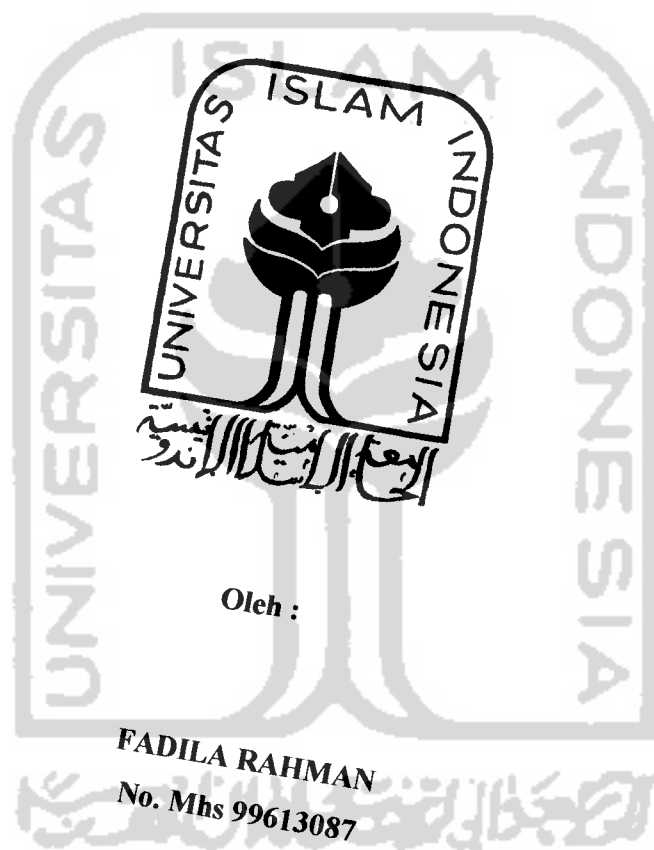


**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RIMPANG TEKI
(*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli SERTA DETEKSI GOLONGAN SENYAWA AKTIF
DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-BIOAUTOGRAFI**

SKRIPSI



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2003**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RIMPANG TEKI
(*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli SERTA DETEKSI GOLONGAN SENYAWA AKTIF
DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-BIOAUTOGRAFI**

SKRIPSI

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



Oleh :

FADILA RAHMAN

No. Mhs 99613087

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

JOGJAKARTA

2003

HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RIMPANG TEKI
(*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli SERTA DETEKSI GOLONGAN SENYAWA AKTIF
DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-BIOAUTOGRAFI**



Oleh:

FADILA RAHMAN
No. Mhs 99613087

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'C. Soegihardjo', written over a dotted line.

Dr. C.J. Soegihardjo, Apt.

tanggal. 06 - NOV - 2003

Pembimbing II

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Sri Mulyaningsih', written over a dotted line.

Sri Mulyaningsih, M.Si, Apt.

tanggal. 06 - NOV - 2003

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI RIMPANG TEKI
(*Cyperus rotundus* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN
Escherichia coli SERTA DETEKSI GOLONGAN SENYAWA AKTIF
DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-BIOAUTOGRAFI**

Oleh:

FADILA RAHMAN

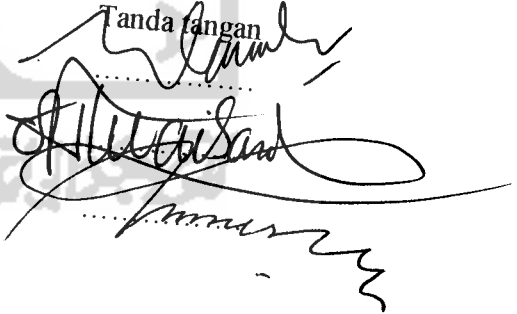
No Mhs. 99613087

Telah dipertahankan dihadapan panitia penguji skripsi Jurusan Farmasi Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
Tanggal: 3 November 2003

Penguji

1. Drs. Gemini Alam, M.Si., Apt.
2. Dr. C.J. Soegihardjo, Apt.
3. M. Hatta Prabowo, SF, Apt.

Tanda tangan



Mengetahui

Dekan Fakultas MIPA UII

(Jaka Nugraha, M.Si)

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



Yogyakarta, Oktober 2003

Penulis

Fadila Rahman

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

“Dan Kami tinggikan bagimu sebutan (nama)mu, karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap ”

(Alam Nasyrah: 4 – 8)

“ Sesungguhnya pelindungku adalah Allah yang telah menurunkan Al - Qur'an dan melindungi orang-orang yang saleh ”

(Al-A'raf: 196)

“ Katakanlah: Sesungguhnya sholatku, ibadahku, hidupku dan matiku hanyalah untuk Allah, Tuhan semesta alam, tiada sekutu bagi-Nya; dan demikian itulah yang diperintahkan kepadaku dan aku adalah orang pertama-tama menyerahkan diri (kepada Allah) ”

(Al-An'am: 162 – 163)



Skripsi ini kupersembahkan buat:
Bapak dan Ibuku, keluargaku,
dik Khusnul serta teman-temanku

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, wr. wb

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul: " Uji Aktivitas Antibakteri Rimpang Teki (*Cyperus rotundus* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Serta Deteksi Golongan Senyawa Aktif Dengan Kromatografi Lapis Tipis-Bioautografi ". Skripsi ini di susun guna melengkapi salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Sains pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak menemukan hal-hal baru dan mengalami berbagai kesulitan, namun berkat bantuan dan masukan dari berbagai pihak, kesulitan-kesulitan tersebut dapat diatasi juga. Untuk itu dengan rasa syukur penulis ingin mengucapkan terima kasihnya kepada :

1. Bapak Dr. C. J. Soegihardjo, Apt, selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberi bimbingan, saran, kritik, bantuan dan kesabarannya hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Ibu Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt, selaku Dosen pembimbing II yang telah memberi pengarahan, masukan, dan bantuan untuk kesempurnaan skripsi ini.
3. Drs. Gemini Alam, M.Si., Apt., selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan dan saran serta berbagi ilmu kepada penulis.
4. Seluruh Dosen dan karyawan Jurusan Farmasi Fakultas MIPA untuk ilmu pengetahuan dan bimbingannya.

5. Bapak, Ibu dan keluarga tercinta untuk cinta, kasih sayang, do'a, kepercayaan dan dukungan yang begitu besar artinya bagi penulis selama ini.
6. Adek'ku untuk segala pengertian, kasih sayang, kesetiaan dan kesabaran dalam menemani penulis selama ini.
7. Sahabatku 'kaze' yang selalu menemaniku kemanapun aku pergi.
8. Sahabat seperjuanganku dalam penelitian untuk dukungan dan bantuan setiap saat serta persahabatan selama ini.
9. Seluruh karyawan Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada untuk bantuan dan kerjasama yang baik.
10. Semua pihak yang telah membantu penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Semoga amal kebbaikannya mendapat balasan dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Harapan penulis semoga penelitian ini dapat memperkaya ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi. Amin.

Wassalamu 'alaikum, wr. wb



Yogyakarta, Oktober 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	3
1. Uraian tentang tumbuhan <i>Cyperus rotundus</i> L.	3
2. Uraian tentang teknik penyarian	4
3. Uraian tentang mikrobiologi	7

4. Uraian tentang kandungan kimia	13
5. Uraian tentang kromatografi	16
6. Uraian tentang KLT-bioautografi	18
B. Landasan Teori	19
C. Hipotesis	20

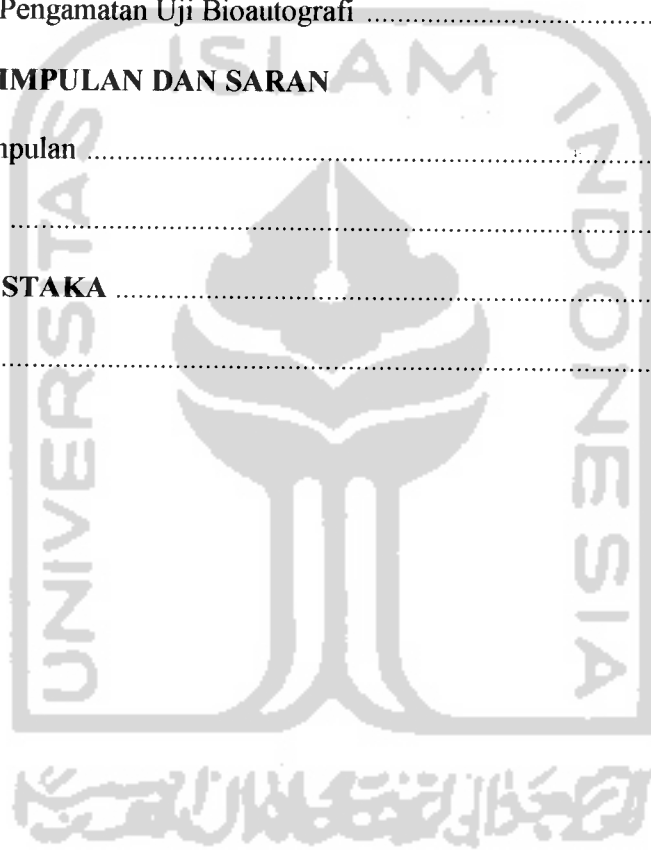
BAB III CARA PENELITIAN

A. Bahan dan Alat	21
1. Bahan-bahan yang digunakan	21
2. Alat-alat yang digunakan	21
B. Jalannya Penelitian	22
1. Determinasi tumbuhan	22
2. Penyiapan serbuk	22
3. Penyarian serbuk	22
4. Uji antibakteri	23
5. Uji kandungan senyawa dengan KLT	24
6. Uji KLT-bioautografi.....	25
C. Analisis Hasil	26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tumbuhan	27
B. Penyiapan Serbuk Tumbuhan	27
C. Penyarian Serbuk	28
D. Hasil Uji Antibakteri	30

E. Hasil Uji Kandungan Senyawa dengan KLT	34
1. Alkaloid	37
2. Flavonoid	38
3. Glikosida jantung	40
4. Terpenoid	41
F. Hasil Pengamatan Uji Bioautografi	43
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	47
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel I. Berat ekstrak kering masing-masing penyari dari 30 gram serbuk ..	29
Tabel II. Hasil uji aktivitas antibakteri pada masing-masing ekstrak terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	31
Tabel III. Hasil uji aktivitas antibakteri pada masing-masing ekstrak terhadap bakteri <i>E. coli</i>	32
Tabel IV. Harga hRf dan warna bercak pengembangan ekstrak PE dan etanol	36
Tabel V. Harga hRf hasil KLT untuk deteksi alkaloid dengan Dragendroff...	38
Tabel VI. Harga hRf hasil KLT untuk deteksi flavonoid dengan sitroborat	40
Tabel VII. Harga hRf hasil KLT untuk deteksi glikosida jantung dengan $SbCl_3$	41
Tabel VIII. Harga hRf hasil KLT untuk deteksi terpenoid dengan vanilin-asam sulfat.....	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kerangka dasar flavonoid beserta penomorannya	13
Gambar 2. Profil kromatogram ekstrak PE dan etanol	36
Gambar 3. Kromatogram deteksi senyawa alkaloid dengan Dragendoff.....	37
Gambar 4. Kromatogram deteksi senyawa flavonoid dengan sitroborat	39
Gambar 5. Kromatogram deteksi senyawa glikosida jantung dengan $SbCl_3$	41
Gambar 6. Kromatogram deteksi senyawa terpenoid dengan vanilin-asam sulfat	42
Gambar 7. Kromatogram hasil uji bioautografi ekstrak PE dan etanol terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	45



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto tumbuhan teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.)	51
Lampiran 2. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak PE terhadap <i>S. aureus</i>	52
Lampiran 3. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak PE terhadap <i>E. coli</i>	52
Lampiran 4. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap <i>S. aureus</i> ...	53
Lampiran 5. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap <i>E. coli</i>	53
Lampiran 6. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak air terhadap <i>S. aureus</i>	54
Lampiran 7. Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak air terhadap <i>E. coli</i>	54
Lampiran 8. Foto uji bioautografi ekstrak PE terhadap <i>S. aureus</i>	55
Lampiran 9. Foto uji bioautografi ekstrak etanol terhadap <i>S. aureus</i>	55
Lampiran 10. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol dilihat dengan sinar UV 254 nm	56
Lampiran 11. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol dilihat dengan sinar UV 366 nm	57
Lampiran 12. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa alkaloid	58
Lampiran 13. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa terpenoid	59
Lampiran 14. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya glikosida jantung	60
Lampiran 15. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa flavonoid	61

Lampiran 16. Pembuatan standar Mc Farland II dan pereaksi semprot	62
Lampiran 17. Hasil Anava satu arah ekstrak PE pada bakteri <i>S. aureus</i>	63
Lampiran 18. Hasil Anava satu arah ekstrak etanol pada bakteri <i>S. aureus</i>	66
Lampiran 19. Surat keterangan determinasi tumbuhan	69



INTISARI

Rimpang teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat gatal-gatal dikulit, bisul dan keputihan. Penggunaan tersebut berhubungan dengan aktivitas senyawa kimianya sebagai antibakteri. Maka dilakukan penelitian aktivitas antibakteri serta uji kandungan senyawa kimia yang kemungkinan mempunyai aktivitas antibakteri dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan bioautografi. Penyarian dilakukan dengan menggunakan pelarut Petroleum Eter (PE) dan etanol dengan alat soxhlet serta air dengan infus. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan dengan metode difusi sumuran sebagai uji pendahuluan menggunakan masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 100 mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml dan 12,5 mg/ml dalam pelarut yang sesuai yang juga digunakan sebagai kontrol negatif. Kemudian ekstrak yang aktif dianalisis kandungan senyawa kimianya dengan KLT. Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak PE dan etanol menunjukkan aktivitas antibakteri berupa zona radikal terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan pada bakteri *E. coli* ketiga ekstrak tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Hasil uji bioautografi yang hanya dilakukan pada ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri menunjukkan adanya zona jernih (hambatan) pada ekstrak PE maupun ekstrak etanol. Hasil pemeriksaan kualitas dengan KLT menunjukkan kemungkinan senyawa yang diduga menghambat bakteri *S. aureus* dalam ekstrak PE adalah senyawa terpenoid dan pada ekstrak etanol adalah senyawa golongan flavonoid.

Kata kunci : *Cyperus rotundus* L., *S. aureus*, *E. coli*, antibakteri, KLT, bioautografi.

ABSTRACT

Teki's roots (*Cyperus rotundus* L.) known have profit there are therapeutic for skin irritation, ulcers and whitish illnes. The possible action may be linked with chemical compounds as antibacterial. Therefore examination intend to know activity of antibacterial and test of chemical compounds from extracts may be have antibacterial activity with Thin Layer Chromatography (TLC) and bioautography test. Extraction by soxhlet using Petroleum Ether (PE) and ethanol and then by infusion using aquadest as solvent. Antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are known by well diffusion method as preliminary test. Each extract was made for the solution test in concentration of 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml and 12,5 mg/ml by using suitable solvent that also are used as negative control. Then active extract is analyzed its chemical compounds by TLC. The result of the preliminary activity test it was showed that the PE and ethanol have antibacterial activities to the *S. aureus* bacteria but all extracts haven't antibacterial activity to *E. coli* bacteria. The bioautography test its just done to extract that have antibacterial activity in the preliminary test showed there was a clear zone (barrier) to PE and ethanol extracts. The quality examination result with TLC on active extract showed that there were probably compounds have antibacterial activity to *S. aureus* is terpenoids in PE extract and compounds flavonoid in ethanol extract.

Keywords : *Cyperus rotundus* L., *S. aureus*, *E. coli*, antibacterial, TLC, bioautography.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penggunaan obat tradisional yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang diolah secara tradisional memberikan rasa aman karena efek sampingnya kecil, mudah didapat, dan harganya murah, tetapi belum mempunyai fakta ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan. Untuk itu diperlukan adanya upaya pengenalan dan penelitian lebih lanjut terhadap tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat obat khususnya tumbuhan obat yang mudah diperoleh dan sering digunakan.

Di Indonesia tumbuhan teki banyak digunakan sebagai obat tradisional diantaranya untuk mengobati gatal-gatal dikulit, bisul dan keputihan. Penyakit-penyakit tersebut diduga karena aktivitas bakteri. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah rimpang atau akarnya. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa minyak atsiri dari rimpang teki dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro (Anonim, 1980). Selain minyak atsiri kandungan senyawa kimia dalam rimpang teki adalah flavonoid, alkaloid dan glikosida jantung. Hal ini mendorong dilakukannya penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa kimia lainnya dalam rimpang teki yang mempunyai daya antibakteri. Dalam penelitian ini ingin membuktikan apakah rimpang teki mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sehingga hasilnya dapat memberikan alternatif pengobatan yang disebabkan oleh bakteri-bakteri tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimiawi rimpang teki yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode KLT-bioautografi. Hal tersebut diharapkan dapat memberikan sumbangan ilmiah untuk penggunaan bahan-bahan alam khususnya dalam bidang fitofarmaka.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang ingin dipecahkan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak rimpang teki mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Apa saja kandungan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak yang aktif sebagai antibakteri dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
3. Golongan senyawa kimia apa saja yang aktif sebagai antibakteri dengan metode KLT-bioautografi.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk :

1. Mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak rimpang teki terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode difusi.
2. Mengetahui kandungan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak yang aktif sebagai antibakteri menggunakan metode KLT.
3. Menentukan golongan senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode KLT-bioautografi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian tentang tumbuhan *Cyperus rotundus* L.

a. Sistematika.

Divisio : *Spermathophyta*
Sub Divisio : *Angiospermae*
Classis : *Monocotyledonae*
Ordo : *Cyperales*
Familia : *Cyperaceae*
Genus : *Cyperus*
Species : *Cyperus rotundus* L. (Pulle, 1952 ; van Steenis, 1975).

b. Nama daerah. Jawa (teki), Madura (motta), Sumbawa (koreha wai), Minahasa (wuta), Sulawesi (rukut teki) (Anonim, 1980).

c. Morfologi. Tumbuhan teki merupakan herba menahun, tinggi dapat mencapai 0,8 m. Daun berbentuk garis, duduk berjejal pada batang, jumlahnya 4-10 helai. Panjang daun 10-60 cm dan lebarnya 0,2-0,6 mm. Batangnya ramping, licin atau rata, panjangnya 15-30 cm, lebarnya 1-2 mm. Dari ujung batang ini muncul bunga, dibawahnya terdapat *involucral bract* (daun pembalut) yang melindungi bunga, bentuknya hampir sama dengan daunnya. Panjang *involucral bract* kadang sama dengan panjang bulir bunga kadang lebih panjang, jumlahnya 3 sampai 4 helai. Pada pangkal batang merupakan batang mendong, membengkak

pada dasar menjadi umbi. Dari umbi muncul akar yang panjang dan ramping, bentuknya ellips atau membulat, berakhir dengan umbi yang kehitam-hitaman membentuk tunas baru, sehingga rangkaian umbi induk dengan umbi tunasnya merupakan bentuk rantai. Tanaman ini dapat hidup di dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian sampai 1200 m di atas permukaan laut. Tanah yang cocok bagi tempat hidupnya adalah pada tanah yang tidak terlalu kering sampai daerah basah, ditempat terbuka atau tempat yang tidak terlindung, di tanah-tanah kosong, di tepi-tepi jalan, dapat juga di tanah yang tandus (Pulle, 1952; Wijayakusuma *et al.*, 1994).

d. Kandungan kimia. Tumbuhan ini mengandung minyak atsiri yaitu *alfa pinen, cineol, phenols, cyperene, cyperol* dan *alfa cyperone* juga mengandung glikosida jantung, alkaloida, dan flavonoid (Anonim, 1980; Wijayakusuma *et al.*, 1994).

e. Kegunaan dan khasiat. Untuk mengobati sakit dada, sakit iga, sakit sewaktu haid (*dysmenorrhoea*), datang haid tidak teratur (*irregular menstruation*), luka terpukul, memar, gatal-gatal dikulit, bisul, pendarahan dan keputihan, gangguan fungsi pencernaan seperti mual, muntah, nyeri lambung dan perut, kolera, kencing batu atau ginjal (Anonim, 1980; Wijayakusuma *et al.*, 1994).

2. Uraian tentang teknik penyarian

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan (Ansel, 1989).

Ragam ekstraksi yang tepat sudah tentu bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Proses yang akan diuraikan berikut ini pada dasarnya adalah cara ekstraksi yang masih banyak dilakukan.

a. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat Farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perbedaan warna) dan dikocok kembali.

Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Hasil ekstraksi disimpan dalam kondisi dingin selama beberapa hari, lalu cairannya dituang dan disaring (Voigt, 1995).

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 ini dinilai kurang tepat (Voigt, 1995).

b. Infudasi. Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit. Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati.

Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Cara ini sangat sederhana

dan sering digunakan untuk perusahaan obat tradisional dengan beberapa modifikasi (Anonim, 1980).

b. Perkolasi 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 perkolasi melalui suplai bahan pelarut segar, perbedaan konsentrasi tadi selalu dipertahankan (Voigt, 1995).

c. Soxhletasi. Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (biji, akar dan daun) adalah dengan mengekstraksi sinambung serbuk bahan dengan alat soxhlet menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti (Harborne, 1987).

Serbuk yang akan diekstraksi diletakkan pada kelongsong (terbuat dari kertas saring yang kuat) dan ditempatkan pada bagian dalam alat soxhlet. Kemudian dipasang labu alas bulat yang sesuai dengan ukurannya, diisi pelarut lalu dididihkan, uap akan keluar ke atas melalui pipa menuju pendingin balik dan akan dikondensasikan. Uap yang akan dikondensasikan akan turun sebagai tetesan pelarut dan kemudian jatuh kedalam kelongsong yang berisi bahan yang akan diekstraksi. Larutan akan terkumpul dan setelah larutan mencapai tinggi maksimal

dari alat soxhlet, secara otomatis larutan akan turun mengalir ke dalam labu alas bulat, dengan demikian bahan dikatakan telah mengalami satu kali sirkulasi. Proses ini akan terjadi terus-menerus secara otomatis sampai ekstraksi sempurna. Selanjutnya senyawa hasil ekstraksi dapat diambil dari larutan yang terkumpul dalam labu alas bulat (Voigt, 1995).

3. Uraian tentang mikrobiologi

a. Bakteri. Bakteri adalah organisme bersel satu yang harus dilihat dengan mikroskop dan banyak tersebar diudara, air, tanah, kulit, traktus intestinal manusia dan hewan.

Pada pengecatan gram bakteri dibedakan menjadi dua golongan yaitu :

- (1). Bakteri gram positif ialah bakteri yang pada pengecatan gram akan tahan terhadap alkohol sehingga tetap mengikat warna cat pertama (gram A) dan tidak mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri akan berwarna ungu.
- (2). Bakteri gram negatif ialah bakteri yang pada pengecatan gram tidak tahan terhadap alkohol sehingga warna cat pertama (gram A) akan dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna kedua yang diberikan (warna kontras), sehingga bakteri akan berwarna merah (Jutono, 1972).

b. Mekanisme pengecatan gram. Sifat gram terutama ditentukan oleh sifat fisik dan kimia dinding sel dan membran sitoplasmanya. Dinding sel dan membran sitoplasma bakteri-bakteri gram positif mempunyai afinitas yang besar terhadap kompleks cat kristal violet dan iodium, sedangkan pada bakteri gram negatif afinitasnya sangat kecil. Perbedaan sifat fisik dan kimia dinding sel



membran sitoplasma ini memegang peranan penting dalam menentukan sifat gram, tetapi sampai seberapa jauh pengaruh tersebut belum diketahui dengan jelas.

Pada waktu pengecatan larutan kristal violet menembus sel-sel bakteri gram positif maupun sel gram negatif. Pada sel bakteri gram positif zat-zat ini membentuk suatu senyawa yang sukar larut, juga tidak larut dalam peluntur (alkohol). Hal ini tidak terjadi pada sel bakteri gram negatif, akibatnya cat dapat dilunturkan. Pada pemberian cat penutup (cat lawan) sel bakteri gram positif tidak diwarnai, sedangkan sel bakteri gram negatif diwarnai sehingga kontras terhadap cat utama (Jutono, 1972).

c. Bakteri *S. aureus*. Sistematika *S. aureus* adalah sebagai berikut:

Divisi : *Protophyta*
 Klasis : *Schizomycetes*
 Ordo : *Eubacteriales*
 Familia : *Micrococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus* (Salle, 1961).

Bakteri *S. aureus* mempunyai bentuk sel bulat dengan diameter 0,8-1 μm dan tidak bergerak, susunan sel pada preparat tampak bergerombol seperti buah anggur pada media padat, bila pada media cair tampak sel tersebar atau berderet. Bakteri ini bersifat gram positif, kadang-kadang ditemukan juga yang bersifat gram negatif yaitu pada bagian tengah gerombolan kuman dan pada biakan tua yang hampir mati (Salle, 1961; Pyatkin, 1967; Jawetz *et al.*, 1986).

S. aureus dapat ditemukan pada kulit, saluran pernafasan, saluran pencernaan, udara, mulut, makanan, air, dan pakaian yang terkontaminasi (Salle, 1961), mudah tumbuh pada bermacam-macam media. Pada manusia dapat tumbuh dikulit yang mengalami radang, bisul, kulit yang tergores yang mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya (Jawetz *et al.*, 1986).

S. aureus tumbuh pada suasana aerob maupun anaerob. Tumbuh pada media dengan makanan yang lazim pH 7,2-7,4 dan temperatur 37° C tetapi tidak tumbuh pada temperatur kurang dari 10° C dan diatas 45° C, dan waktu inkubasi 18 jam suhu 37° C (Pyatkin, 1967; Jawetz *et al.*, 1986).

d. Bakteri *E. coli* . Sistematika dari *E. coli* adalah sebagai berikut:

Divisi : *Protophyta*
 Kelas : *Schizomycetes*
 Bangsa : *Eubacteriales*
 Suku : *Enterobacteriaceae*
 Marga : *Escherichia*
 Jenis : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

E. coli adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, pendek, letak satu sama lain kadang-kadang berderet seperti rantai, merupakan bakteri anaerob, dan memfermentasi semua karbohidrat. Biasanya *E. coli* menyerang organ-organ traktus digestivus manusia maupun binatang dan menyebabkan infeksi pada traktus urinarius, menyebabkan meningitis pada bayi prematur dan neonatal. Strain enteropatogenik dari *E. coli* adalah yang sering menyebabkan diare akut pada anak-anak umur dibawah dua tahun (Salle, 1961; Jawetz *et al.*, 1986).

Bakteri ini dapat tumbuh pada media agar Mc. Conkey dan memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar darah. Beberapa jenis *E. coli* dapat menghemolisis darah. Bakteri ini dapat memecah karbohidrat menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas CO₂ dan H₂ dalam jumlah yang sama dari hasil pemecahan dekstroza (Salle, 1961).

E. coli merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Bakteri ini pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih ada didalam usus, baru dapat menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan diluar traktus intestinalis seperti saluran kencing, paru, saluran empedu, peritoneum dan selaput otak. Pada keadaan yang kurang baik seperti premature, usia tua, pada saat terserang penyakit tertentu atau setelah imunisasi, bakteri ini dapat mencapai saluran darah dan terjadi sepsis.

E. coli diekskresi dalam jumlah besar dalam feses, menyebabkan kontaminasi lingkungan termasuk tanah. Bakteri ini dapat bertahan hidup tanpa pertumbuhan untuk beberapa hari sampai beberapa minggu diluar tubuh. Bila *E. coli* ditemukan dalam persediaan, menandakan adanya kontaminasi dari feses manusia dan hewan (Jawetz *et al.*, 1986).

e. Media adalah kumpulan zat-zat organik maupun anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat tertentu.

Untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri, pembuatan media harus memenuhi syarat-syarat dalam:

(1). Susunan makanan, dalam suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan haruslah ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin dan gas.

(2). Tekanan osmose, mengingat sifat-sifat bakteri juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmose, maka bakteri untuk pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis, bila media tersebut hipotonis maka bakteri akan mengalami plasmoptysis, sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi plasmolisis.

(3). Derajat keasaman (pH), pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral. Namun pada bakteri tertentu yang membutuhkan pH sangat alkalis yakni vibrio membutuhkan pH antara 8-10 untuk pertumbuhan yang optimal.

(4). Temperatur, untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, bakteri membutuhkan temperatur tertentu. Umumnya bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37° C, sesuai dengan temperatur tubuh.

(5). Sterilitas, sterilitas media merupakan suatu syarat penting. Media tidak steril tidak dapat digunakan untuk melakukan pemeriksaan mikrobiologis, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atautkah hanya merupakan kontaminan (Anonim, 1993).

f. Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

(1). Metode dilusi. Prinsipnya obat diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair masing-masing konsentrasi obat ditambahkan suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, setelah memadat barulah ditanami dengan kuman.

(2). Metode difusi. Pada metode difusi, yang diamati adalah diameter hambatan pertumbuhan bakteri yang disebabkan berdifusinya obat dari titik awal pemberian

obat ke daerah difusi. Besar kecilnya luas daerah hambatan pertumbuhan ini sebanding dengan jumlah atau kadar obat yang diberikan (Jawetz *et al.*, 1986).

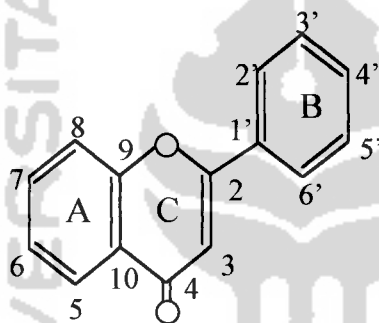
Metode ini dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media agar padat tertentu, kemudian di atasnya diletakkan disk yang mengandung obat, atau dapat juga dibuat sumuran. Kemudian diisi obat dan dieramkan 18-24 jam lalu dibaca hasilnya. Cara ini dikenal adanya dua pengertian, yaitu zona radikal dan zona irradikal. Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana tidak ditemukan sama sekali pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan menggunakan diameter zona radikal tersebut. Zona irradikal yaitu suatu daerah disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan. Disini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan dengan daerah diluar antibiotik atau antibakteri (Iravati, 2000).

g. Faktor yang mempengaruhi aktivitas anti bakteri. Diantara faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri in-vitro yang harus diperhatikan karena mempengaruhi secara nyata hasil-hasil test yaitu :

- (1). pH lingkungan,
- (2). komponen-komponen pembenihan,
- (3). stabilitas obat,
- (4). besar inokulum,
- (5). konsentrasi obat,
- (6). masa pengeraman dan
- (7). aktivitas metabolik bakteri (Jawetz *et al.*, 1986).

4. Uraian tentang kandungan kimia

a. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon dalam inti dasarnya, terdiri dari dua cincin benzena atau aromatik yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri atas 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Ketiga cincin tersebut diberi tanda A, B dan C. Atom karbon diberi nomor menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C serta angka beraksen untuk cincin B (Manitto, 1981; Markham, 1988).



Gambar 1. Kerangka dasar flavonoid beserta penomorannya
(Markham, 1988)

Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni, dan biji. Penyebaran jenis flavonoid yang terbesar adalah pada golongan tumbuhan Angiospermae. Flavonoid banyak terdapat antara lain dalam familia Polygonaceae, Compositae, Umbelliferae, Leguminoceae, dan Rutaceae (Markham, 1988; Trease and Evans, 1978). Flavonoid tidak ditemukan dalam mikroorganisme meskipun mampu mensintetis unit fenil propan (Geissman, 1962).

Senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas biologi yang bermacam-macam, diantaranya mempunyai aktivitas sebagai antivirus, antihistamin, diuretik, hipertensi, bakteriostatik, estrogenik, mengaktivasi enzim, dan lain-lain (Willaman, 1955; Geissman, 1962). Isoflavon rumit seperti rotenon merupakan insektisida dalam yang kuat juga mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* (Harborne, 1987).

b. Alkaloid. Lebih dari 5000 alkaloid dikenal saat ini sebagai metabolit sekunder yang sebagian besar tersebar luas di dunia tumbuhan. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sehingga bagian dalam sistem siklik (Harborne, 1987). Sebagian besar alkaloid bebas tidak larut atau sedikit larut dalam air. Alkaloid bebas biasanya larut dalam eter atau kloroform maupun pelarut non polar lainnya. Alkaloid biasanya tidak berwarna dan mempunyai rasa pahit (Claus *et al.*, 1970). Dalam tanaman alkaloid mempunyai beberapa fungsi antara lain sebagai pertahanan terhadap insektisida dan herbivora, merupakan hasil akhir dari proses detoksifikasi, mengatur pertumbuhan, dan merupakan elemen penting dalam tanaman untuk mengatur suplai nitrogen (Claus *et al.*, 1970). Alkaloid sering bersifat racun pada manusia tetapi sebagian besar mempunyai aktivitas fisiologis yang menonjol dan dapat digunakan secara luas dalam pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid tersebar luas pada bagian tanaman yaitu pada biji, buah, daun, akar, rimpang batang dan ada juga yang terdapat pada jamur. Dalam tanaman alkaloid dapat berupa basa bebas, garam alkaloid atau sebagai N-oksida (Claus *et al.*, 1970). Tanpa pereaksi kimia dibawah UV 254 nm

sebagian besar alkaloid menunjukkan pemadaman, sedangkan dibawah UV 365 nm beberapa alkaloid berfluoresensi biru atau kuning. Alkaloid bisa dideteksi dengan pereaksi semprot Dragendroff pada analisa KLT dan tampak berupa bercak yang berwarna jingga atau coklat, warna yang terbentuk tidak stabil (Wagner *et al.*, 1984).

c. Glikosida jantung. Merupakan salah satu dari golongan triterpenoid dan disebut juga kardenolida. Dari golongan ini pun cukup banyak senyawa yang telah dikenal, berupa campuran rumit, terdapat bersama-sama dalam satu tumbuhan yang sama. Contoh glikosida penting ialah oleandrin, racun daun *Nerium oleander*, Apocynaceae. Satu ciri srtuktur oleandrin yang luar biasa, demikian juga srtuktur kardenolida lain, ialah adanya penyulih gula khas, yaitu gula yang betul-betul tidak terdapat dalam tumbuhan manapun. Kebanyakan glikosida jantung adalah racun dan banyak yang berkhasiat farmakologi, terutama terhadap jantung, seperti tercermin pada namanya.

Sumber yang kaya akan glikosida jantung adalah anggota suku Scrophulariaceae, Digitalis, Apocynaceae, Nerium, Moraceae, Asclepiadaceae dan Asclepias. Glikosida jantung telah mendapat perhatian khusus karena telah diserap oleh kupu-kupu raja, *Danaus plexippus*, yang memakannya kemudian digunakan oleh kupu-kupu tersebut sebagai perlindungan terhadap pemangsanya, burung 'blue Jay', *Garrulus glandarius* (Rothschild, 1972). Kupu-kupu tidak terganggu oleh racun ini, sebaliknya, bagi burung pemangsa senyawa ini merupakan penyebab muntah yang hebat (Harborne, 1987).

d. Terpenoid. Mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan dan istilah ini digunakan untuk mencakup bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang sama, yaitu molekul isoprene $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 tersebut. Terpenoid terdiri dari beberapa macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri yaitu monoterpen dan siskuitergen yang mudah menguap (C_{10}), sampai senyawa yang tidak menguap yaitu triterpenoid dan sterol (C_{30}) serta pigmen karotenoid (C_{40}). Biasanya disari dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan petroleum eter, eter atau kloroform dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina menggunakan pelarut diatas. Senyawa terpenoid dapat dideteksi dengan pereaksi semprot asam sulfat dan tampak bercak yang berwarna merah, coklat, ungu, jingga merah ungu, biru jingga, biru ungu atau abu-abu hingga biru (Wagner *et al*, 1984).

5. Uraian tentang kromatografi

Kromatografi adalah salah satu teknik atau metode untuk memisahkan suatu campuran yang terdiri dari beberapa komponen senyawa kimia, yang menggunakan sistem distribusi secara kontinyu diantara dua fase yang satu bergerak pada yang lain (Sumarno, 1978; Anonim, 1979). Fase yang diam (*stationary phase*) biasanya berupa zat padat atau cairan, sedang fase yang bergerak (*mobile phase*) dapat berupa cairan atau gas (Sumarno, 1978).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan secara fisika kimia (Stahl, 1969). KLT digunakan untuk memisahkan senyawa secara cepat, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan secara

rata pada lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka. Selain cepat pemisahannya, KLT sering digunakan karena prosedurnya sederhana dan mudah dideteksi walaupun tidak langsung. Pada KLT dua dimensional, lempeng yang telah diekspansi diputar 90° dan diekspansi lagi. Pada umumnya menggunakan bejana lain dengan sistem yang berbeda (Sumarno, 1978; Anonim, 1979).

Pemilihan fase diam dan fase gerak dalam KLT mempunyai persyaratan tertentu diantaranya adalah fase diam tidak boleh larut dalam pelarut atau fase gerak, harus dapat homogen apabila diratakan, mempunyai daya adhesi terhadap lempeng, tidak boleh menimbulkan reaksi yang dapat merubah struktur senyawa yang diserap atau kalau bereaksi harus reversibel dan sebaiknya tidak berwarna guna memudahkan deteksi.

Silika gel merupakan fase diam yang bersifat asam (pH 4,5) oleh sebab itu senyawa-senyawa yang bersifat basa akan dihambat pengembangannya, untuk mengatasi hal ini biasanya digunakan fase gerak yang bersifat basa atau fase diam yang diimpregnasi dalam larutan basa. Kekuatan absorpsi senyawa pada fase diam tergantung pada kuat maupun lemahnya gaya tarik menarik fase diam.

Penggunaan selulosa pada kromatografi lapis tipis sering digunakan untuk senyawa-senyawa yang polar. Fase diam selulosa dalam penggunaannya digunakan dalam kromatografi kertas. Perbedaan kedua bahan ini pada ukuran serat. Serbuk selulosa mempunyai ukuran serat lebih pendek daripada kertas, sehingga difusinya lebih rendah selama proses pengembangan dan menghasilkan bercak yang lebih terkonsentrasi. Sedang kerugian menggunakan selulosa adalah

tidak dapat mendeteksi dengan pereaksi yang merusak, misalnya asam sulfat pekat.

Pada kromatografi dengan mekanisme adsorpsi menggunakan fase gerak yang digolongkan dalam deret eluotropik sesuai kemampuan mengeluasi secara umum efek eluasi bertambah dengan naiknya polaritas fase gerak. Contoh beberapa fase gerak berdasarkan urutan polaritasnya ialah n-heksana, heptana, sikloheksana, karbon tetraklorida, benzena, kloroform, eter, etil asetat, piridin, aseton, metanol, dan air. Fase gerak polar digunakan untuk mengeluasi senyawa-senyawa yang adsorpsinya kuat, sedang fase gerak non polar digunakan untuk mengeluasi senyawa-senyawa yang adsorpsinya lemah (Stahl, 1969; Sumarno, 1978; Harborne, 1987).

6. Uraian tentang KLT-bioautografi

Beberapa metode dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa antimikroba pada kromatogram dan metode-metode ini dibagi menjadi beberapa kategori yaitu; deteksi kimiawi dengan menggunakan reagen yang cocok, deteksi bioautografi dari komponen yang aktif secara biologis, penggunaan sinar ultra violet untuk deteksi bercak yang mengabsorpsi dan berfluoresensi dan penggunaan radio isotop untuk antibiotik radio aktif. Pada metode bioautografi lamanya waktu kontak antara kromatogram dengan media yang telah ditanami dengan organisme tergantung pada organisme uji yang digunakan dan difusibilitas dari antibiotik yang telah dikromatografikan (Wagman and Weinstein, 1973).

Metode bioautografi merupakan suatu metode yang cepat dalam skrining antibiotik untuk menentukan apakah suatu senyawa kimia yang menghasilkan zona hambatan terhadap pertumbuhan bakteri merupakan antibiotik baru atau antibiotik yang telah diketahui. Pengujian dengan bioautografi memerlukan kromatografi kertas atau kromatografi lapis tipis dan uji biologis. Suatu ekstrak sampel yang diduga mengandung suatu antibiotik baru dikromatografikan bersama dengan senyawa antibiotik yang telah diketahui dengan menggunakan beberapa sistem pelarut yang berbeda dikarenakan pada setiap pelarut yang berbeda, setiap antibiotik memiliki karakteristik mobilitas, maka perbandingan dari mobilitas antibiotik yang belum diketahui akan menunjukkan apakah senyawa antibiotik tersebut adalah senyawa yang telah diketahui.

Deteksi dari antibiotik yang dikembangkan diatas kromatogram menggunakan deteksi kimia sulit dilakukan karena secara kimiawi antibiotik sangat beraneka ragam. Dengan demikian dapat digunakan sebuah metode biologis untuk mendeteksi antibiotik, dengan menempatkan kromatogram yang telah dikembangkan pada sebuah medium agar yang telah ditanami organisme uji yang sesuai, antibiotik akan berdifusi dari kromatogram kedalam agar. Setelah dilakukan inkubasi, zona jernih pada agar memiliki penghambatan dari pertumbuhan organisme uji menunjukkan posisi antibiotik pada kromatogram (Tyler *et al.*, 1988).

B. Landasan Teori

Tumbuhan teki khususnya bagian rimpangnya banyak digunakan sebagai obat gatal-gatal dikulit, bisul dan keputihan. Penyebab penyakit tersebut diduga

karena adanya aktivitas bakteri. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa minyak atsiri yang terdapat dalam rimpang teki mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*. Di dalam rimpang teki juga terdapat flavonoid, alkaloid dan glikosida jantung yang juga diperkirakan dapat berfungsi sebagai antibakteri, tetapi belum diketahui secara pasti senyawa mana yang besar aktivitas antibakterinya. Untuk itu perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak Petroleum Eter (PE), etanol dan air menggunakan metode difusi sumuran serta pemisahan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri menggunakan metode KLT dan bioautografi untuk mengetahui senyawa yang aktif sebagai antibakteri.

C. Hipotesis

Rimpang teki (*Cyperus rotundus*. L) secara tradisional digunakan untuk mengobati gatal-gatal dikulit, bisul, sakit sewaktu haid (*dysmenorrhea*) dan keputihan, berdasarkan penggunaan tersebut maka :

1. Rimpang teki di duga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Aktivitas antibakteri dari ekstrak rimpang teki ditentukan oleh senyawa aktif yang terkandung didalamnya dan jenis senyawa aktif tersebut dapat dideteksi dengan KLT dan bioautografi.

BAB III

CARA PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan-bahan yang digunakan:

- a. Bahan utama. Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang teki yang diperoleh dari daerah Cangkringan, Sleman, Jogjakarta.
- b. Bahan penyarian: Petroleum Eter (PE) dan etanol yang didestilasi serta aquadest diperoleh dari Asia Lab Chemical.
- c. Bahan untuk uji antibakteri. Bakteri yang digunakan adalah *S. aureus* dan *E. coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Jogjakarta, nutrien broth (oxid) dan nutrien agar (oxid), fenol 10% sebagai kontrol positif, Dimetilsulfoksida (DMSO) produksi Merck dan propilenglikol (Asia Lab Chemical) sebagai kontrol negatif, larutan natrium klorida 0,9 % (Asia Lab Chemical), dan standar Mc Farland II.
- d. Bahan untuk KLT: adalah fase diam silika gel GF₂₅₄ produksi Merck, fase gerak: n-heksana – etil asetat (3:2) v/v, kloroform – metanol (3:1) v/v, kertas saring, pereaksi semprot yang digunakan adalah Dragendroff, sitroborat, uap amoniak, SbCl₃, vanilin-asam sulfat.

2. Alat-alat yang digunakan:

- a. Alat untuk pembuatan serbuk adalah blender dan ayakan.
- b. Alat ekstraksi. Alat yang digunakan antara lain: alat-alat gelas, seperangkat alat soxhlet, penangas air dan panci infus.

c. Alat uji daya antibakteri. Alat yang digunakan antara lain: petri, ose, seperangkat alat gelas, yellow tip, blue tip, mikropipet (Soccorex) ukuran 20-40 μ l dan 200-1000 μ l, pelubang gabus, lampu Bunsen, Laminar Air Flow (Farrco), autoklaf (Sakura), jangka sorong, inkubator (Mettler) dan shaker.

d. Alat KLT. Alat yang digunakan adalah lempeng KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, pipa kapiler, oven, alat penyemprot pereaksi semprot dan bejana pengembang.

B. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tumbuhan *C. rotundus* L .

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi UGM dengan berpedoman pada buku Flora Untuk Sekolah di Indonesia (van Steenis, 1975)

2. Penyiapan serbuk

Serbuk dibuat dari bagian rimpang teki yang telah dibersihkan dari tanah, debu atau kotoran yang menempel dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari tidak langsung yang ditutupi dengan kain hitam, setelah kering diserbuk sampai halus dan diayak.

3. Penyarian serbuk

Serbuk ditimbang sebanyak 30 gram, kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam kelongsong yang dibuat dari kertas saring lalu dimasukkan ke dalam soxhlet. Dan ditambah 250 ml PE yang kemudian diekstraksi hingga sempurna yang ditandai dengan larutan penyari dalam tabung soxhlet tidak berwarna atau jernih. Hasil yang telah didapat disebut ekstrak PE, kemudian

diuapkan. Ampasnya lalu dikeringkan, kemudian diekstraksi lagi dengan etanol sampai larutan penyaringnya jernih, didapat lagi ekstrak etanol yang kemudian diuapkan, lalu ampasnya dikeringkan dan selanjutnya ampas kering diinfus sehingga didapat ekstrak air dan diuapkan. Ketiga ekstrak yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

4. Uji antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Sterilisasi alat. Alat yang digunakan untuk pemeriksaan aktivitas antibakteri semuanya disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15-20 menit. Larutan uji disterilkan dengan cara disinari UV selama 30 menit, sedangkan *Laminar Air Flow* disterilkan dengan cara disemprot dengan alkohol dan disinari UV selama 2 jam.

b. Penyiapan larutan uji. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak petroleum eter, ekstrak etanol dan ekstrak air yang telah diuapkan hingga bebas dari pelarutnya. Dibuat larutan uji dengan kadar 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml dan 12,5 mg/ml menggunakan pelarut yang sesuai.

c. Pembuatan media nutrisi agar. Sebanyak 2,8 gram nutrisi agar dilarutkan dalam 100 ml aquadest, kemudian diaduk hingga semua nutrisi agar larut sempurna. Untuk media cair, sebanyak 1,3 gram nutrisi broth dilarutkan dalam 100 ml aquadest lalu dihomogenkan dengan cara diaduk, kemudian kedua media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15-20 menit dan disimpan dalam lemari pendingin.

d. Penanaman bakteri. Bakteri biakan murni diambil sebanyak satu ose kemudian ditanam pada nutrien agar steril, diinkubasi selama 24 jam. Hasil inkubasi diambil beberapa ose lagi, kemudian dicampurkan pada nutrien broth steril sehingga didapat suspensi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam.

e. Pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri yang telah diinkubasi disesuaikan konsentrasinya dengan standard Mc Farland II yaitu kepadatan 10^8 CFU/ml. Setelah itu diambil 0,2 ml suspensi bakteri dan dicampurkan ke dalam 20 ml media nutrien agar steril lalu dituang ke dalam petri, kemudian dibiarkan beberapa saat sampai membeku. Media yang telah membeku dibuat sumuran dengan diameter 8 mm, pada masing-masing sumuran ditambahkan sebanyak 20 μ l larutan uji yang dengan konsentrasi 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml dan 12,5 mg/ml. Kontrol negatif digunakan DMSO untuk ekstrak PE, propilenglikol untuk ekstrak etanol dan aquadest steril untuk ekstrak air, sedangkan kontrol positif digunakan fenol 10% yang juga sebanyak 20 μ l. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Hasil uji aktivitas daya antibakteri diperoleh dengan mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

5. Uji kandungan senyawa dengan KLT

Pemisahan senyawa kimia ekstrak yang aktif dalam menghambat bakteri dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ sedangkan fase gerak menggunakan n-heksana-etil asetat (3:2) v/v dan kloroform-metanol (3:1) v/v. Plat yang digunakan berukuran 1,5 cm dan panjang 10 cm, sedang jarak rambatnya 8 cm. Setiap ekstrak dilarutkan kembali dalam pelarut masing-masing dan ditotolkan pada plat KLT tersebut menggunakan pipa

kapiler. Setelah ditotolkan, plat diangin-anginkan untuk menghilangkan pelarutnya kemudian dikembangkan didalam bejana yang telah dijenuhi dengan fase gerak. Bercak yang terbentuk dideteksi senyawa kimianya dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm serta berbagai pereaksi semprot. Pereaksi semprot yang digunakan antara lain adalah vanilin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa terpenoid, $SbCl_3$ untuk mendeteksi senyawa glikosida jantung, Dragendroff untuk mendeteksi alkaloid, uap amoniak dan sitroborat untuk mendeteksi senyawa flavonoid. Pada deteksi senyawa dengan menggunakan pereaksi semprot tertentu, setelah kromatogram disemprot dengan pereaksi semprot tersebut kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu $110^{\circ}C$ selama 10 menit. Warna bercak yang terbentuk diamati dan dihitung hR_f -nya.

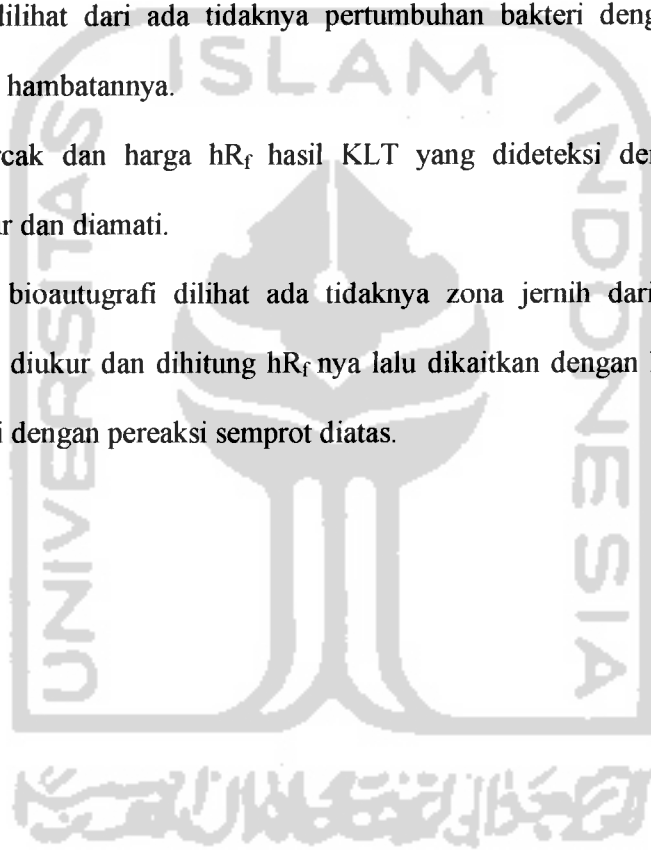
6. Uji KLT-bioautografi

Pada uji KLT-bioautografi hanya menggunakan ekstrak aktif yang telah diketahui mempunyai aktivitas antibakteri dari hasil pendahuluan. Ekstrak aktif tersebut ditotolkan pada plat kromatografi dan dikembangkan. Setelah pengembangan kromatogram diangkat dan diangin-anginkan untuk menghilangkan pelarutnya. Media nutrien agar yang masih cair ditambahkan suspensi bakteri yang telah disesuaikan konsentrasinya dengan standar Mc Farland II. Untuk setiap 15 ml media digunakan 150 μ l suspensi bakteri, setelah media membeku kromatogram ditempelkan diatas media dan dibiarkan kontak selama 30 menit kemudian kromatogram diangkat dan media diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Zona jernih yang terbentuk pada media diamati dan diukur harga hR_f -nya.

C. Analisis Hasil

Dalam penelitian ini digunakan metode analisis sebagai berikut:

1. Determinasi tumbuhan teki dengan menggunakan acuan buku Flora Untuk Sekolah di Indonesia karangan C. G. G. J. van Steenis (1975).
2. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak aktif dibandingkan dengan kontrol. Hasil dapat dilihat dari ada tidaknya pertumbuhan bakteri dengan mengukur diameter zona hambatannya.
3. Warna bercak dan harga R_f hasil KLT yang dideteksi dengan pereaksi semprot diukur dan diamati.
4. Untuk uji bioautografi dilihat ada tidaknya zona jernih dari bercak pada kromatogram, diukur dan dihitung R_f nya lalu dikaitkan dengan R_f hasil KLT yang dideteksi dengan pereaksi semprot diatas.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan sebelum pengumpulan bahan yang akan diteliti. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dan yang akan digunakan untuk menghindari kesalahan dan pengumpulan bahan penelitian serta untuk mencegah kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain.

Hasil determinasi tumbuhan teki dengan mengingat acuan buku Flora Untuk Sekolah di Indonesia (van Steenis, 1975) adalah sebagai berikut:

1b – 2b – 3b – 4a – 5b – 20. Fam *Cyperaceae* – 1b – 2b – 3a – 3. *Cyperus* – 3. *Cyperus rotundus* L.

Dari hasil determinasi yang diperoleh dapat dipastikan bahwa tumbuhan yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah tumbuhan teki dan yang digunakan adalah bagian rimpangnya.

B. Penyiapan Serbuk Tumbuhan

Rimpang teki yang digunakan di ambil dari daerah Cangkringan, Sleman Jogjakarta pada bulan Juli 2003. Pada waktu pengumpulan bahan yang harus diperhatikan antara lain adalah: pengumpulan bahan harus cermat dan teliti agar tidak keliru dengan tumbuhan lain, dilakukan di satu tempat untuk mengurangi adanya variasi kandungan kimia yang terlalu besar karena perbedaan iklim dan tempat tumbuh, waktu pengambilan yang tepat pagi atau sore hari untuk menghindari efek sinar matahari yang merugikan dan bagian yang diambil dalam

keadaan segar. Pengumpulan bahan pada waktu yang tepat diharapkan dalam rimpang mempunyai kandungan senyawa aktif yang tinggi.

Setelah pengambilan, rimpang dipisahkan dari bagian tumbuhan yang lain, kemudian dicuci dengan air mengalir agar kotoran yang melekat dapat dibersihkan semua, karena jika tidak pada air yang mengalir dimungkinkan kotoran yang telah larut akan melekat kembali pada rimpang tersebut. Setelah bersih dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dan ditutup kain hitam atau dapat juga dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45° C selama 48 jam. Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air, menjamin agar kualitas kandungan tetap baik, mencegah kapang tumbuh, mencegah terjadinya reaksi enzimatik, kerja bakteri serta perubahan kimiawi (Claus *et al.*, 1970).

Rimpang yang telah kering diserbuk dengan blender hingga di dapat serbuk kasar kemudian diayak. Penyerbukan dilakukan untuk mendapatkan partikel yang lebih kecil sehingga penyarian dapat dilakukan lebih efektif dan sempurna karena luas permukaan yang kontak dengan penyari semakin luas yang akan mempermudah perpindahan zat aktif dari simplisia kedalam cairan penyari.

C. Penyarian Serbuk

Pada penelitian ini metode penyarian yang dipakai adalah soxhletasi dengan menggunakan penyari PE dan etanol, kemudian dilanjutkan dengan infudasi dengan air. Metode soxhletasi dipilih karena pada metode ini terjadi sirkulasi yang berulang-ulang sehingga memungkinkan penyariannya berlangsung dengan sempurna dan zat dapat tersari lebih baik. Pada penyarian ini suhu dijaga agar tidak terjadi penguapan yang berlebihan dari larutan penyarinya dan

menghindari terjadinya kerusakan senyawa yang ada. Penyarian dihentikan bila larutan penyari yang tidak berwarna lagi. Metode soxhletasi ini menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda, pertama dengan pelarut PE yang bersifat non polar, kemudian dilanjutkan dengan etanol yang bersifat semi polar. Untuk menyari senyawa-senyawa yang bersifat polar penyarian dilanjutkan dengan infudasi karena cara ini relatif lebih sederhana dan mudah dan penyari yang digunakan mudah didapat dan harganya murah. Pembuatan infus dilakukan dari ampas penyarian etanol yang telah dikeringkan dengan menggunakan panci infus dengan pelarut aquadest. Pelarut yang digunakan harus lebih banyak dari berat serbuk sampai terendam semua. Pembuatan infus ini dilakukan selama 15 menit dihitung setelah suhu mencapai 90° C.

Setelah masing-masing ekstrak yang didapat diuapkan pelarutnya sampai habis maka didapat ekstrak kering. Berat ekstrak kering yang diperoleh dari masing-masing penyari ditunjukkan pada tabel I.

Tabel I. Berat ekstrak kering masing-masing penyari dari 30 gram serbuk.

Ekstrak	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
PE	30	0,62	2,07
Etanol	30	1,45	4,83
Air	30	2,14	7,13

Keterangan: rendemen diperoleh dari = $\frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$

D. Hasil Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak dilakukan dengan metode difusi teknik sumuran dengan diameter 8 mm dan volume media sebanyak 20 ml tiap petri serta larutan uji dan kontrol yang digunakan sebanyak 20 μ l. Metode difusi teknik sumuran digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dan untuk menentukan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dari tiap-tiap ekstrak tersebut terhadap bakteri *S. aureus* yang mewakili bakteri gram positif dan *E. coli* yang mewakili bakteri gram negatif

Untuk uji pendahuluan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ketiga ekstrak tersebut yaitu PE, etanol dan air dibuat pada berbagai seri kadar 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml dan 12,5 mg/ml dengan menggunakan pelarut DMSO untuk ekstrak PE, propilenglikol 50% untuk ekstrak etanol dan aquadest untuk ekstrak air. Alasan penggunaan pelarut-pelarut tersebut adalah karena secara umum dapat melarutkan ekstrak tanpa mempunyai aktivitas menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kontrol negatif digunakan pelarut pada masing-masing ekstrak sehingga dapat digunakan untuk mengetahui apakah ekstraknya yang mempunyai aktivitas atau pelarutnya. Kontrol positif menggunakan fenol 10% dimana kontrol positif berfungsi untuk menunjukkan hasil yang positif yaitu berupa zona hambatan pertumbuhan bakteri. Penggunaan fenol sebagai kontrol positif karena selain strukturnya sama dengan tumbuhan juga merupakan salah satu golongan antiseptik yang dapat berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen.

Hasil uji aktivitas antibakteri ketiga ekstrak tersebut dapat dilihat pada tabel II dan tabel III.

Tabel II. Hasil uji aktivitas antibakteri pada masing-masing ekstrak terhadap bakteri *S. aureus*.

Ekstrak	Kadar (mg/ml)	Diameter hambatan (mm)			Rata-rata \pm SD
		X ₁	X ₂	X ₃	
PE	12.5	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	25	8.23	8.63	8.74	8.53 \pm 0.22
	50	9.24	8.87	9.78	9.29 \pm 0.37
	100	10.2	9.98	10.12	10.10 \pm 0.09
kontrol +	100	15.23	14.87	15.67	15.26 \pm 0.33
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
etanol	12.5	8.12	8.14	8.09	8.12 \pm 0.02
	25	8.71	9.17	8.87	8.92 \pm 0.19
	50	9.49	10.04	9.83	9.78 \pm 0.23
	100	10.59	11.26	10.59	10.81 \pm 0.32
kontrol +	100	14.98	14.86	14.76	14.87 \pm 0.09
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
air	12.5	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	25	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	50	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	100	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
kontrol +	100	15.23	15.46	15.13	15.27 \pm 0.14
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00

Keterangan :

1. diameter (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran dan merupakan nilai rata-rata.
2. X₁, X₂, X₃ adalah replikasi.
3. diameter sumuran 8 mm.

Tabel III. Hasil uji aktivitas antibakteri pada masing-masing ekstrak terhadap bakteri *E. coli*.

Ekstrak	Kadar (mg/ml)	Diameter hambatan (mm)			Rata-rata \pm SD
		X ₁	X ₂	X ₃	
PE	12.5	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	25	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	50	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	100	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
kontrol +	-	13.23	13.52	13.14	13.29 \pm 0.16
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
etanol	12.5	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	25	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	50	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	100	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
kontrol +	-	13.56	14.08	13.23	13.62 \pm 0.35
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
air	12.5	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	25	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	50	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
	100	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00
kontrol +	-	13.11	13.41	13.05	13.19 \pm 0.16
kontrol -	-	8.00	8.00	8.00	8.00 \pm 0.00

Keterangan :

1. diameter (mm) adalah zona radikal termasuk diameter sumuran dan merupakan nilai rata-rata.
2. X₁, X₂, X₃ adalah replikasi.
3. diameter sumuran 8 mm.

Dari tabel II dapat dilihat hanya pada ekstrak PE dan etanol yang dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, sedangkan pada tabel III semua ekstrak tidak dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Untuk menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kadar dalam satu ekstrak dengan zona hambatan yang ditimbulkan, maka dilakukan perhitungan statistik, disini dilakukan dengan analisis varian (anava) satu arah. Hasil anava satu arah seperti yang ditunjukkan pada lampiran menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan diantara kelompok kadar dalam ekstrak PE dan etanol. Setelah diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara kelompok kadar, selanjutnya dilakukan uji Tukey untuk mengetahui kelompok

kadar mana yang berbeda dan mana yang tidak berbeda. Untuk ekstrak PE hasil uji Tukey menunjukkan perbedaan yang nyata diantara kelompok kadar kecuali antara kadar 12,5 mg/ml dan kontrol negatif karena pada kadar tersebut belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan untuk ekstrak etanol terdapat perbedaan yang nyata untuk seluruh kelompok kadar.

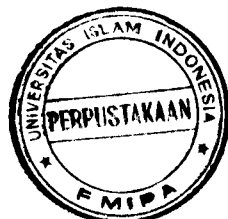
Dari data uji aktivitas antibakteri rimpang teki pada kedua jenis bakteri yang terlihat pada tabel II dan tabel III, bila diamati maka penghambatan aktivitas antibakteri untuk *S. aureus* dan *E. coli* ada perbedaan aktivitasnya. Adanya perbedaan respon terhadap bahan uji ini salah satunya kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komposisi kimiawi pada dinding selnya. Dinding sel bakteri gram negatif mempunyai susunan kimiawi yang lebih rumit jika dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram positif walaupun lebih sedikit peptidoglikan yang merupakan penyebab kakunya dinding sel. Pada bakteri gram positif terdiri atas 60-100% peptidoglikan, sedangkan bakteri gram negatif mengandung sedikitnya 10-20% peptidoglikan. Tetapi untuk bakteri gram negatif masih ada tiga polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida. Selaput luar berfungsi mencegah kebocoran dari protein periplasma dan melindungi sel dari garam-garam empedu dan enzim-enzim hidrolisa lingkungan sel. Pori protein di selaput luar menyebabkan selaput tersebut permeabel bagi zat terlarut dengan berat molekul rendah, tetapi bagian zat-zat yang mempunyai berat molekul seperti antibiotik relatif lambat untuk menembusnya (Jawetz *et al.*, 1986). Adanya perbedaan respon antara bakteri gram positif dan gram negatif ketika diberi bahan uji juga bisa disebabkan karena

perbedaan kadar dan komposisi kandungan senyawa dalam ekstrak itu sendiri. Hal ini menerangkan mengapa pada uji terhadap bakteri gram negatif memerlukan kadar yang lebih besar untuk melihat adanya penghambatan aktivitas antibakteri sehingga ekstrak PE dan etanol dari rimpang teki hanya mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan pada bakteri *E. coli* tidak.

E. Hasil Uji Kandungan Senyawa dengan KLT

Untuk memperoleh gambaran senyawa kimia apa saja yang terdapat didalam ekstrak aktif rimpang teki, digunakan metode pemisahan KLT. Dengan metode ini berbagai golongan kandungan senyawa kimia dapat dipisahkan menjadi komponennya masing-masing. Untuk menghasilkan pemisahan yang baik diperlukan pemilihan fase diam dan fase gerak yang tepat. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah fase gerak heksana-etil asetat (3:2) v/v untuk ekstrak PE dan fase gerak kloroform-metanol (3:1) v/v untuk ekstrak etanol. Pengamatan bercak dilakukan pada sinar UV 254 nm dan 366 nm dan dengan berbagai pereaksi semprot.

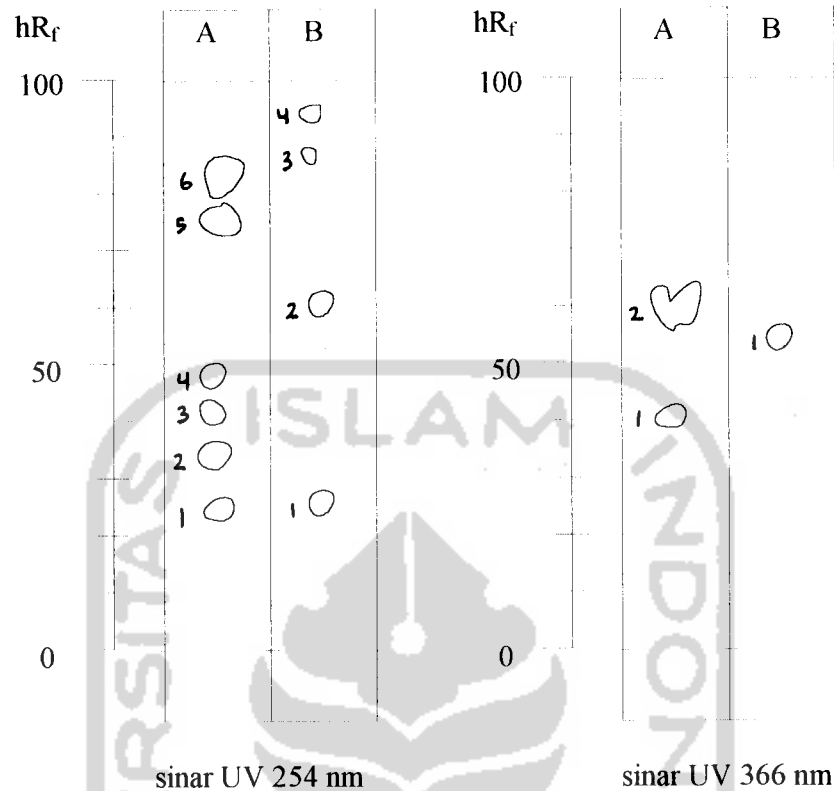
Fase diam yang digunakan terlebih dahulu diberi tanda atau jarak 1 cm dari batas bawah dan atas sebagai jarak awal penotolan dan jarak pengembangan (elusi). Fase gerak ditempatkan pada bejana yang tertutup rapat untuk menghindari penguapan fase gerak yang dapat mempengaruhi jalannya pengembangan. Untuk mencegah penguapan, pada tutup bejana dapat diolesi vaselin. Bejana pengembangan yang akan digunakan harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan fase gerak, karena bila bejana belum jenuh dengan fase gerak maka



arah rambat pengembangan menjadi miring. Kertas saring dapat digunakan untuk mempercepat penjuanan dan membantu untuk mengetahui proses penjuanan.

Pemisahan dan deteksi senyawa dengan metode KLT sangat mempengaruhi pada uji bioautografi yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang aktif sebagai antibakteri. Hal ini disebabkan jika terjadi pemisahan secara baik, maka dapat dideteksi golongan mana senyawa tersebut dan zona jernih dari hasil uji bioautografi dapat dicocokkan nilai R_f -nya dengan hasil deteksi dengan metode KLT.

Setelah dilakukan pencatatan bercak pada sinar UV 254 nm dan 366 nm, kemudian kromatogram disemprot dengan pereaksi semprot untuk mengidentifikasi kandungan zat aktif dalam masing-masing ekstrak. Pada KLT digunakan pereaksi yang terbatas macamnya sehingga hasil yang diperoleh baru memberikan informasi mengenai golongan senyawa yang kemungkinan terdapat dalam ekstrak aktif rimpang teki dan tidak memberikan informasi yang lebih terperinci. Dalam penelitian ini juga tidak dilakukan uji kuantitatif sehingga tidak diketahui kadar senyawa dalam ekstrak tersebut. Pereaksi semprot yang digunakan antara lain adalah: Sitroborat, Vanilin-asam sulfat, Dragendroff, dan $SbCl_3$. Hasil kromatogram lapis tipis pada sinar UV 254 nm dan 366 nm seperti yang terlihat pada gambar 2 dan tabel IV.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2)
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1).

Gambar 2. Profil kromatogram ekstrak PE dan etanol.

Tabel IV. Harga hR_f dan warna bercak pengembangan ekstrak PE dan etanol

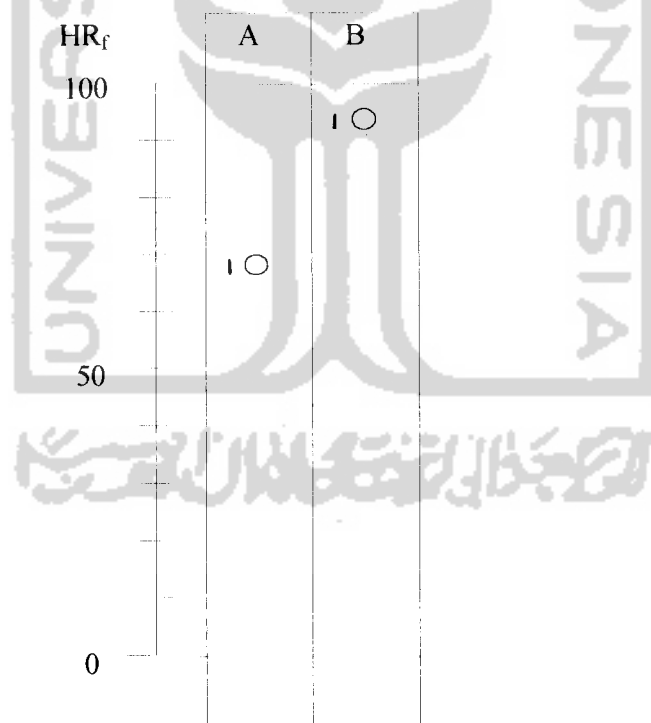
Ekstrak	No	Deteksi			
		UV 254 nm		UV 366 nm	
		hR _f	warna	hR _f	warna
PE	1	27	pemadaman	-	-
	2	32	pemadaman	-	-
	3	40	pemadaman	40	fluoresensi kuning
	4	47	pemadaman	-	-
	5	60	pemadaman	60	fluoresensi kuning
	6	72	pemadaman	-	-
etanol	1	24	pemadaman	-	-
	2	50	pemadaman	50	coklat gelap
	3	89	pemadaman	-	-
	4	97	pemadaman	-	-

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan menggunakan pereaksi semprot tersebut diterangkan sebagai berikut:

1. Alkaloid.

Pendeteksian senyawa alkaloid yang merupakan basa lemah dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot Dragendroff. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan adanya bercak berwarna coklat atau oranye yang langsung terbentuk pada saat penyemprotan. Warna bercak tersebut tidak stabil (Wagner *et al.*, 1984).

Hasil deteksi adanya senyawa alkaloid dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel V.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2).
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1).

Gambar 3. Kromatogram deteksi adanya senyawa alkaloid dengan Dragendroff.

Tabel V. Harga hR_f hasil KLT untuk deteksi alkaloid dengan Dragendroff.

Ekstrak	No	Sinar tampak	
		hR_f	warna
PE	1	69	oranye
etanol	1	91	oranye

Setelah kromatogram disemprot dengan Dragendroff, muncul bercak berwarna oranye yang ceper pudar dengan hR_f 69 pada ekstrak PE dan hR_f 91 pada ekstrak etanol. Deteksi alkaloid menggunakan Dragendroff merupakan reaksi pengendapan dimana senyawa alkaloid merupakan senyawa basa lemah yang apabila ditambahkan dengan senyawa asam maka akan membentuk garam yang dapat diendapkan. Hasil deteksi menunjukkan adanya senyawa alkaloid dalam ekstrak PE dan etanol.

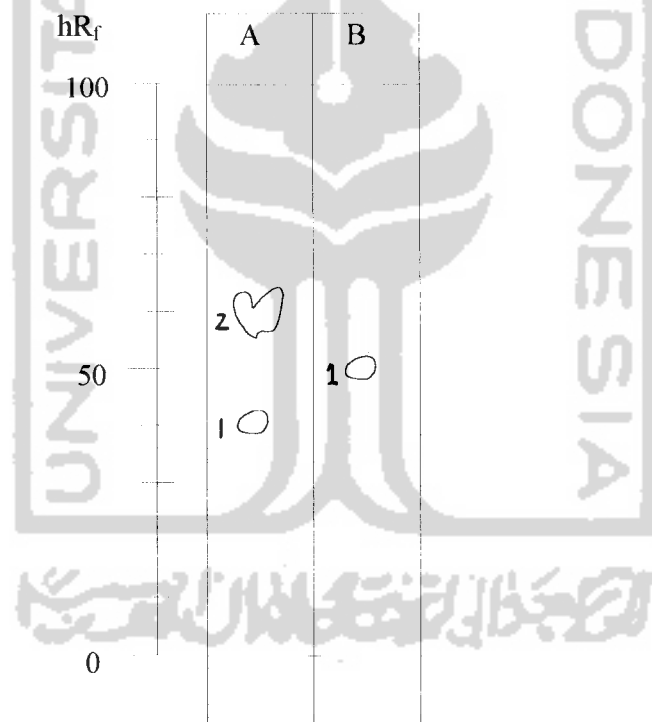
2. Flavonoid.

Markham (1988) menyebutkan bahwa flavon atau flavonol akan berfluoresensi kuning, hijau, coklat gelap atau hijau kekuningan pada UV 366 nm dengan perbedaan substituen pada posisi C-5 dan perbedaan substituen pada posisi C-3 pada flavonol.

Deteksi flavonoid tanpa perlakuan kimia dapat dilihat dengan sinar UV 366 nm dimana senyawa flavonoid akan berfluoresensi kuning, biru atau hijau tergantung pada struktur kimianya (Wagner *et al.*, 1984; Markham, 1988). Setelah pengembangan, lempeng diuapi amoniak dan disemprot dengan pereaksi sitroborat. Pengamatan warna dilakukan dibawah sinar UV 366 nm menunjukkan adanya bercak yang berfluoresensi kuning pada ekstrak PE dengan nilai hR_f 40 dan hR_f 60, sedangkan pada ekstrak etanol pada hR_f 50 bercak berwarna coklat gelap. Penambahan uap amoniak yang bersifat basa akan menyebabkan gugus

hidroksil terionisasi sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang yang diserap dan terbentuk warna kuning yang lebih intensif. Selain itu reaksi antara asam borat yang berasal dari pereaksi sitroborat dapat membentuk kompleks khelat berwarna. Menurut Markham (1988) senyawa flavonoid yang berfluoresensi kuning adalah senyawa flavonoid dengan 5-OH bebas.

Hasil deteksi dengan pereaksi semprot sitroborat menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak PE dan etanol. Hasil deteksi terhadap senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 4 dan tabel VI.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2)
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1).

Gambar 4. Kromatogram deteksi adanya senyawa flavonoid dengan Sitroborat.

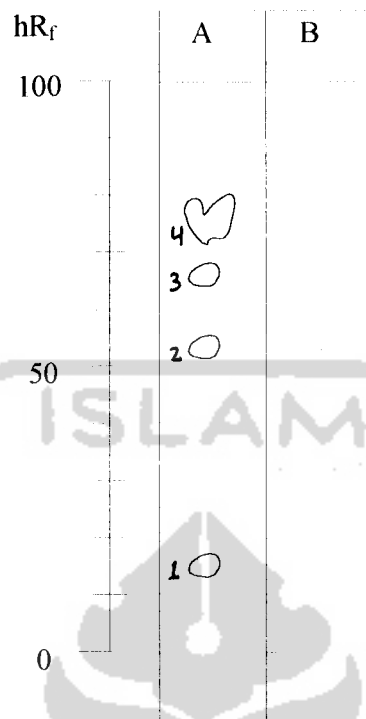
Tabel VI. Harga hR_f hasil KLT untuk deteksi flavonoid dengan sitroborat.

Ekstrak	No	UV 366 nm	
		hR_f	warna
PE	1	40	fluoresensi kuning
	2	60	fluoresensi kuning
etanol	1	50	coklat gelap

3. Glikosida jantung.

Hasil kromatogram untuk deteksi glikosida jantung dilakukan dengan pereaksi semprot $SbCl_3$ dan pada kromatogram akan memberikan warna bercak merah sampai ungu yang dilihat pada sinar tampak yang menunjukkan senyawa turunan triterpenoid (Wagner, *et al.*, 1984).

Pada ekstrak PE terdapat 4 bercak yang muncul setelah disemprot dengan $SbCl_3$. Masing-masing bercak berwarna ungu merah pada hR_f 16, 57 dan 77 serta berwarna ungu pada hR_f 53. Warna tersebut muncul setelah plat dipanaskan pada suhu $110^\circ C$ selama 5-10 menit. Hal ini menunjukkan didalam ekstrak PE terdapat senyawa glikosida jantung yang merupakan turunan triterpenoid. Sedangkan pada ekstrak etanol tidak terlihat adanya perubahan warna bercak sesudah disemprot dengan $SbCl_3$ sehingga kemungkinan senyawa glikosida jantung tidak terdapat dalam ekstrak etanol. Hasil KLT untuk deteksi senyawa glikosida dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel VII.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2)
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1)

Gambar 5. Kromatogram deteksi adanya senyawa glikosida jantung dengan SbCl_3 .

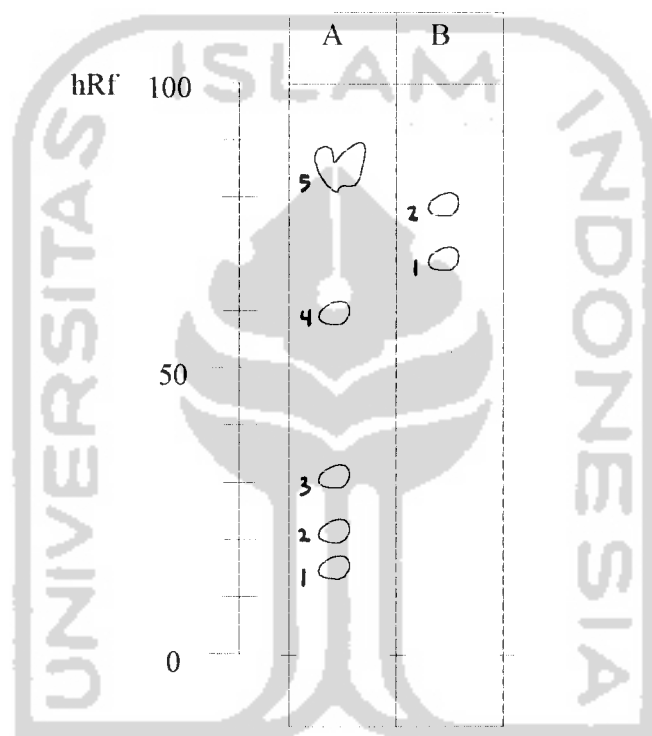
Tabel VII. Harga hR_f hasil KLT untuk deteksi glikosida jantung dengan SbCl_3 .

ekstrak	no	sinar tampak	
		hR_f	warna
PE	1	16	ungu merah
	2	53	ungu
	3	57	ungu merah
	4	77	ungu merah
etanol	-	-	-

4. Terpenoid

Terpenoid dalam ekstrak tumbuhan dapat dideteksi dengan berbagai pereaksi baik yang umum maupun spesifik. Pereaksi umum untuk deteksi terpenoid misalnya dengan vanilin-asam sulfat yang akan menimbulkan berbagai

macam warna dari ungu sampai coklat pada sinar tampak. Setelah disemprot dengan pereaksi semprot vanilin asam sulfat, lempeng kromatogram dipanaskan dahulu pada suhu 110°C selama 5-10 menit. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan warna dengan intensitas maksimal. Hasil KLT untuk deteksi terpenoid dapat dilihat pada gambar 6 dan tabel VIII.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2)
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1)

Gambar 6. Kromatogram deteksi adanya terpenoid dengan vanilin-asam sulfat.

Tabel VIII. Harga hR_f hasil KLT untuk deteksi terpenoid dengan vanilin-asam sulfat

Ekstrak	No	Sinar tampak	
		hR_f	warna
PE	1	14	ungu
	2	22	ungu merah
	3	31	ungu
	4	62	ungu
	5	84	ungu
etanol	1	69	ungu
	2	75	ungu

Dari hasil KLT dapat diketahui bahwa ekstrak PE dan etanol terdapat senyawa terpenoid. Ekstrak PE mengandung terpenoid dari hR_f 14, hR_f 31, hR_f 62 dan hR_f 84 yang berwarna ungu dan hR_f 22 yang berwarna ungu kemerahan. Sedangkan pada ekstrak etanol juga terdapat terpenoid dari hR_f 75 dan hR_f 69 yang berwarna ungu. Terpenoid mengandung komponen yang mudah menguap dan tidak mudah menguap sehingga setelah disemprot harus segera dicatat hR_f masing-masing bercak.

F. Hasil Pengamatan Uji KLT-Bioautografi

Uji bioautografi hanya dilakukan pada ekstrak PE dan etanol dengan bakteri uji yaitu *S. aureus*, karena ekstrak ini memberikan zona hambatan yang sifatnya radikal terhadap bakteri *S. aureus*. Untuk ekstrak yang tidak mempunyai aktivitas antibakteri pada uji pendahuluan tidak dilakukan karena tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji.

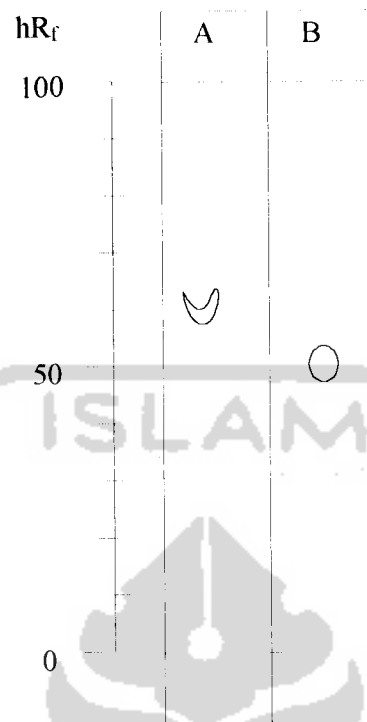
Pada uji bioautografi, sampel haruslah mempunyai aktivitas antibakteri yang besar, karena pada saat dikembangkan pada fase gerak akan terjadi pemisahan senyawa sehingga konsentrasi senyawa pada plat akan semakin kecil. Oleh sebab itu pula suspensi pula volume suspensi bakteri dan media yang

digunakan untuk uji bioautografi lebih kecil dibandingkan dengan yang digunakan untuk uji pendahuluan difusi sumuran. Semakin tebal media yang digunakan maka semakin jauh pula senyawa harus berdifusi, selain itu semakin besar jumlah bakteri maka semakin tinggi konsentrasi senyawa yang dibutuhkan untuk membunuhnya. Atas pertimbangan tersebut maka volume suspensi bakteri dan jumlah media yang digunakan diturunkan dan untuk uji bioautografi menggunakan media sebanyak 15 ml dan suspensi bakteri 150 μ l.

Penotolan larutan uji pada lempeng bioautografi tidak ditentukan pada kadar tertentu karena hanya merupakan uji kualitatif. Penotolan sampel yang berlebihan dapat mengakibatkan terjadinya *tailing* (bercak berekor) dan tidak terjadi pemisahan bercak yang baik sehingga sulit pula menentukan golongan senyawa aktifnya.

Hasil kromatogram yang telah dielusi pada metode KLT dideteksi dibawah sinar UV, kemudian di uji dengan bioautografi dengan menempelkan lempeng kromatografi tersebut pada media agar yang mengandung suspensi bakteri *S. aureus* dan ditempelkan selama 30 menit lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C.

Hasil uji bioautografi menunjukkan adanya zona jernih pada media untuk baik pada ekstrak PE maupun ekstrak etanol. Hasil uji bioautografi tersebut dapat dilihat pada gambar 7.



keterangan: fase diam : silika gel GF₂₅₄
 fase gerak : A ekstrak PE dengan heksana-etil asetat (3:2)
 B ekstrak etanol dengan kloroform-metanol (3:1)

Gambar 7. Kromatogram hasil uji bioautografi ekstrak PE dan etanol terhadap bakteri *S. aureus*

Pada media terdapat zona jernih dengan nilai hR_f 62 pada ekstrak PE dan hR_f 50 pada ekstrak etanol. Untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut maka dilakukan deteksi. Deteksi dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm pada ekstrak PE bercak tidak tampak, sedangkan pada ekstrak etanol bercak mengalami pemataman pada UV 254 nm dan pada UV 366 nm bercak berwarna coklat gelap. Pada ekstrak PE setelah disemprot dengan pereaksi vanilin-asam sulfat muncul bercak warna ungu pada hR_f 62, sedangkan pada ekstrak etanol setelah disemprot dengan pereaksi Sitroborat pada hR_f 50 berwarna coklat gelap yang stabil dan mempunyai intensitas warna yang kuat. Senyawa

terpenoid dapat dideteksi dengan pereaksi semprot vanilin-asam sulfat akan tampak bercak yang berwarna merah, coklat, ungu, jingga merah ungu, biru jingga, biru ungu atau abu-abu hingga biru (Wagner *et al*, 1984). Markham (1988) menyebutkan bahwa flavonoid golongan flavon atau flavonol akan berflouresensi kuning, hijau, coklat gelap atau hijau kekuningan pada UV 366 nm dengan perbedaan substituen pada posisi C-5 dan perbedaan substituen pada posisi C-3 pada flavonol. Maka senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri tersebut adalah senyawa golongan terpenoid pada ekstrak PE dan senyawa golongan flavonoid pada ekstrak etanol. Mekanisme senyawa terpenoid sebagai antibakteri belum diketahui secara pasti sedangkan mekanisme senyawa golongan flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan terjadinya koagulasi (Wilson and Gisvold, 1954).

Hasil penelitian ini mendukung penggunaan rimpang teki sebagai antibakteri yang selama ini digunakan untuk obat tradisional yaitu diantaranya mengobati gatal-gatal dikulit, bisul dan keputihan. Hal ini dapat memberi harapan untuk memanfaatkan tumbuhan teki lebih lanjut sebagai obat penyakit infeksi dan juga sebagai antiseptik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cara sumuran, ekstrak PE dan etanol dari rimpang teki memberikan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, sedangkan pada bakteri *E. coli* ketiga ekstrak tidak memberikan aktivitas.
2. Ekstrak dari rimpang teki yang diuji menggunakan KLT-bioautografi adalah ekstrak yang memberikan aktivitas antibakteri yaitu ekstrak PE dan etanol pada *S. aureus*.
3. Hasil uji bioautografi ekstrak PE dan etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Senyawa yang di duga mempunyai aktivitas antibakteri adalah senyawa golongan terpenoid pada ekstrak PE dan senyawa golongan flavonoid pada ekstrak etanol.

B. Saran

Setelah mengamati hasil penelitian terhadap rimpang teki dapat diajukan saran sebagai berikut:

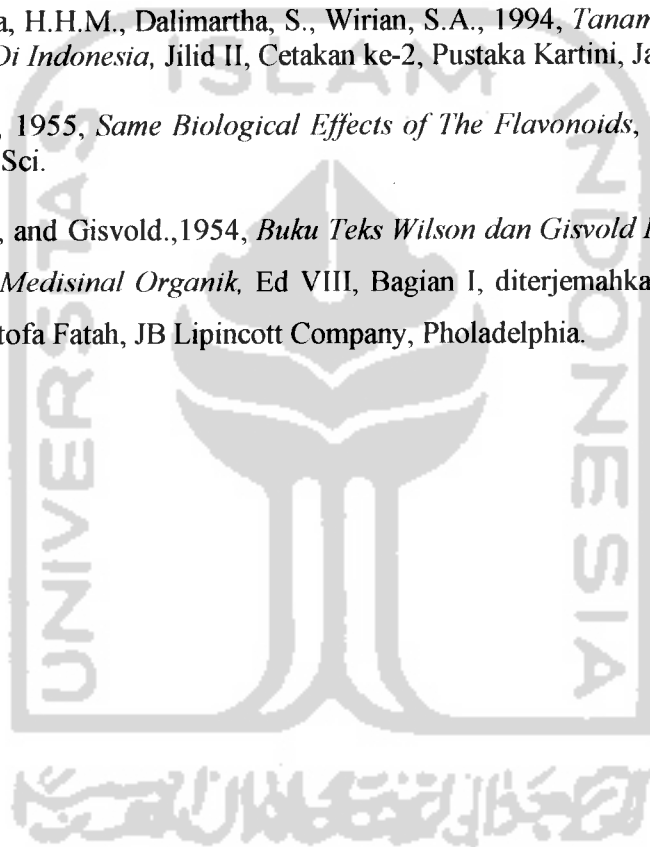
1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi dan identifikasi senyawa dari rimpang teki yang berkhasiat sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukannya uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi untuk mengetahui kadar hambat minimal.
3. Perlu dilakukan penelitian aktivitas biologi lain misalnya antijamur terhadap rimpang teki.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 1980, *Indeks Tanaman Obat Indonesia*, terjemahan Medical Herb Index Indonesia, PT. Eisai, Indonesia.
- Anonim, 1980, *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia., Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Anonim, 1993, *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, UGM, Yogyakarta.
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, alih bahasa Farida Ibrahim, Edisi IV, UI Press, Jakarta.
- Backer, C.A., and Van den Brink, R.C.B., 1965, *Flora of Java*, Vol I, Wolters Noordhoff N.V.P., Groningen, Netherlands.
- Claus, E.P., Tyler, V.E., and Brady, L.R., 1970, *Pharmacognosy*, 4 th Edition, Lea and Febiger, Phyladelphia.
- Geissman, T.A., 1962, *The Chemistry of Flavonoid Compound*, The Mac Millan Company, New York.
- Goodwin, T.W., 1976, *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment*, 2 nd Ed, Academic Press, New York.
- Harborne, J.B and Mabry, T. J., 1970, *The Flavonoids*, Chapman and Hall, London.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasi Padmawinata dan Iwang Soedira, Edisi II, ITB, Bandung.
- Iravati, S., 2000, *Uji Kepekaan Kuman*, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum, UGM, Yogyakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 1986, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* diterjemahkan oleh Tonang, H., Editor Bonang, G., Edisi 16, EGC, Jakarta.
- Jutono, 1972, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian, Cetakan 11, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

- Mabry T. J, Markham K. R, and Thomas M. B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoid*, Springer Verleag Berlin, Heidelberg, New York.
- Manitto, P.S., 1981, *Biosintesis Produk Alam*, diterjemahkan oleh Koensoemardiyah, IKIP, Semarang.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E.C.S., 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Ratna Sri Hadioetomo, Jilid II, UI Press, Jakarta.
- Pulle A. A., 1952, *Compedium Van de Terminologie Nomenclatur en Systematiek der Zaad Planten*. 3 e Druk N. V. A Oosthoek's Uitgever Maatschappy, Utrecht.
- Pyatkin, K., 1967, *Microbiology*, MIR Publisher, Moscow.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasi Padmawinata, Edisi IV, ITB, Bandung.
- Salle A.J., *Fundamental Principles of Bacteriology*, 5 th Edition, Mc Graw Hill Book Company Inc, New York.
- Stahl E, 1969, *Thin Layer Chromatography*, 2 nd Edition, Toppan Company Limited, Tokyo, Japan.
- Sumarno, 1978, *Analisa Instrumen*, laboratorium Kimia Farmasi, Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Trease, G.E., and Evans, W.C., 1978, *Pharmacognosy*, 11 th Ed, Bailliere Tindall, London.
- Trevor, R., 1983, *The Organic Constituens of Higher Plants, Their Chemistry and Interrelationship*, 5 th Ed, Departement of Biochemistry University of Massachusents, Amherst.
- Tyler, V. E., Brady, L. R., Robbers, J. E., 1988, *Pharmacognosy*, 9th Edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- van Steenis, C.G.G.J., 1975, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia* , alih bahasa Surjowinoto, Pradnya Paramita, Jakarta.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani, N. S., UGM Press, Yogyakarta.

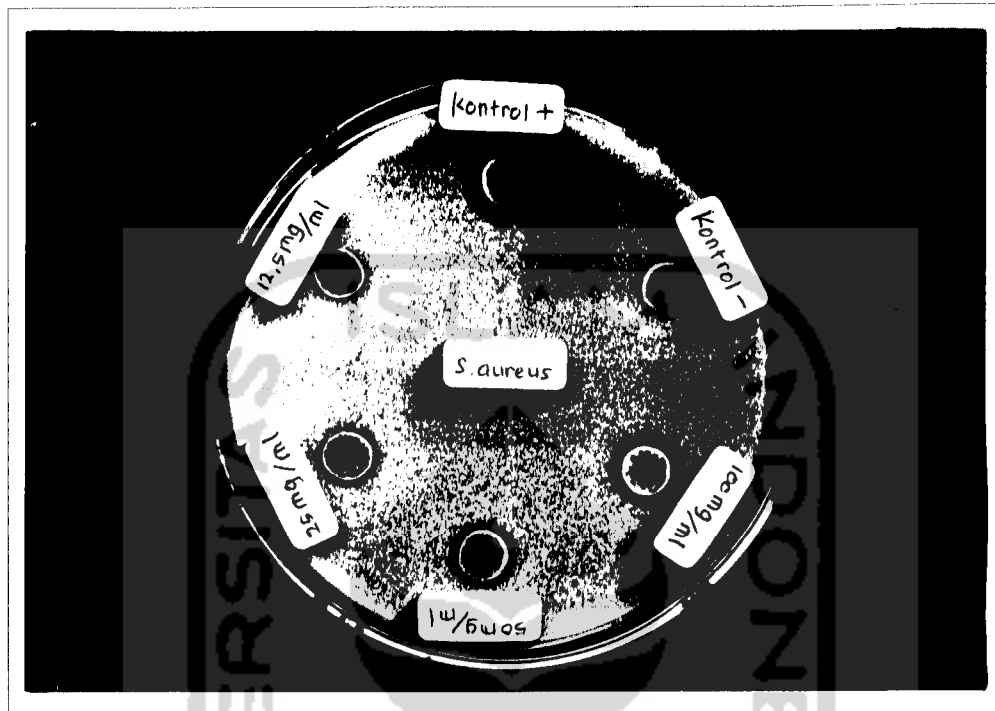
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F., 1990, *Mikrobiologi Dasar*, diterjemahkan oleh Markham, K.R., Edisi V, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Wagman, G. H., and Weinstein, M. J., 1973, *Chromatography of Antibiotics*, Journal of Chromatography, Elsvier Scientific Publishing Company, New York.
- Wagner, H., Badt, S., Zgainski, E.N. 1984. *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatographi Atlas*, Transled by Schoot, Springer Verlag, Tokyo.
- Wijayakusuma, H.H.M., Dalimartha, S., Wirian, S.A., 1994, *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*, Jilid II, Cetakan ke-2, Pustaka Kartini, Jakarta.
- Willaman J.J., 1955, *Same Biological Effects of The Flavonoids*, J. Am. Pharm. Assoc Sci.
- Wilson, C.,O., and Gisvold.,1954, *Buku Teks Wilson dan Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*, Ed VIII, Bagian I, diterjemahkan oleh Ahmad Mustofa Fatah, JB Lipincott Company, Pholadelphia.



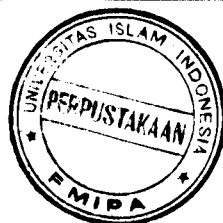
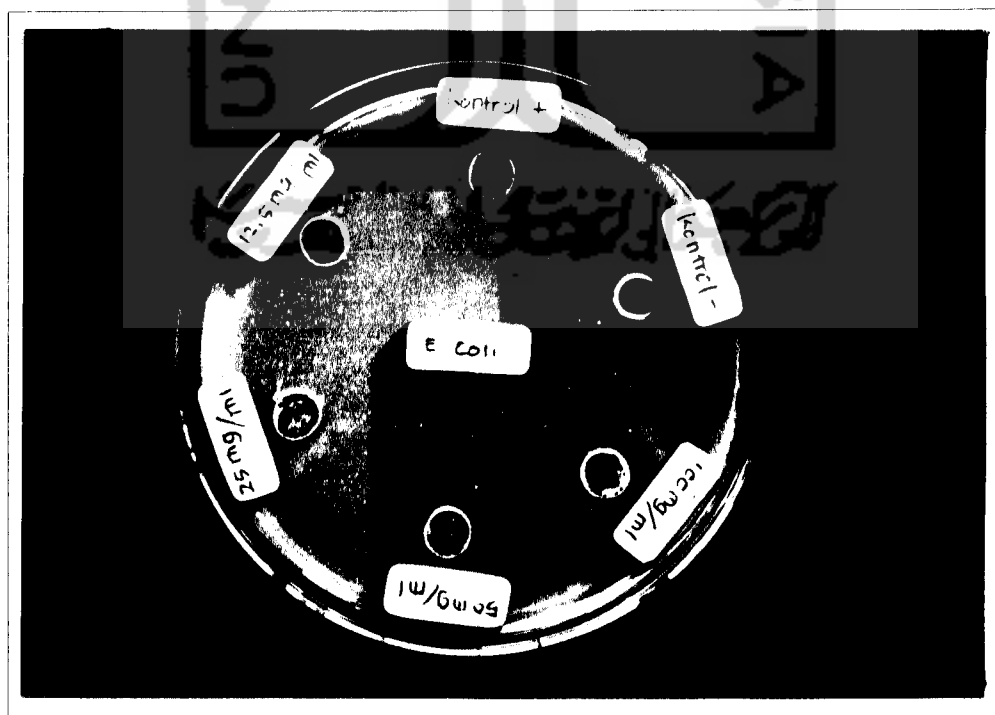
Lampiran 1. Foto tumbuhan teki (*Cyperus rotundus* L.)



Lampiran 2. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak PE terhadap bakteri
S. aureus



Lampiran 3. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak PE terhadap bakteri
E. coli



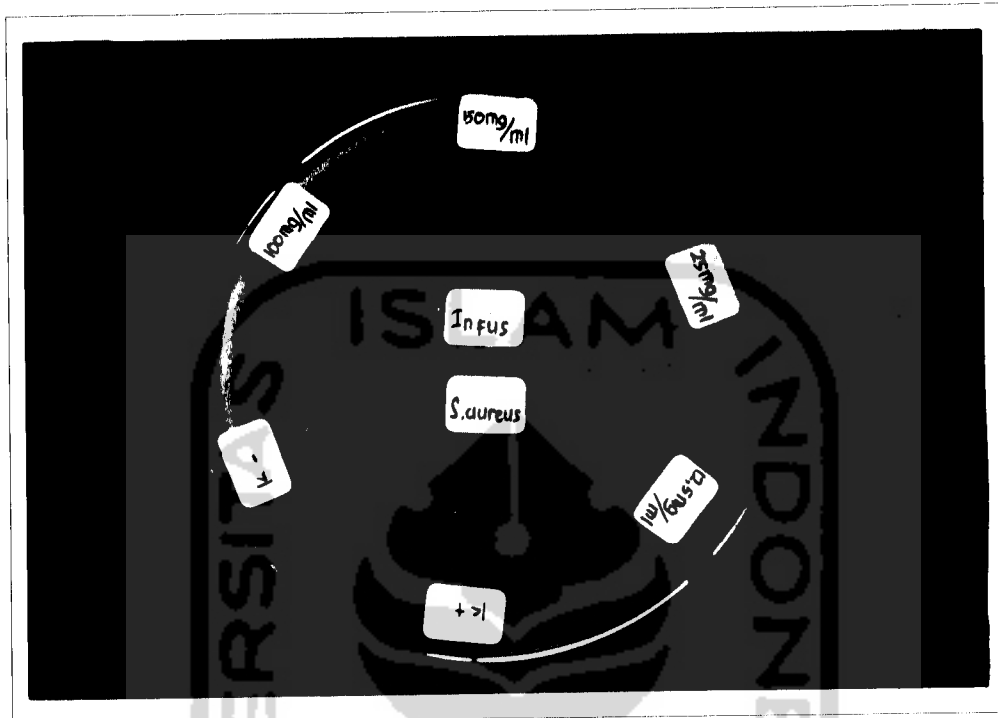
Lampiran 4. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap bakteri
S. aureus



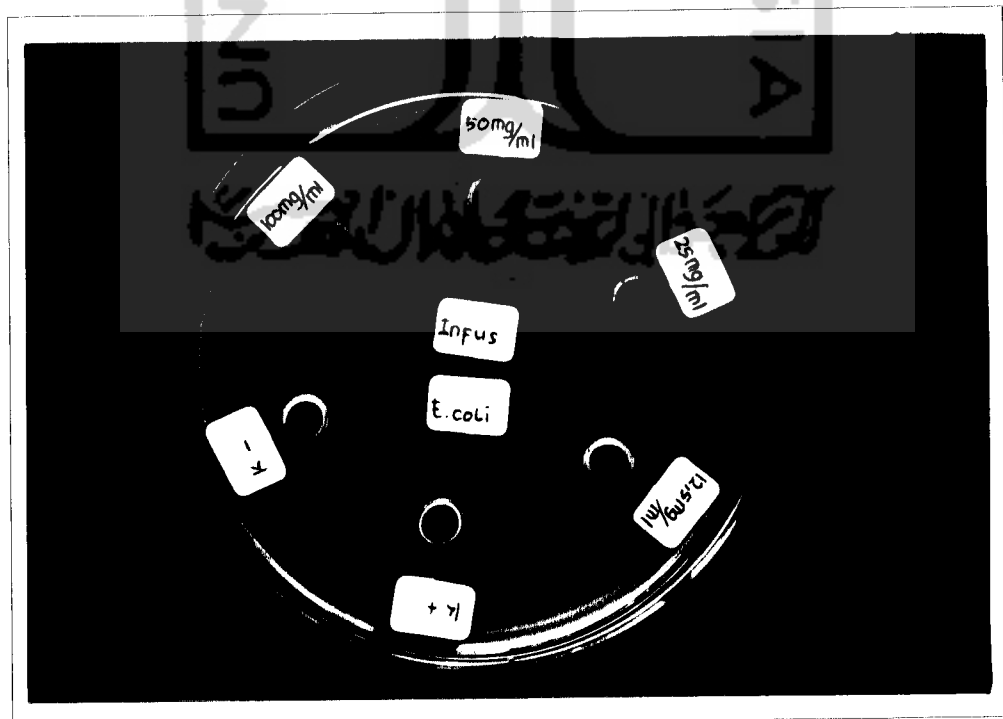
Lampiran 5. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap bakteri
E. coli



Lampiran 6. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak air terhadap bakteri
S. aureus



Lampiran 7. Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak air terhadap bakteri
E. coli



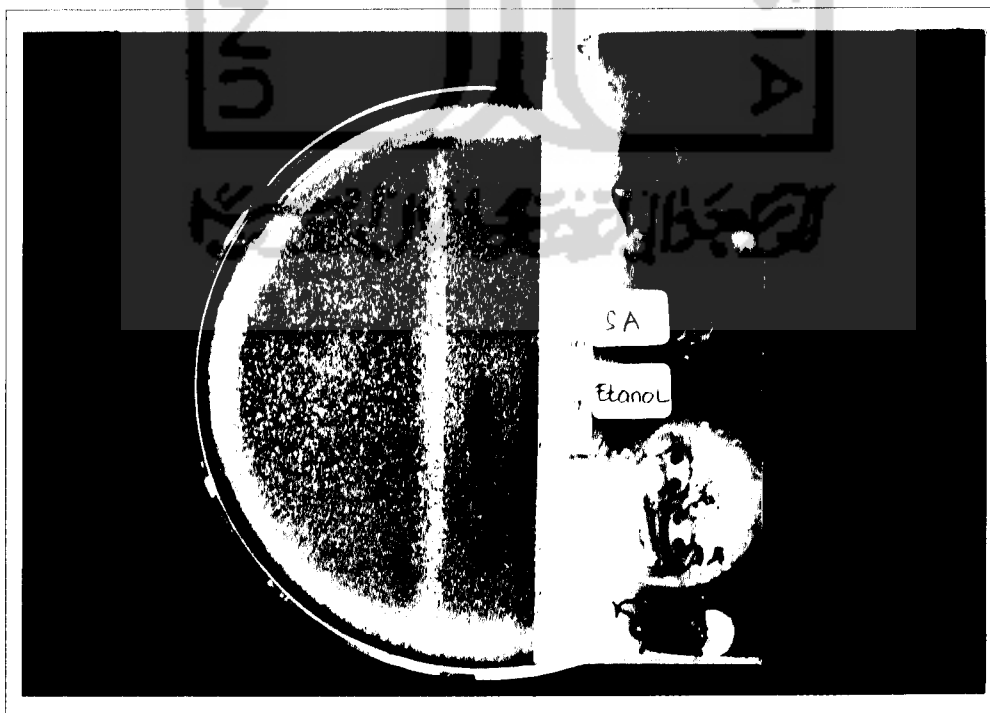
Lampiran 8. Foto hasil uji bioautografi ekstrak PE terhadap bakteri

S. aureus

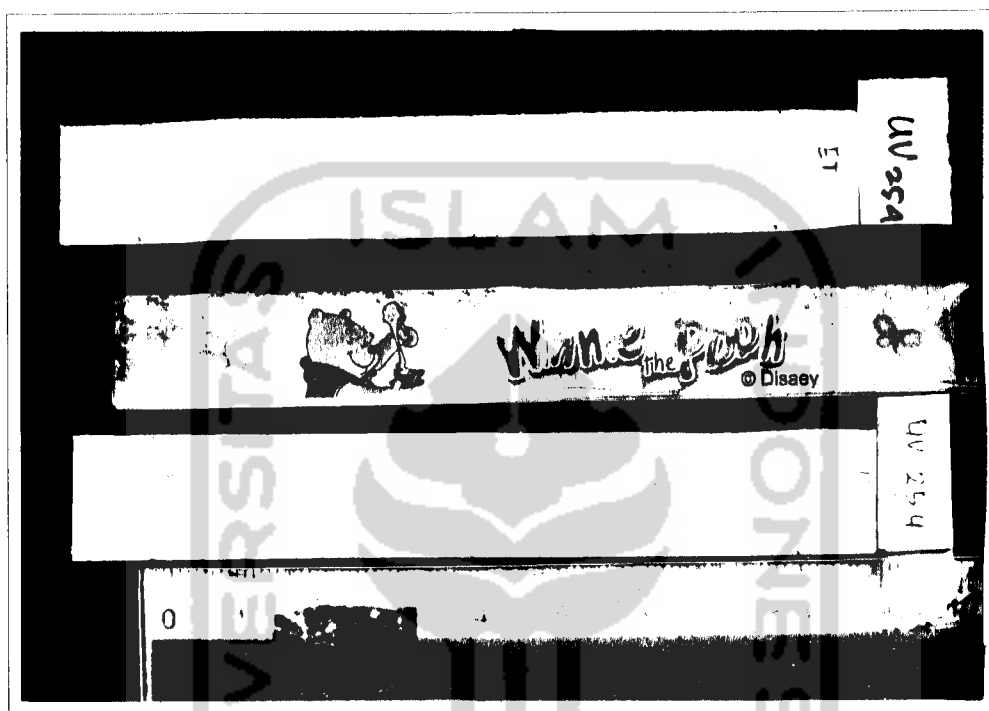


Lampiran 9. Foto hasil uji bioautografi ekstrak etanol terhadap bakteri

S. aureus



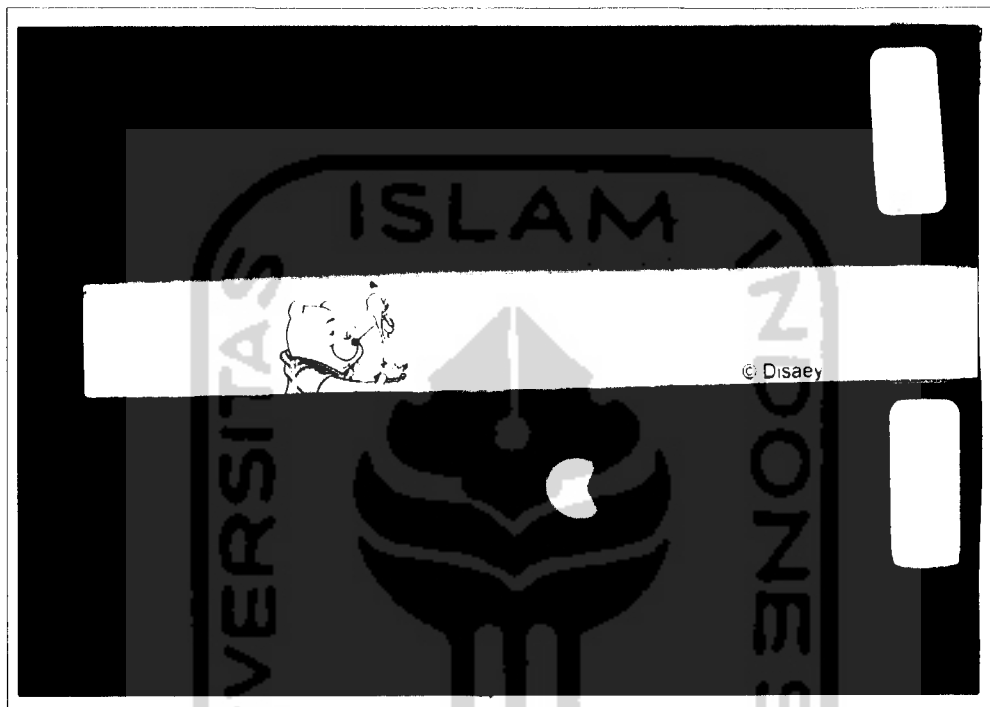
Lampiran 10. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol dilihat dengan sinar UV 254 nm



Fase diam : silika gel GF 254
Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)

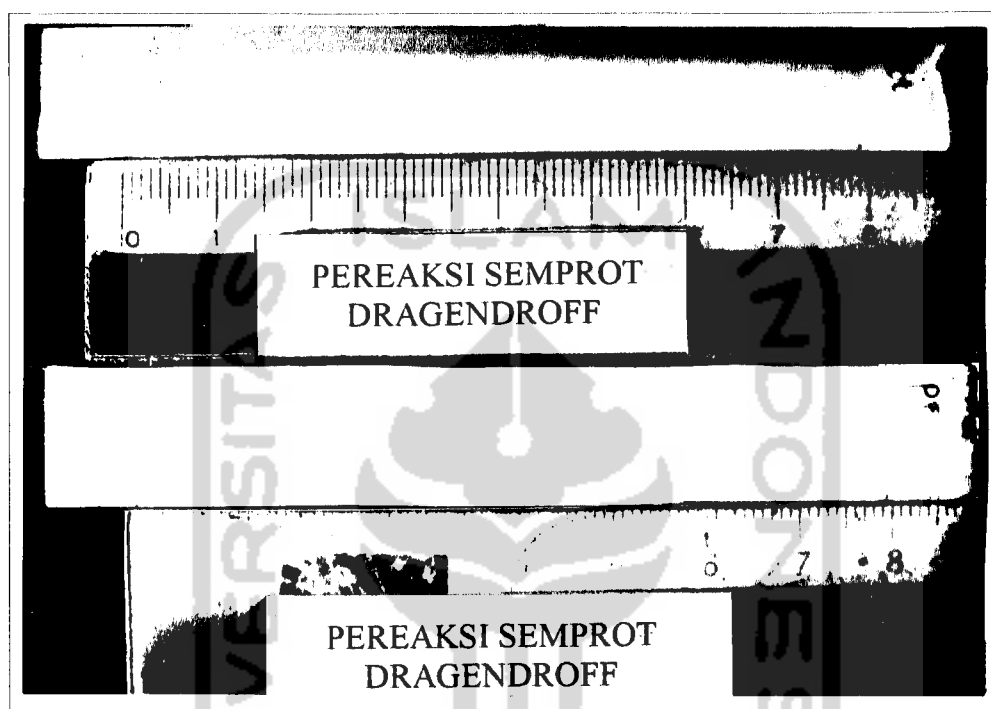


Lampiran 11. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol dilihat dengan sinar UV 366 nm



Fase diam : silika gel GF 254
Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)

Lampiran 12. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa alkaloid.



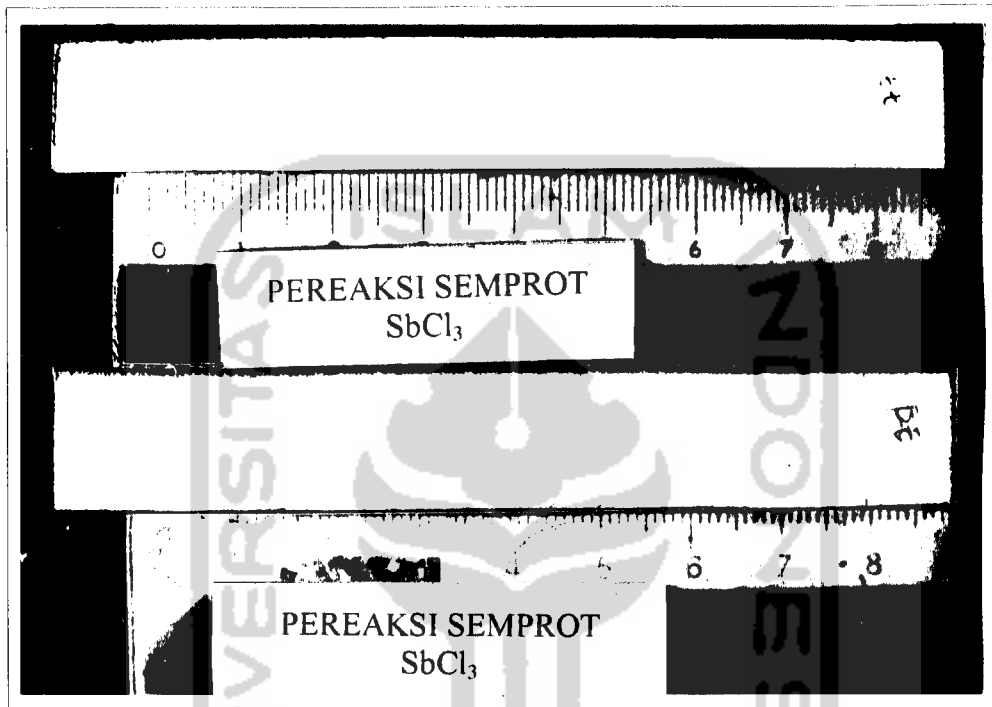
Fase diam : silika gel GF 254
Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
 : ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)
Pereaksi semprot : Dragendorff
Deteksi : sinar tampak

Lampiran 13. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa terpenoid.



Fase diam : silika gel GF 254
 Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
 : ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)
 Pereaksi semprot : vanilin-asam sulfat
 Deteksi : sinar tampak

Lampiran 14. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa glikosida jantung.



Fase diam : silika gel GF 254
 Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
 : ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)
 Pereaksi semprom : SbCl_3
 Deteksi : sinar tampak

Lampiran 15. Foto kromatogram hasil KLT ekstrak PE dan etanol deteksi terhadap adanya senyawa flavonoid.



Fase diam : silika gel GF 254
Fase gerak : ekstrak PE heksana-etil asetat (3:2)
 : ekstrak etanol kloroform-metanol (3:1)
Pereaksi semprot : sirtoborat
Deteksi : UV 366 nm

Lampiran 16. Pembuatan standar Mc Farland II dan pereaksi semprot.

1. Standar Mc Farland II

Larutan BaSO_4 dibuat dengan 0,5 larutan 1,175% $\text{BaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pada 99,5 ml H_2SO_4 0,36 N (1%). Simpan ditempat dingin dan gelap, dapat digunakan selama 6 bulan.

2. Pereaksi semprot Sitroborat

Untuk pembuatan 100 cc pereaksi sitroborat, asam sitrat dan asam borat masing-masing sebanyak 5 gr ditambah dengan alkohol sampai dengan 100 cc.

3. Pereaksi semprot Dragendroff

2,6 gr Bismuth subkarbonat ditambah dengan 7 gr Na Iodida dan tambah 25 cc asam asetat glasial, didiamkan selama 12 jam lalu ditimbang filtratnya, kemudian tambah air sebanyak 0,5 cc dan etil asetat sampai volume 100 cc.

4. Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat

Larutan asam sulfat 5% dalam etanol dan larutan vanilin 2% dalam etanol.

5. Pereaksi semprot SbCl_3

Larutan antimon (III) klorida 20% dalam kloroform.

Lampiran 17. Hasil anava satu arah ekstrak PE terhadap *S. aureus*.

Oneway

Descriptives

ZONA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K +	3	15.2567	.4007	.2313	14.2614	16.2520	14.87	15.67
K -	3	8.0000	.0000	.0000	8.0000	8.0000	8.00	8.00
100	3	10.1000	.1114	5.429E-02	9.8234	10.3766	9.98	10.20
50	3	9.2967	.4576	.2642	8.1598	10.4335	8.87	9.78
25	3	8.5333	.2684	.1550	7.8666	9.2001	8.23	8.74
12.5	3	8.0000	.0000	.0000	8.0000	8.0000	8.00	8.00
Total	18	9.8644	2.6059	.6142	8.5686	11.1603	8.00	15.67

Test of Homogeneity of Variances

ZONA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.099	5	12	.050

ANOVA

ZONA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	114.534	5	22.907	302.467	.000
Within Groups	.909	12	7.573E-02		
Total	115.443	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZONA

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K +	K -	7.2567*	.2247	.000	6.5019	8.0114
	100	5.1567*	.2247	.000	4.4019	5.9114
	50	5.9600*	.2247	.000	5.2052	6.7148
	25	6.7233*	.2247	.000	5.9686	7.4781
	12.5	7.2567*	.2247	.000	6.5019	8.0114
K -	K +	-7.2567*	.2247	.000	-8.0114	-6.5019
	100	-2.1000*	.2247	.000	-2.8548	-1.3452
	50	-1.2967*	.2247	.001	-2.0514	-.5419
	25	-.5333	.2247	.239	-1.2881	.2214
	12.5	.0000	.2247	1.000	-.7548	.7548
100	K +	-5.1567*	.2247	.000	-5.9114	-4.4019
	K -	2.1000*	.2247	.000	1.3452	2.8548
	50	.8033*	.2247	.035	4.858E-02	1.5581
	25	1.5667*	.2247	.000	.8119	2.3214
	12.5	2.1000*	.2247	.000	1.3452	2.8548
50	K +	-5.9600*	.2247	.000	-6.7148	-5.2052
	K -	1.2967*	.2247	.001	.5419	2.0514
	100	-.8033*	.2247	.035	-1.5581	-4.8583E-02
	25	.7633*	.2247	.047	8.583E-03	1.5181
	12.5	1.2967*	.2247	.001	.5419	2.0514
25	K +	-6.7233*	.2247	.000	-7.4781	-5.9686
	K -	.5333	.2247	.239	-.2214	1.2881
	100	-1.5667*	.2247	.000	-2.3214	-.8119
	50	-.7633*	.2247	.047	-1.5181	-8.5825E-03
	12.5	.5333	.2247	.239	-.2214	1.2881
12.5	K +	-7.2567*	.2247	.000	-8.0114	-6.5019
	K -	.0000	.2247	1.000	-.7548	.7548
	100	-2.1000*	.2247	.000	-2.8548	-1.3452
	50	-1.2967*	.2247	.001	-2.0514	-.5419
	25	-.5333	.2247	.239	-1.2881	.2214

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

Homogeneous Subsets

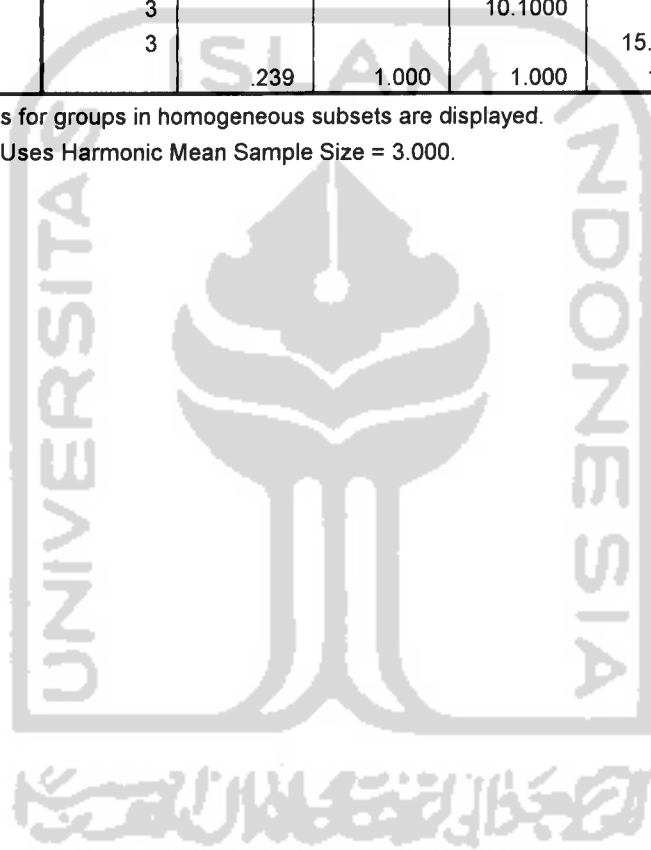
ZONA

Tukey HSD^a

KADAR	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
K -	3	8.0000			
12.5	3	8.0000			
25	3	8.5333			
50	3		9.2967		
100	3			10.1000	
K +	3				15.2567
Sig.		.239	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



Lampiran 18. Hasil anava satu arah ekstrak etanol terhadap *S. aureus*.

Oneway

Descriptives

ZONA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K+	3	14.8667	.1102	6.360E-02	14.5930	15.1403	14.76	14.98
K-	3	8.0000	.0000	.0000	8.0000	8.0000	8.00	8.00
100	3	10.8133	.3868	.2233	9.8524	11.7743	10.59	11.26
50	3	9.7867	.2775	.1602	9.0972	10.4761	9.49	10.04
25	3	8.9167	.2335	.1348	8.3366	9.4968	8.71	9.17
12.5	3	8.1167	2.517E-02	1.453E-02	8.0542	8.1792	8.09	8.14
Total	18	10.0833	2.4229	.5711	8.8784	11.2882	8.00	14.98

Test of Homogeneity of Variances

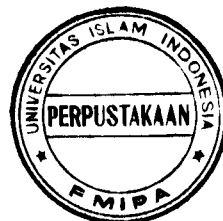
ZONA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.753	5	12	.013

ANOVA

ZONA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	99.211	5	19.842	404.989	.000
Within Groups	.588	12	4.899E-02		
Total	99.799	17			



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZONA

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K+	K-	6.8667*	.1807	.000	6.2596	7.4737
	100	4.0533*	.1807	.000	3.4463	4.6604
	50	5.0800*	.1807	.000	4.4729	5.6871
	25	5.9500*	.1807	.000	5.3429	6.5571
	12.5	6.7500*	.1807	.000	6.1429	7.3571
K-	K+	-6.8667*	.1807	.000	-7.4737	-6.2596
	100	-2.8133*	.1807	.000	-3.4204	-2.2063
	50	-1.7867*	.1807	.000	-2.3937	-1.1796
	25	-.9167*	.1807	.003	-1.5237	-.3096
	12.5	-.1167	.1807	.985	-.7237	.4904
100	K+	-4.0533*	.1807	.000	-4.6604	-3.4463
	K-	2.8133*	.1807	.000	2.2063	3.4204
	50	1.0267*	.1807	.001	.4196	1.6337
	25	1.8967*	.1807	.000	1.2896	2.5037
	12.5	2.6967*	.1807	.000	2.0896	3.3037
50	K+	-5.0800*	.1807	.000	-5.6871	-4.4729
	K-	1.7867*	.1807	.000	1.1796	2.3937
	100	-1.0267*	.1807	.001	-1.6337	-.4196
	25	.8700*	.1807	.004	.2629	1.4771
	12.5	1.6700*	.1807	.000	1.0629	2.2771
25	K+	-5.9500*	.1807	.000	-6.5571	-5.3429
	K-	.9167*	.1807	.003	.3096	1.5237
	100	-1.8967*	.1807	.000	-2.5037	-1.2896
	50	-.8700*	.1807	.004	-1.4771	-.2629
	12.5	-.8000*	.1807	.008	-.1929	1.4071
12.5	K+	-6.7500*	.1807	.000	-7.3571	-6.1429
	K-	.1167	.1807	.985	-.4904	.7237
	100	-2.6967*	.1807	.000	-3.3037	-2.0896
	50	-1.6700*	.1807	.000	-2.2771	-1.0629
	25	-.8000*	.1807	.008	-1.4071	-.1929

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

Homogeneous Subsets

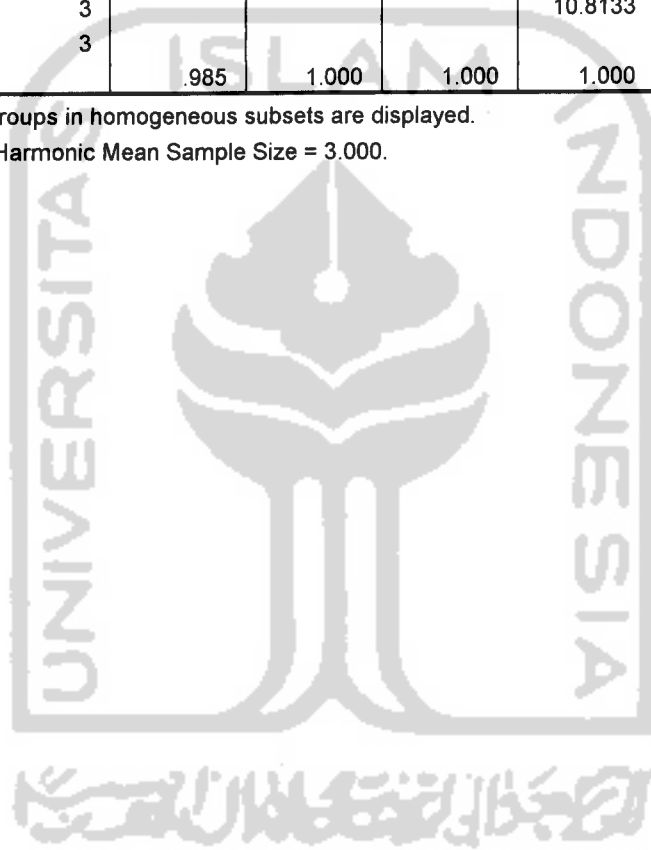
ZONA

Tukey HSD^a

KADAR	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
K-	3	8.0000				
12.5	3	8.1167				
25	3		8.9167			
50	3			9.7867		
100	3				10.8133	
K+	3					14.8667
Sig.		.985	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

=====
Alamat : Sekip Utara
Telpon : 542738

SURAT KETERANGAN

Nomor : UGM/FA/07/det/II/2003

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM menerangkan bahwa :

N a m a : Fadila Rahman
No.Mhs. : 99613087

telah mendeterminasikan 1 (satu) jenis tanaman di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

Tanaman tersebut :

Cyperus rotundus L.

Pada tanggal 17 Februari 2003

Surat keterangan ini dapat digunakan seperlunya.

Yogyakarta, 20 Februari 2003
Bagian Biologi Farmasi
Kepala


Dr. Subagus Wahyuono, Apt
NIP. 130604698