity of variances dengan nilai probabilitasnya $0,002 < 0,05$ maka tidak dilakukan uji T.

b. Kruskal-Wallis

Nilai probabilitasnya $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak atau keenam rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi tidak sama/ berbeda secara nyata.

c. Mann-Whitney

Perbandingan kadar antara $5\% : 10\%$, $K(-) : 5\%$, dan $K(-) : 10\%$, didapatkan nilai probabilitasnya 1,00, oleh karena $> 0,05$, maka H_0 diterima atau rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi adalah sama/ tidak berbeda secara nyata.

Perbandingan variasi kadar antara $K(+)$: $15\% : 20\%$ didapatkan nilai probabilitasnya 0,05. Oleh karena $= 0,05$ maka H_0 ditolak atau rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi adalah sama/ tidak berbeda secara nyata.

Lampiran 2. Hasil uji anava satu arah pada bakteri *S. aureus*

Oneway

Descriptives

ZONA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kadar 5%	3	7.8733	.78799	.45495	5.9158	9.8308	7.20	8.74
kadar 10%	3	9.8533	.55221	.31882	8.4816	11.2251	9.38	10.46
kadar 15%	3	11.3000	.15875	.09165	10.9057	11.6943	11.12	11.42
kadar 20%	3	12.6800	.13115	.07572	12.3542	13.0058	12.56	12.82
kontrol +	3	14.7467	.42771	.24694	13.6842	15.8091	14.28	15.12
kontrol -	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
Total	18	10.5756	.277788	.65475	9.1942	11.9570	7.00	15.12

Test of Homogeneity of Variances

ZONA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.819	5	12	.027

ANOVA

ZONA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	128.880	5	25.776	134.343	.000
Within Groups	2.302	12	.192		
Total	131.182	17			

Lampiran 2 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZONA

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	
					Upper Bound	
Tukey HSD	kadar 5%	-1.9800*	.35765	.001	-3.1813	-.7787
	kadar 10%					
	kadar 15%	-3.4267*	.35765	.000	-4.6280	-2.2254
	kadar 20%	-4.8067*	.35765	.000	-6.0080	-3.6054
	kontrol +	-6.8733*	.35765	.000	-8.0746	-5.6720
	kontrol -	8.733	.35765	.216	3.280	2.0746
	kadar 10%	1.9800*	.35765	.001	.7787	3.1813
	kadar 15%	-1.4467*	.35765	.016	-2.6480	-2.454
	kadar 20%	-2.8267*	.35765	.000	-4.0280	-1.6254
	kontrol +	-4.8933*	.35765	.000	-6.0946	-3.6920
	kontrol -	2.8533*	.35765	.000	1.6520	4.0546
kadar 15%	kadar 5%	3.4267*	.35765	.000	2.2254	4.6280
	kadar 10%	1.4467*	.35765	.016	.2454	2.6480
	kadar 20%	-1.3800*	.35765	.022	-2.5813	-1.1787
	kontrol +	-3.4467*	.35765	.000	-4.6480	-2.2454
	kontrol -	4.3000*	.35765	.000	3.0987	5.5013
	kadar 20%	4.8067*	.35765	.000	3.6054	6.0080
	kadar 10%	2.8267*	.35765	.000	1.6254	4.0260
	kadar 15%	1.3800*	.35765	.022	.1787	2.5813
	kontrol +	-2.0667*	.35765	.001	-3.2680	-8554
	kontrol -	5.6800*	.35765	.000	4.4787	6.8313
kontrol +	kadar 5%	6.8733*	.35765	.000	5.6720	8.0746
	kadar 10%	4.8933*	.35765	.000	3.6920	6.0946
	kadar 15%	3.4467*	.35765	.000	2.2454	4.6480
	kadar 20%	2.0667*	.35765	.001	.8654	3.2630
	kontrol -	7.7467*	.35765	.000	6.5454	8.9420
	kadar 5%	-.8733	.35765	.216	-2.0746	.3280
	kadar 10%	-2.8533*	.35765	.000	-4.0546	1.6520
	kadar 15%	-4.3000*	.35765	.000	-5.5013	-3.987
	kontrol +	-5.6800*	.35765	.000	-6.8813	-4.4787
	kontrol -	-7.7467*	.35765	.000	-8.9480	-6.5454
Bonferroni	kadar 5%	-1.9800*	.35765	.002	-3.2850	-6750
	kadar 10%	-3.4267*	.35765	.000	-4.7317	-2.1217
	kadar 20%	-4.8067*	.35765	.000	-6.1117	-3.5017
	kontrol +	-6.8733*	.35765	.000	-8.1783	-5.5683
	kontrol -	8.733	.35765	.466	.4317	2.1783
	kadar 10%	1.9800*	.35765	.002	6750	3.2850
	kadar 15%	-1.4467*	.35765	.024	-2.7517	-1.1417
	kadar 20%	-2.8267*	.35765	.000	-4.1317	-1.5217
	kontrol +	-4.8933*	.35765	.000	-6.1983	-3.5883
	kontrol -	2.8533*	.35765	.000	1.5483	4.1583
kadar 15%	kadar 5%	3.4267*	.35765	.000	2.1217	4.7317
	kadar 10%	1.4467*	.35765	.024	.1417	2.7517
	kadar 20%	-1.3800*	.35765	.034	-2.6850	-0.730
	kontrol +	-3.4467*	.35765	.000	-4.7517	-2.1417
	kontrol -	4.3000*	.35765	.000	2.9950	5.6050
	kadar 20%	4.8067*	.35765	.000	3.5017	6.1117
	kadar 10%	2.8267*	.35765	.000	1.5217	4.1317
	kadar 15%	1.3800*	.35765	.034	.0750	2.5850
	kontrol +	-2.0667*	.35765	.001	-3.3717	-7.6117
	kontrol -	5.6800*	.35765	.000	4.3750	6.9850
kontrol +	kadar 5%	6.8733*	.35765	.000	5.5683	8.1783
	kadar 10%	4.8933*	.35765	.000	3.5883	6.1933
	kadar 15%	3.4467*	.35765	.000	2.1417	4.5117
	kadar 20%	2.0667*	.35765	.001	.7617	3.3717
	kontrol -	7.7467*	.35765	.000	6.4417	9.0517
	kadar 5%	-.8733	.35765	.466	-2.1783	.4317
	kadar 10%	-2.8533*	.35765	.000	-4.1583	-1.5483
	kadar 15%	-4.3000*	.35765	.000	-5.6050	-2.9950
	kadar 20%	-5.6800*	.35765	.000	-6.9850	-4.3750
	kontrol +	-7.7467*	.35765	.000	-9.0517	-6.4417

* The mean difference is significant at the .05 level.



Lampiran 2 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

ZONA

KADAR	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a						
kontrol -	3	7.0000				
kadar 5%	3	7.8733				
kadar 10%	3		9.8533			
kadar 15%	3			11.3000		
kadar 20%	3				12.6800	
kontrol +	3					14.7467
Sig.		.216	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank
ZONA		
kadar 5%	3	5.00
kadar 10%	3	8.00
kadar 15%	3	11.00
kadar 20%	3	14.00
kontrol +	3	17.00
kontrol -	3	2.00
Total	18	

Test Statistics^{a,b}

	ZONA
Chi-Square	16.648
df	5
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 2 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	2.00	6.00
kadar 10%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	2.00	6.00
kadar 15%	3	5.00	15.00
Total	6		

Lampiran 2 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA kadar 5%	3	2.00	6.00
kadar 20%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 2 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 5%	3	2.00	6.00
	kontrol +	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 5%	3	5.00	15.00
	kontrol -	3	2.00	6.00
	Total	6		

Lampiran 2 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kadar 10%	3	2.00	6.00
kadar 15%	3	5.00	15.00
Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 2 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 10%	3	2.00	6.00
	kadar 20%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 10%	3	2.00	6.00
	kontrol +	3	5.00	15.00
	Total	6		

Lampiran 2 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 10%	3	5.00	15.00
	kontrol -	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 2 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 15%	3	2.00	6.00
	kadar 20%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 15%	3	2.00	6.00
	kontrol +	3	5.00	15.00
	Total	6		

Lampiran 2 (lanjutan)

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 15%	3	5.00	15.00
	kontrol -	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 20%	3	2.00
	kontrol +	3	5.00
	Total	6	15.00

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kadar 20%	3	5.00
	kontrol -	3	2.00
	Total	6	15.00

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Lampiran 2 (lanjutan)

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ZONA	18	10.5756	2.77788	7.00	15.12
KADAR	18	3.5000	1.75734	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	KADAR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
ZONA	kontrol +	3	5.00	15.00
	kontrol -	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	ZONA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KADAR

Hipotesis :

H_0 = keenam rata-rata populasi adalah identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah sama/tidak berbeda secara nyata).

H_1 = keenam rata-rata populasi adalah tidak identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah tidak sama/berbeda secaranya)

Pengambilan keputusan :

Berdasarkan nilai probabilitas

Jika probabilitas < 0,05, maka H_0 ditolak

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Keputusan :

- d. Uji anava

Didapat nilai *Test Homogeneity Of Variances* dengan probabilitas 0,027, sehingga tidak dilakukan uji T.

- e. Kruskal-Wallis

Nilai probabilitasnya $0,005 < 0,05$ maka H_0 ditolak atau keenam rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi tidak sama/berbeda secara nyata.

- f. Mann-Whitney

Perbandingan variasi kadar K (-) : K (+), K (-) : 5%, K (-) : 10%, K (-) : 15%, K (-) : 20% didapat nilai probabilitasnya $0,037 < 0,05$ maka H_0 ditolak atau rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi tidak sama/ berbeda secara nyata.

Perbandingan variasi kadar antara K (+) : 5 % : 10 % : 15 % : 20 % didapatkan nilai probabilitasnya 0,05. Oleh karena $= 0,05$ maka H_0 bisa ditolak atau rata-rata diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi tidak sama/ berbeda secara nyata.

Lampiran 3. Hasil uji anava satu arah pada bakteri *E.coli*

Oneway

Descriptives

ZONA

	N	Mean	S.d. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval fo Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kadar 5%	3	7,6067	.09018	.05207	7,3826	7,8307	7,52	7,70
kadar 10%	3	9,9067	.29280	.16905	9,1793	10,6340	9,64	10,22
kadar 15%	3	10,9467	.69002	.39839	9,2326	12,6608	10,26	11,64
kadar 20%	3	12,4200	.23065	.13317	11,8470	12,9930	12,20	12,66
kontrol +	3	14,5067	.74628	.43086	12,6528	16,3605	13,90	15,34
kontrol -	3	7,0000	.00000	.00000	7,0000	7,0000	7,00	7,00
Total	18	10,3978	2,71066	.63891	9,0498	11,7458	7,00	15,34

Test of Homogeneity of Variances

ZONA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,079	5	12	,051

ANOVA

ZONA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	122,550	5	24,510	124,613	,000
Within Groups	2,360	12	,197		
Total	124,910	17			

Lampiran 3 (lanjutan)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons						
			Dependent Variable: ZONA			
	(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
Tukey HSD	kadar 5%	kadar 10%	-2.3000*	.36211	.000	-3.5163 -1.0837
		kadar 15%	-3.3400*	.36211	.000	-4.5563 -2.1277
		kadar 20%	-4.8133*	.36211	.000	-6.0296 -3.8970
		kontrol +	-6.9000*	.36211	.000	8.1163 -5.8837
		kontrol -	.6067	.36211	.570	.6096 1.8230
	kadar 10%	kadar 5%	2.3000*	.36211	.000	1.0837 3.5163
		kadar 15%	-1.0400	.36211	.111	-2.2563 .1763
		kadar 20%	-2.5133*	.36211	.000	-3.7296 -1.2970
		kontrol +	-4.6000*	.36211	.000	-5.8163 -3.3837
		kontrol -	2.9067*	.36211	.000	1.6904 4.1230
	kadar 15%	kadar 5%	3.3400*	.36211	.000	2.1237 4.5563
		kadar 10%	1.0400	.36211	.111	-.1763 2.2563
		kadar 20%	-1.4733*	.36211	.015	-2.6896 -.2670
		kontrol +	-3.5600*	.36211	.000	-4.7763 -2.3437
		kontrol -	3.9467*	.36211	.000	2.7304 5.1630
	kadar 20%	kadar 5%	4.8133*	.36211	.000	3.5970 6.0296
		kadar 10%	2.5133*	.36211	.000	1.2970 3.7296
		kadar 15%	1.4733*	.36211	.015	.2570 2.6896
		kontrol +	-2.0867*	.36211	.001	-3.3030 -.8704
		kontrol -	5.4200*	.36211	.000	4.2037 6.6163
	kontrol +	kadar 5%	6.9000*	.36211	.000	5.6837 6.1163
		kadar 10%	4.6000*	.36211	.000	3.3837 5.0163
		kadar 15%	3.5600*	.36211	.000	2.3437 4.7763
		kadar 20%	2.0867*	.36211	.001	.8704 3.3030
		kontrol -	7.5067*	.36211	.000	6.2904 8.7230
	kontrol -	kadar 5%	-.067	.36211	.570	-1.8230 .6096
		kadar 10%	-2.9067*	.36211	.000	-4.1230 -1.6904
		kadar 15%	-3.9467*	.36211	.000	-5.1630 -2.7304
		kadar 20%	-5.4200*	.36211	.000	-6.6363 -4.2037
		kontrol +	-7.5067*	.36211	.000	-8.7230 -6.2904
Bonferroni	kadar 5%	kadar 10%	-2.3000*	.36211	.001	-3.6213 -.9787
		kadar 15%	-3.3400*	.36211	.000	-4.6613 -2.0187
		kadar 20%	-4.8133*	.36211	.000	-6.1346 -3.4920
		kontrol +	-6.9000*	.36211	.000	-8.2213 -5.5787
		kontrol -	.6067	.36211	1.000	-.7146 1.9280
	kadar 10%	kadar 5%	2.3000*	.36211	.001	.9787 3.6213
		kadar 15%	-1.0400	.36211	.211	-2.3613 .3613
		kadar 20%	-2.5133*	.36211	.000	-3.8346 -1.1920
		kontrol +	-4.6000*	.36211	.000	-5.9213 -3.2767
		kontrol -	2.9067*	.36211	.000	1.5854 4.2250
	kadar 15%	kadar 5%	3.3400*	.36211	.000	2.0187 4.6613
		kadar 10%	1.0400	.36211	.211	-.2813 2.3613
		kadar 20%	-1.4733*	.36211	.023	-2.7946 -.1520
		kontrol +	-3.5600*	.36211	.000	-4.8813 -2.2387
		kontrol -	3.9467*	.36211	.000	2.6254 5.2680
	kadar 20%	kadar 5%	4.8133*	.36211	.000	3.4920 6.1346
		kadar 10%	2.5133*	.36211	.000	1.1920 3.8346
		kadar 15%	1.4733*	.36211	.023	.1520 2.7941
		kontrol +	-2.0867*	.36211	.001	-3.4080 -.7354
		kontrol -	5.4200*	.36211	.000	4.0987 6.7413
	kontrol +	kadar 5%	6.9000*	.36211	.000	5.5787 8.2213
		kadar 10%	4.6000*	.36211	.000	3.2787 5.1213
		kadar 15%	3.5600*	.36211	.000	2.2387 4.8813
		kadar 20%	2.0867*	.36211	.001	.7654 3.4080
		kontrol -	7.5067*	.36211	.000	6.1854 8.8280
	kontrol -	kadar 5%	-.067	.36211	1.000	-1.9280 .7146
		kadar 10%	-2.9067*	.36211	.000	-4.2280 -1.5854
		kadar 15%	-3.9467*	.36211	.000	-5.2680 -2.6254
		kadar 20%	-5.4200*	.36211	.000	-6.7413 -4.0987
		kontrol +	-7.5067*	.36211	.000	-8.8280 -.1854

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 3 (lanjutan)

Homogeneous Subsets

ZONA

KADAR	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Tukey HSD ^a					
kontrol -	3	7,0000			
kadar 5%	3	7,6067			
kadar 10%	3		9,9067		
kadar 15%	3		10,9467		
kadar 20%	3			12,4200	
kontrol +	3				14,5067
Sig.		,570	,111	,1,000	,1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 5%	3	7,6067	,09018	,05207
kadar 10%	3	9,9067	,29280	,16905

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	95% Confidence Interval of the Difference		Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
					Mean	Std. Error				
ZONA	Equal variances assumed	2,855	,166	13,003	4	,000	2,3000	,17689	79112	80888
	Equal variances not assumed			13,003	2,376	,003	2,3000	,17689	95654	64346

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 5%	3	7,6067	,09018	,05207
kadar 15%	3	10,9467	,69002	,39839

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for equality of Variance		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference			
							Lower	Upper		
ZON/ Equal variance assumed	3,038	,156	-8,313	4	,001	-3,3400	,40177	4,45550	2,22450	
Equal variance not assumed			-8,313	2,068	,013	-3,3400	,40177	5,01512	1,66488	

T-Test

Group Statistics

KADAR		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA	kadar 5%	3	7,6067	,09018	,05207
	kadar 20%	3	12,4200	,23065	,13317

Independent Samples Test

	Levene's Test for equality of Variance		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference			
							Lower	Upper		
ZON/ Equal variance assumed	1,675	,265	33,663	4	,000	-4,8133	,14298	,21032	,41635	
Equal variance not assumed			33,663	2,598	,000	-4,8133	,14298	,31098	,31569	

T-Test

Group Statistics

KADAR		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA	kadar 5%	3	7,6067	,09018	,05207
	kontrol +	3	14,5067	,74628	,43086

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Varian		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	g. (2-tailed)	Mean	Std. Error	5% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
ZON Equal vari assumed	7,582	,051	5,899	4	,000	6,9000	,43400	10498	69502
Equal vari not assum			5,899	2,058	,003	6,9000	,43400	71748	08252

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 5%	3	7,6067	,09018	,05207
kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Varian		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	g. (2-tailed)	Mean	Std. Error	5% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
ZON Equal vari assumed	4,994	,089	1,651	4	,000	,6067	,05207	46210	75123
Equal vari not assum			1,651	2,000	,007	,6067	,05207	38263	83070

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 10%	3	9,9067	,29280	,16905
kadar 15%	3	10,9467	,69002	,39839

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
ZON Equal variance assumed	1,094	,355	-2,403	4	,074	-1,0400	,43277	,24156	,16156
Equal variance not assumed			-2,403	2,698	,105	-1,0400	,43277	,50885	,42885

T-Test

Group Statistics

	KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA	kadar 10%	3	9,9067	,29280	,16905
	kadar 20%	3	12,4200	,23065	,13317

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	5% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
ZON Equal variance assumed	,204	,675	1,679	4	,000	2,5133	,21520	,11082	,91584
Equal variance not assumed			,679	3,792	,000	2,5133	,21520	,12397	,90270

T-Test

Group Statistics

	KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA	kadar 10%	3	9,9067	,29280	,16905
	kontrol +	3	14,5067	,74628	,43086



Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference	
						Difference	Difference	Lower	Upper
ZON, Equal variar assumed	3,156	,150	-9,939	4	,001	-4,6000	,46284	,88505	,31495
Equal variar not assume			-9,939	2,601	,004	-4,6000	,46284	,20922	,99078

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 10%	3	9,9067	,29280	,16905
kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference	
						Difference	Difference	Lower	Upper
ZON, Equal variar assumed	6,454	,064	17,194	4	,000	2,9067	,16905	,43731	,37602
Equal variar not assume			17,194	2,000	,003	2,9067	,16905	,17930	,63403

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 15%	3	10,9467	,69002	,39839
kadar 20%	3	12,4200	,23065	,13317

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	t-test for Equality of Means		95% Confidence Interval of the Difference		
					t	df	Mean	Std. Error	Difference
ZONA Equal vari assumed	1,608	,274	-3,507	4	,025	1,4733	,42005	,63959	,30708
ZONA Equal vari not assum			-3,507	2,441	,054	1,4733	,42005	,00097	,05430

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 15%	3	10,9467	,69002	,39839
kontrol +	3	14,3067	,74628	,43086

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	t-test for Equality of Means		95% Confidence Interval of the Difference		
					t	df	Mean	Std. Error	Difference
ZON. Equal vari assumed	,105	,762	-6,067	4	,004	-3,5600	,58682	,18927	,93073
ZON. Equal vari not assume			-6,067	3,976	,004	-3,5600	,58682	,19321	,92679

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 15%	3	10,9467	,69002	,39839
kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
ZON	Equal variance assumed	4,118	,112	9,907	4	,001	3,9467	,39839	,84057	,05276
	Equal variance not assumed			9,907	2,000	,010	3,9467	,39839	,23255	,66078

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA kadar 20%	3	12,4200	,23065	,13317
kontrol +	3	14,5067	,74628	,43086

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
ZON	Equal variance assumed	4,315	,106	-4,627	4	,010	-2,0867	,45097	,33877	,83456
	Equal variance not assumed			-4,627	2,379	,031	-2,0867	,45097	,75914	,41419

T-Test

Group Statistics

KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZCNA kadar 20%	3	12,4200	,23065	,13317
kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000

Lampiran 3 (lanjutan)

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	t Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
ZON Equal variance assumed	5,189	,085	40,701	4	,000	5,4200	,13317	,05027	,78973
Equal variance not assumed			40,701	2,000	,001	5,4200	,13317	,84703	,99297

T-Test

Group Statistics

	KADAR	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZONA	kontrol +	3	14,5067	,74628	,43086
	kontrol -	3	7,0000	,00000	,00000

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	t Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
ZON Equal variance assumed	9,853	,035	17,422	4	,000	7,5067	,43086	,31039	,70294
Equal variance not assumed			17,422	2,000	,003	7,5067	,43086	,65281	,36053

Hipotesis :

H_0 = keenam rata-rata populasi adalah identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah sama/tidak berbeda secara nyata).

H_1 = keenam rata-rata populasi adalah tidak identik (rata-rata diameter zona hambatan radikal dari berbagai konsentrasi adalah tidak sama/berbeda secaranya).

Pengambilan keputusan :

Berdasarkan nilai probabilitas

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Keputusan :

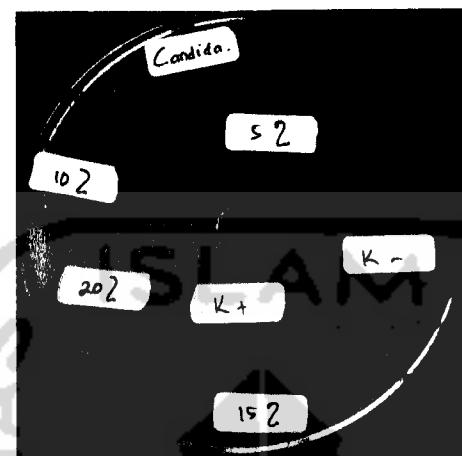
a. Uji anava

Didapat nilai tes *Homogeneity Of Variances* dengan probabilitas 0,051, karena probabilitas $> 0,05$, maka dilakukan uji T.

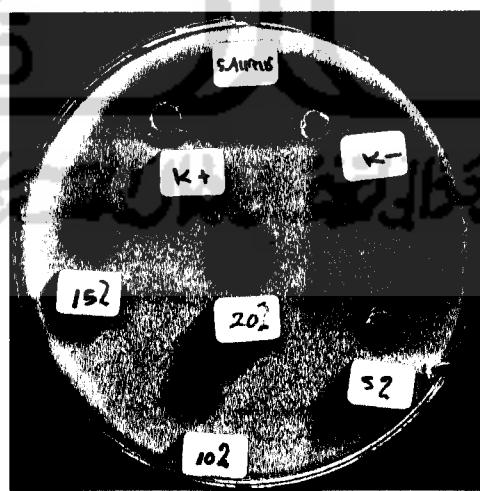
b. Uji T

Perbandingan antar kadar didapat nilai probabilitas $> 0,05$ kecuali pada perbandingan antara kadar K(+) dan K(-) didapat nilai probabilitas 0,035, sehingga antara kadar K(+) dan K(-) berbeda secara bermakna.

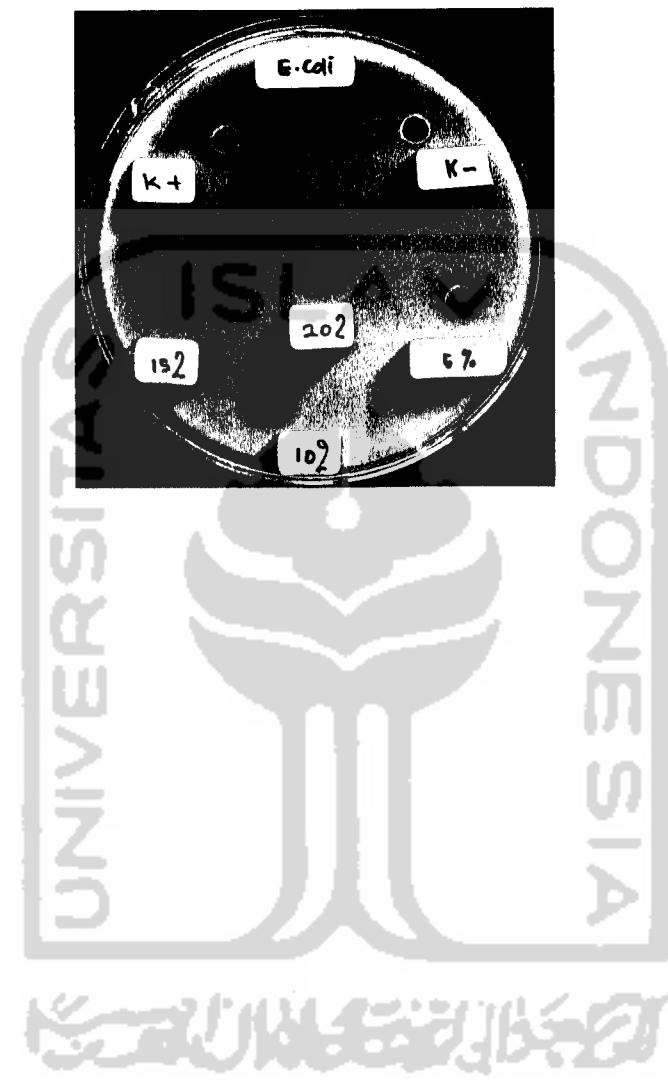
Lampiran 4. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap fungi *Candida albicans*



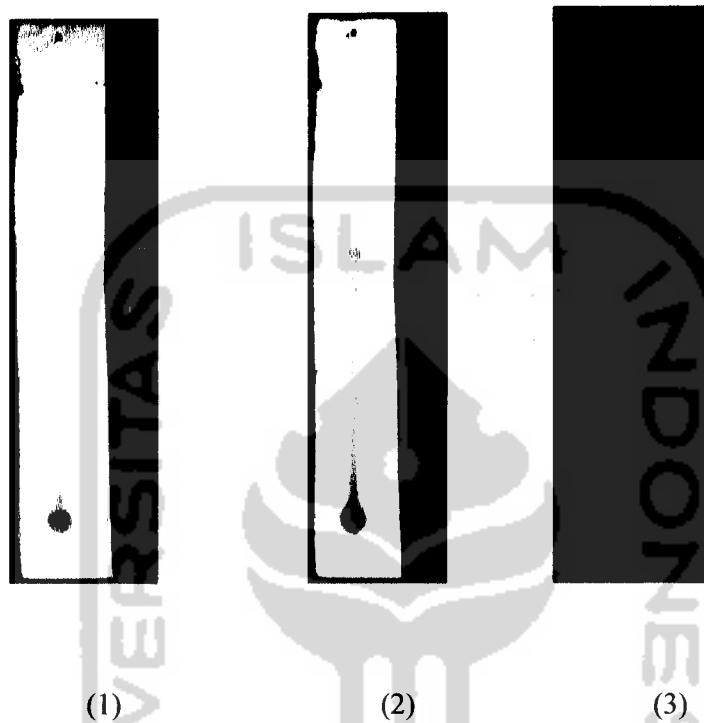
Lampiran 5. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Lampiran 6. Hasil uji mikrobiologi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri *Escherichia coli*



Lampiran 7. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot dengan FeCl_3



Keterangan :

Fase gerak

: toluen : aseton: asam formiat (11: 6:1)

Fase diam

: Silika gel GF₂₅₄

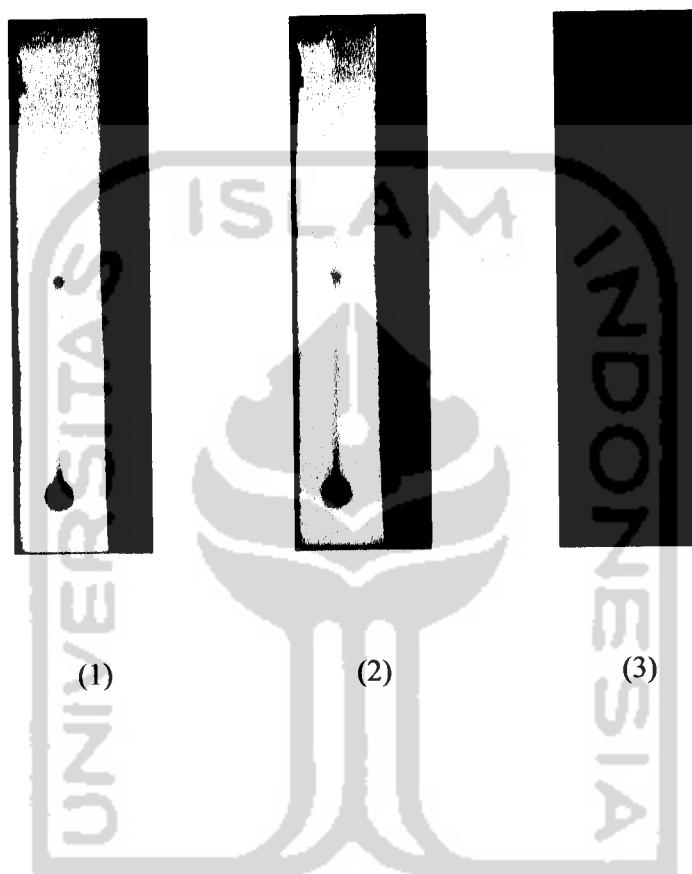
Deteksi

: Sinar tampak (1)

Sinar UV₂₅₄ (2)

Sinar UV₃₆₆ (3)

Lampiran 8. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak lakton ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot dengan FeCl_3



Keterangan :

Fase gerak : toluen : aseton: asam formiat (11: 6:1)

Fase diam : Silika gel GF₂₅₄

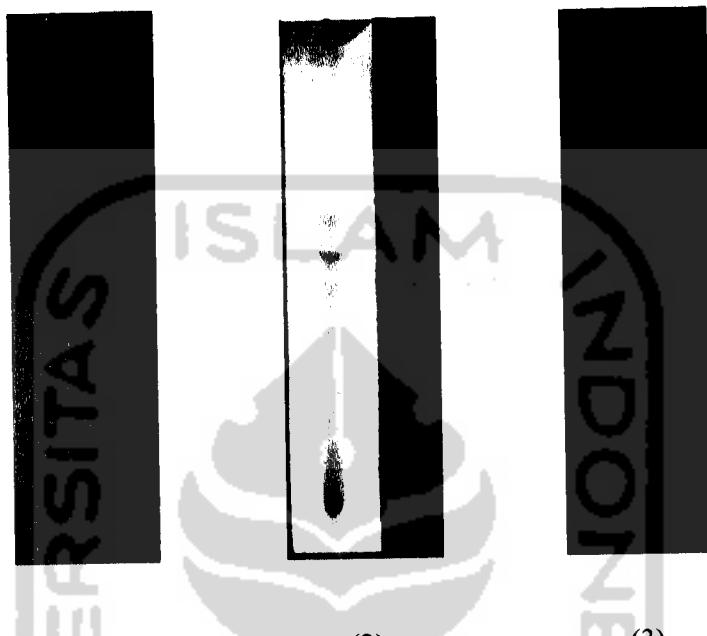
Deteksi : Sinar tampak (1)

Sinar UV₂₅₄ (2)

Sinar UV₃₆₆ (3)

Pereaksi semprot : FeCl_3

Lampiran 9. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring sebelum disemprot dengan AlCl_3



Keterangan :

Fase gerak

: toluen : aseton: asam formiat (11: 6:1)

Fase diam

: Silika gel GF₂₅₄

Deteksi

: Sinar tampak (1)

Sinar UV₂₅₄ (2)

Sinar UV₃₆₆ (3)

Lampiran 10. Kromatogram lapis tipis penampakan bercak flavonoid ekstrak etanolik daun urang aring setelah disemprot dengan AlCl_3



Keterangan :

Fase gerak

: toluen : aseton: asam formiat (11: 6:1)

Fase diam

: Silika gel GF₂₅₄

Deteksi

: Sinar tampak (1)

: Sinar UV₂₅₄ (2)

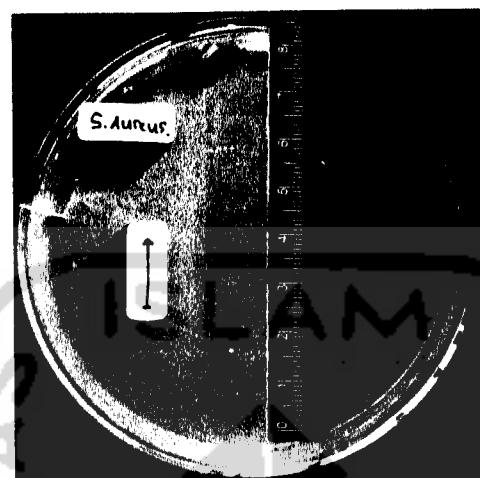
: Sinar UV₃₆₆ (3)

Pereaksi semprot

: AlCl_3



Lampiran 11. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri *S. Aureus*



Lampiran 12. Hasil uji bioautografi ekstrak etanolik daun urang aring terhadap bakteri *E. coli*

