



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN GEMPOL (*Nauclea orientalis* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
Reny Diastri Noviriana
NIM 152210101098

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN GEMPOL (*Nauclea orientalis* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:
Reny Diastri Noviriana
NIM 152210101098

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Ayahanda Djasmin dan Ibunda Suwarti tercinta yang telah membesarkan dengan penuh kasih sayang, kesabaran, doa, dukungan serta bantuan beliau baik secara moril maupun spiritual sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
3. Kakak Eka Wahyu Oktariana, Kakak Dhina Novi Ariana tersayang, dan keluarga besar lainnya yang telah memberi kasih sayang, motivasi, serta doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi atas ilmu dan bimbingan yang diberikan dengan penuh kesabaran;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Wahai orang-orang yang beriman! Bersabarlah kamu dan kuatkanlah kesabaranmu dan tetaplah bersiap siaga (di perbatasan negerimu) dan bertakwalah kepada Allah agar kamu beruntung.”
(Terjemahan Surat *Ali ‘Imran* ayat 200)¹

“Dan (ingatlah juga), tatkala Tuhanmu memaklumkan; sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (nikmat) kepadamu, dan jika kami mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azab-Ku sangat pedih.”
(Terjemahan Surat *Ibrahim* ayat 7)¹

¹ Departemen Agama Republik Indonesia. 2012. *Al-Qur'an Dan Terjemahannya*. Bandung.: PT Cordoba Internasional Indonesia

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Reny Diastri Noviriana

NIM : 152210101098

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Juli 2019

Yang menyatakan,

(Reny Diastri Noviriana)

NIM 152210101098

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN GEMPOL (*Nauclea orientalis* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus***

Oleh:
Reny Diastri Noviriana
NIM 152210101098

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.
Dosen Pembimbing Anggota : Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*”

karya Reny Diastri Noviriana telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis, 18 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP. 198204062006042001

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP. 197604142002122001

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP. 198504282009121004

Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP. 198304282008122004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.

NIP. 197604142002122001

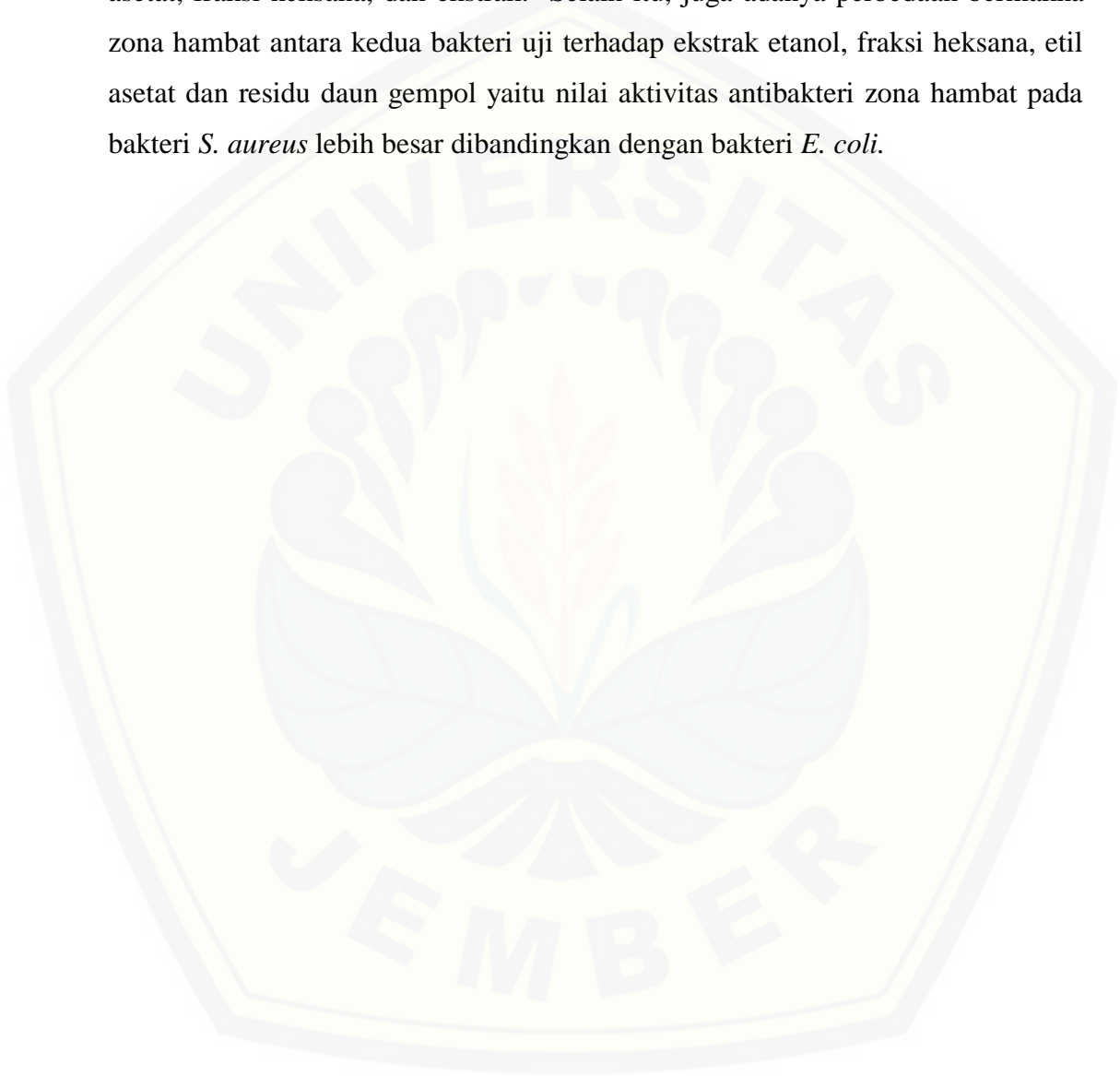
RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*: Reny Diastri Noviriana: 152210101098; 2019; 78 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang seperti Indonesia yaitu penyakit infeksi. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Staphylococcus aureus* (infeksi nosokomial, infeksi saluran cerna, dan infeksi kulit), *Escherichia coli* (diare, meningitis, dan pneumonia), *Klebsiella pneumoniae* (pneumonia), dan lainnya. Penggunaan tanaman herbal telah dipercaya secara turun menurun sehingga pemanfaatannya sebagai alternatif pengobatan dapat dijadikan referensi untuk pengembangan obat pada masa mendatang. Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan yaitu gempol (*Nauclea orientalis* L.) Secara empiris kulit kayu gempol digunakan untuk pereda nyeri, gigitan hewan, luka, dan antidiare. Daun gempol juga digunakan secara empiris sebagai penghilang rasa nyeri, obat racun dari ikan, dan obat bisul dengan cara dioleskan. Gempol memiliki beberapa aktivitas antara lain sebagai anthelmintik dan antibakteri.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode difusi cakram yang menghasilkan diameter zona hambat sebagai hasil dari uji aktivitas antibakteri. Kontrol positif yang digunakan yaitu cakram gentamisin 10 µg sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% dalam media. Larutan uji meliputi ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol dengan masing-masing konsentrasi 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5%.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat masing-masing dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak. Selain itu, juga adanya perbedaan bermakna zona hambat antara kedua bakteri uji terhadap ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat dan residu daun gempol yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat pada bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.



PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan karunia kehidupan sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini.
2. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
3. Bapak Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Antonius Nugraha Widhi Pratama, S.Farm., M.P.H., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa.
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini.
5. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini.
6. Ayahanda Djasmin, Ibunda Suwarti, Kakak Eka Wahyu Oktariana, Kakak Dhina Novi Ariana dan seluruh keluarga atas dukungan moril dan materil yang menjadi semangat bagi penulis menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Laboran Laboratorium Mikrobiologi Bu Widi dan Mbak Parka yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini.

8. Laboran Laboratorium Kimia Analisis Bu Wayan dan Mbak Hani yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini.
9. Kawan seperjuangan Ngelab skripsi sampe 24/7 bareng, Eka Ayu Amaliyah serta semua kawan skripsi di Kimia dan Biologi yang telah membantu dalam proses penyelesaian tugas akhir ini.
10. Sahabat-sahabatku *GirlsSquad* (Weka, Intan Alvi, Irsa, Eka) yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan serta dukungan yang tak pernah putus selama ini.
11. Sahabat-sahabatku *NimSquad* [Tinton (15-97), Nabila (15-99), Nita (15-100)] yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan serta dukungan yang tak pernah putus selama ini.
12. Keluarga besar LIBITUM yang telah memberikan dukungan serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Seluruh teman KKN kelompok 41 Gambiran (Eyis, Fanen, Mitty, Cici, Nana, Tsin, Awe, Rizal, Bu Erik) yang telah memberikan motivasi dan dukungan penuh selama penulis menyelesaikan skripsi ini.
14. Sahabat sedari SMA (Dian, Hesti, Fega, Ashri, Nesa) yang selalu memberi semangat, dan dukungan yang tak pernah putus selama ini.
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat menjadi tambahan wawasan pengetahuan dan bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Jember, 9 Juli 2019

Reny Diastri Noviriana

DAFTAR ISI

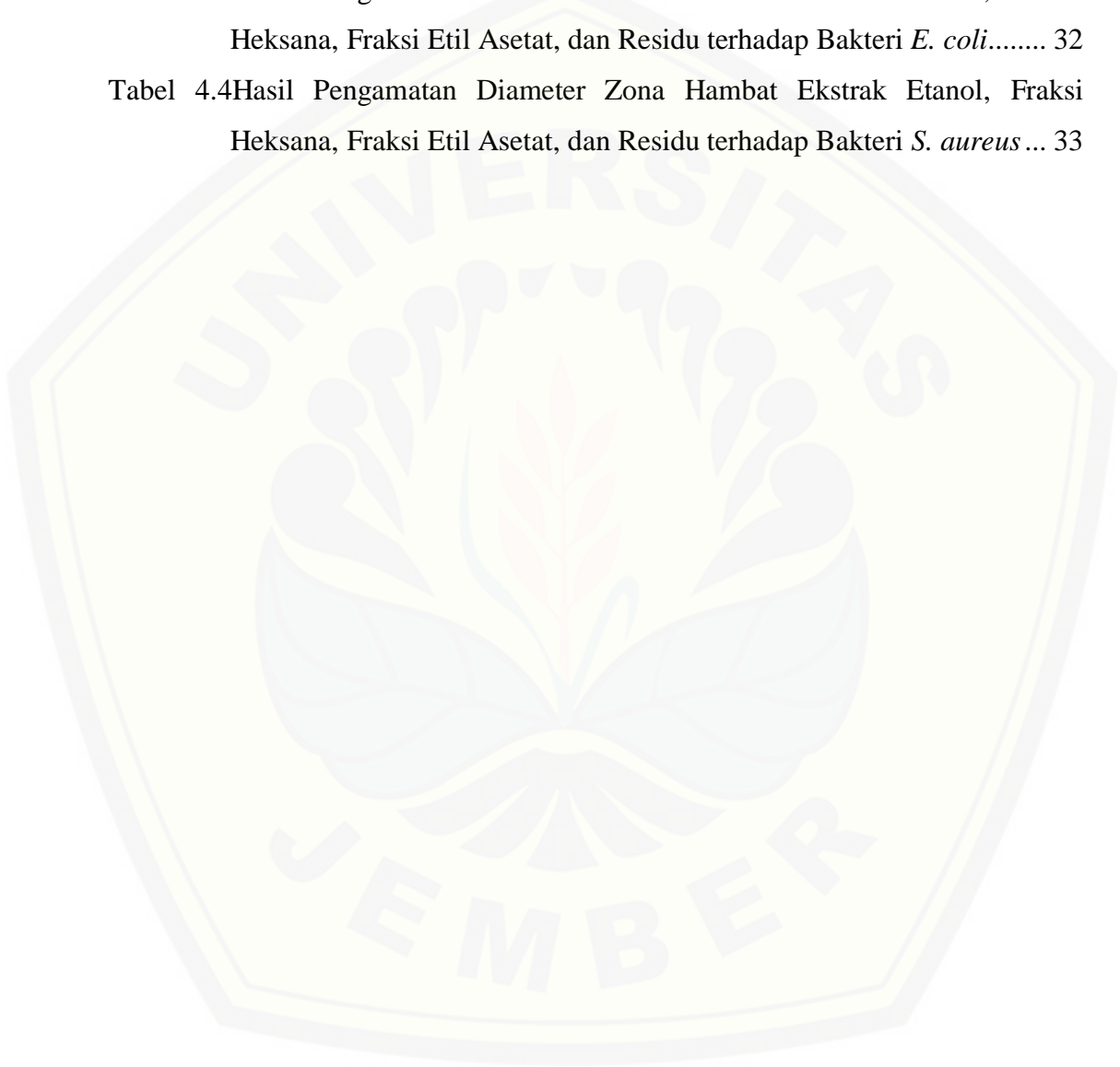
	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Infeksi Bakteri.....	5
2.2 Tinjauan Bakteri	5
2.2.1 <i>Escherichia coli</i>	5
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.3 Tinjauan tentang <i>Nauclea orientalis</i> L.	8
2.3.1 Sistem Klasifikasi	8
2.3.2 Deskripsi.....	8
2.3.3 Penelitian Terdahulu tentang <i>Nauclea orientalis</i> L.	9
2.4 Tinjauan tentang Metode Ekstraksi	10
2.4.1 Cara Dingin	10

2.4.2	Cara Panas	11
2.5	Tinjauan tentang Fraksinasi	12
2.6	Tinjauan Antibakteri	13
2.6.1	Metode Uji Antibakteri.....	13
2.7	Antibiotik Gentamisin	14
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	15
3.1	Jenis Penelitian	15
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3	Alat dan Bahan Penelitian	15
3.3.1	Alat	15
3.3.2	Bahan	15
3.4	Variabel Penelitian dan Variabel Operasional	16
3.4.1	Variabel Bebas.....	16
3.4.2	Variabel Terikat.....	16
3.4.3	Variabel Terkendali	16
3.5	Definisi Operasional	16
3.6	Rancangan Penelitian.....	17
3.6.1	Rancangan Penelitian	17
3.6.2	Skema Penelitian	18
3.7	Prosedur Penelitian	19
3.7.1	Pengumpulan Sampel dan Determinasi Tanaman	19
3.7.2	Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun	19
3.7.3	Ekstraksi dan Fraksinasi	19
3.7.4	Pembuatan Media NA dan MHA	21
3.7.5	Sterilisasi Alat dan Bahan	21
3.7.6	Peremajaan Biakan Bakteri	21
3.7.7	Pembuatan Larutan Uji.....	22
3.7.8	Pembuatan Suspensi Bakteri	22
3.8	Tahapan Pengujian	22
3.8.1	Skrining Fitokimia.....	22
3.8.2	Uji Aktivitas Antibakteri	24

3.8.3 Pengukuran Zona Hambat	25
3.9 Analisis Data	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Determinasi Tumbuhan	26
4.2 Pembuatan Simplisia	26
4.3 Ekstraksi dan Fraksinasi	27
4.4 Skrining Fitokimia.....	29
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri	30
4.6 Analisis Data	36
BAB 5. PENUTUP	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Sampel.....	28
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gempol....	29
Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Residu terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	32
Tabel 4.4 Hasil Pengamatan Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Residu terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> ...	33



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	6
Gambar 2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	7
Gambar 2.3 a) Pohon Gempol dan b) Bagian Daun Gempol	9
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian.....	18
Gambar 3.2 Skema Alur Fraksinasi Daun Gempol.....	20
Gambar 4.1 Bagian Daun Gempol	26
Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol (a), Fraksi Heksana (b), Fraksi Etil Asetat (c), dan Residu (d) terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S.</i> <i>aureus</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Lembar Determinasi.....	43
Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi.....	44
Lampiran 4.3 Skrining Fitokimia.....	45
Lampiran 4.4 Pembuatan Larutan Uji untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	49
Lampiran 4.5 Gambar Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Gempol Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	50
Lampiran 4.6 Hasil Pengujian Zona Hambat.....	51
Lampiran 4.7 Analisis Hasil Statistik.....	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang seperti Indonesia yaitu penyakit infeksi. Penyakit infeksi yang dahulu termasuk penyakit akut sekarang bisa menjadi penyakit kronik yang cukup membahayakan. Pada negara berkembang atau negara dengan penghasilan rendah sekitar 3,5 juta orang meninggal setiap tahunnya dikarenakan penyakit infeksi (WHO, 2014). Selain itu, menurut data WHO pada tahun 2016 menunjukkan bahwa penyakit infeksi menjadi penyebab terbesar anak usia 1 bulan sampai 4 tahun mengalami kematian yang dikarenakan penyakit infeksi pernapasan, malaria, dan diare (WHO, 2018).

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Helicobacter pylori* (infeksi saluran cerna), *Salmonella typhi* (tifus), *Staphylococcus aureus* (infeksi nosokomial, infeksi saluran cerna, dan infeksi kulit), *Eschericia coli* (diare, meningitis, dan pneumonia), *Vibrio cholerae* (penyakit kolera), *Klebsiella pneumoniae* (pneumonia), dan lainnya. Pada abad ke-20, diare, pneumonia, dan tuberkulosis adalah tiga penyebab utama kematian (Todar, 2008). Menurut Riset Kesehatan Dasar (2013) menyatakan bahwa Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) memiliki angka prevalensi 25% tertinggi di Indonesia. Prevalensi penyakit selanjutnya yaitu diare (7,0%), pneumonia (4,5%), hepatitis (1,2%), dan tuberkulosis (0,4%) serta infeksi semua itu umumnya disebabkan oleh bakteri.

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan penggunaan antibiotik. Jaman sekarang penggunaan antibiotik sering tidak tepat sehingga dapat menyebabkan resistensi bakteri. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari keanekaragaman tanaman yang ada di Indonesia (Nuria dkk., 2009).

Penggunaan tanaman herbal telah dipercaya secara turun menurun sehingga pemanfaatannya sebagai alternatif pengobatan dapat dijadikan referensi untuk pengembangan obat pada masa mendatang (Sharif dan Banik, 2006). Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan yaitu Gempol (*Nauclea orientalis* L.) yang termasuk famili *Rubiaceae* serta tumbuh di daerah tropis seperti Papua Nugini, *Queensland* (Australia) dan Indonesia. Penduduk desa di Provinsi Tengah Papua Nugini menggunakan kulit kayu *Nauclea orientalis* L. sebagai pereda nyeri untuk sakit perut, gigitan hewan, luka, dan antidiare. Daun *Nauclea orientalis* L. juga digunakan secara tradisional oleh suku Aborigin yang berada di pesisir Australia sebagai penghilang rasa nyeri, obat racun dari ikan, dan obat bisul dengan cara dioleskan (Erdelmeier dkk., 1990; Cruz dan Jubilo, 2014). Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya *Nauclea orientalis* L. memiliki beberapa aktivitas antara lain sebagai anthelmintik (Raghavamma dan Rao, 2010) dan antibakteri pada *Staphylococcus aureus* (ekstrak etanol cair daun *Nauclea orientalis* L.) (Cruz dan Jubilo, 2014). Skrining fitokimia dari ekstrak daun *Nauclea orientalis* L. didapatkan bahwa daun *Nauclea orientalis* L. memiliki kandungan antara lain alkaloid, tanin, dan glikosida saponin (Takayama dkk., 2005; Cruz dan Jubilo, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*”. Penelitian ini menggunakan daun gempol karena masih sedikit penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun gempol terutama pada ekstrak etanol dan fraksinya. Daun gempol juga masih belum banyak dimanfaatkan sedangkan ketersediaannya dilingkungan melimpah. Alasan lainnya yaitu bagian daun mudah untuk didapatkan dan jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan bagian tumbuhan yang lain serta regenerasi dari daun lebih cepat sehingga ketersediaannya dapat terjamin. Daun selanjutnya diekstraksi untuk didapatkan ekstrak kental. Pelarut yang digunakan untuk ekstrak yaitu etanol 96% karena merupakan pelarut *universal* yang bersifat polar dan mudah menguap serta etanol mampu mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut

organik lainnya (Poeloengan dkk., 2007). Fraksi pada penelitian ini menggunakan fraksi heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol-air sebagai residu (polar). Adapun digunakan 3 macam fraksi dengan perbedaan tingkat kepolaran dengan tujuan metabolit yang terdapat dalam ekstrak daun gempol dapat terpisah sesuai dengan kelarutannya mengikuti teori “*like dissolve like*” dimana senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama. Ekstrak dan fraksi yang didapatkan diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri ini dipilih karena merupakan dua bakteri dengan sifat yang berbeda yaitu gram negatif dan gram positif, sehingga dapat dilakukan skrining apakah daun gempol memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum luas. Alasan lainnya bakteri ini merupakan dua bakteri patogen yang memiliki potensi menyebabkan infeksi terhadap manusia. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi menggunakan cakram atau *disk*. Pengamatan dilakukan dengan pengukuran diameter zona hambat yang didapat dari pengujian pada mikroba. Pemilihan metode difusi didasarkan atas beberapa hal antara lain sederhana dan mudah dalam teknik pengerjaannya, hasil yang mudah ditafsirkan, dan efisien (Balouiri dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah yang diperoleh adalah :

1. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli*?
2. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *S. aureus*?
3. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus* terhadap ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah :

1. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah memberikan perbedaan yang bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli*.
2. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah memberikan perbedaan yang bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *S. aureus*.
3. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah memberikan perbedaan yang bermakna zona hambat antara bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus* terhadap ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan residu daun gempol (*Nauclea orientalis* L.)

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mempunyai manfaat sebagai berikut :

1. Hasil dari penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai potensi antibakteri daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan bahan informasi dalam penelitian lanjutan daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) sebagai pengembangan antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Infeksi Bakteri

Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh suatu mikroba patogen atau mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh manusia atau hewan. Mikroba patogen yang masuk ke dalam tubuh akan berkembang biak pada inangnya sehingga dapat menyebabkan suatu penyakit. Penyakit infeksi dapat berdampak ringan hingga berdampak kematian. Mikroba patogen yang menyebabkan penyakit infeksi dapat berupa bakteri, jamur, virus, dan dapat beradaptasi dengan lingkungan inangnya baik pada manusia maupun hewan serta mempertahankan hidupnya (Jawetz dkk., 2013).

Di dalam tubuh, penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri prosesnya meliputi bakteri menempel pada sel inang, biasanya pada sel epitel. Setelah itu bakteri berkembang biak dan menyebar langsung melalui jaringan atau sistem limfatik menuju pembuluh darah. Infeksi bakteri bisa bersifat sementara atau persisten dan infeksi ini dapat menyebabkan bakteri dapat menyebar secara luas di dalam tubuh serta memungkinkan untuk bakteri melakukan penggandaan diri ketika berada di jaringan yang cocok (Jawetz dkk., 2013).

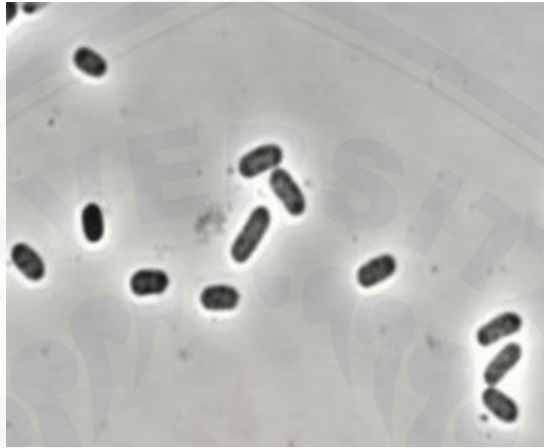
2.2 Tinjauan Bakteri

2.2.1 *Escherichia coli*

Klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Todar, 2008a)

E. coli merupakan salah satu bakteri gram negatif yang memiliki ciri-ciri bentuk bundar, cembung, dan tepi terlihat jelas yang terbentuk dari koloni halus . Bakteri *E. coli* memberikan hasil positif pada tes lisin dekarboksilasi, indol dan fermentasi manitol serta menghasilkan gas yang berasal dari glukosa (Jawetz dkk., 2007).



Gambar 2.1 Morfologi *Escherichia coli* (Todar, 2008a)

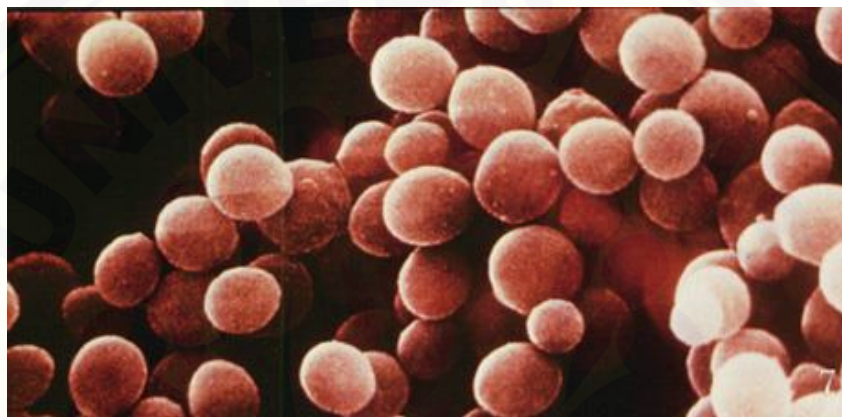
Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi seperti infeksi saluran kemih (ISK), meningitis, dan penyakit saluran cerna (Todar, 2008a). ISK biasanya dialami oleh wanita muda dengan gejala dan tanda seperti frekuensi kemih, hematuria, disuria, dan piuria. Kebanyakan penyakit diare diseluruh dunia disebabkan oleh bakteri *E. coli*. (Jawetz dkk., 2007).

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Todar, 2008b)

S. aureus merupakan salah satu bakteri gram positif yang memiliki bentuk bulat (*coccus*) seperti anggur jika dilihat melalui mikroskop. Bakteri *S. aureus* memiliki diameter 1 μm , buram, tersusun secara berkelompok yang tidak beraturan, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Biakan cair sel-selnya terpisah, bentuk tetrad (ada 4 sel), berpasangan, dan berbentuk rantai dengan koloni yang berwarna putih/abu-abu sampai kuning tua/keemasan (Jawetz dkk., 2007).



Gambar 2.2 Morfologi *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008b)

Bakteri ini termasuk bakteri gram positif yang patogen oportunistik mampu menginfeksi manusia terutama pada daerah nasal, saluran pernafasan, membran mukosa dan saluran pencernaan. *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi seperti pneumonia, bisul, mastitis, endokartitis, dan meningitis (Todar, 2008b). Selain itu *S. aureus* menjadi salah satu bakteri yang resisten terhadap MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus*) yang banyak terdapat pada kulit dan membran mukosa. Bakteri ini dapat membentuk enterotoksin yang stabil pada pemanasan. Enterotoksin mampu menyebabkan gejala keracunan makanan seperti diare, mual dan muntah-muntah (Jawetz dkk., 2007; Kadariya dkk., 2014).

2.3 Tinjauan tentang *Nauclea orientalis* L.

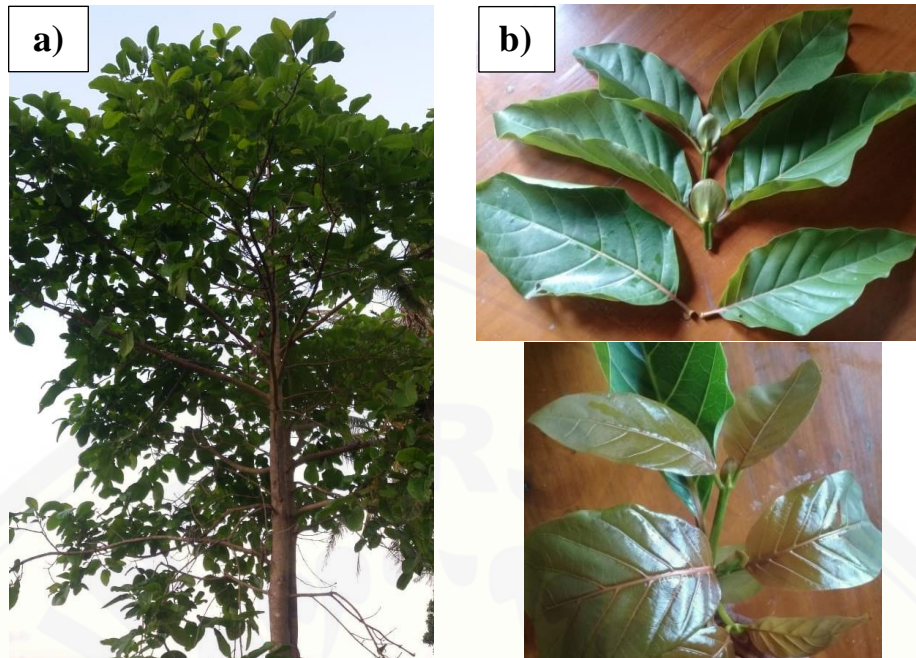
2.3.1 Sistem Klasifikasi

Berdasarkan (Riany, 2017) adapun klasifikasi *Nauclea orientalis* L. adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Nauclea</i>
Spesies	: <i>Nauclea orientalis</i> L.

2.3.2 Deskripsi

Nauclea orientalis L. merupakan tanaman yang memiliki habitat tersebar di Indonesia, Sri Langka, Myanmar, Thailand, Philipina, seluruh Melanesia (kecuali semenanjung Malaysia, dan Australia Utara). Nama daerah dari tanaman ini yaitu di Indonesia gempol (Sunda), klepu pasir (Jawa), kayu mas (Minahasa), *yellow cheesewood* (Papua New Guinea), bulala/mambog (Philipina), mau kadon (Myanmar), dan kan lueang (Thailand) (Kosasih dkk., 2011). *Nauclea orientalis* L. memiliki pohon yang berukuran sedang sampai agak besar dengan batang silindris yang dapat tumbuh hingga tinggi 35 m, tinggi bebas cabang 5-15 m, dan diameter 80-100 cm. Kulit batangnya berkerut atau halus tidak beratur, pecah-pecah, dan berwarna keabuan sampai coklat kemerahan. Daunnya tunggal yang berbentuk hati sedikit lonjong, berwarna hijau tua mengkilap, daun mudanya berwarna kemerahan, dan tersusun secara berlawanan di rantingnya. Stipulanya lurus dan tangkai daunnya pendek. Bunganya akan mengembang dengan diameter mencapai 3-5 cm dan berwarna kekuningan atau oranye. Tanaman gempol menghasilkan buah yang berbentuk bulat, buah masak berwarna merah, dan mengandung banyak biji (Kosasih dkk., 2011; Riany, 2017).



Gambar 2.3 a) Pohon Gempol (Sumber: Koleksi pribadi) dan b) Bagian Daun Gempol (Sumber: Koleksi pribadi)

2.3.3 Penelitian Terdahulu tentang *Nauclea orientalis* L.

Penapisan fitokimia ekstrak metanol *Nauclea orientalis* L. mengandung alkaloid, tanin, dan glikosida saponin. Pada studi fitokimia, genus *Nauclea* memiliki senyawa kimia alkaloid yang diisolasi dari ekstrak metanol (Takayama dkk., 2005). Menurut Raghavamma dan Rao (2010), ekstrak etanol *Nauclea orientalis* L. juga menunjukkan adanya senyawa tanin dan glikosida saponin.

Nauclea orientalis L. dilaporkan menunjukkan aktivitas anthelmintik dan antibakteri. Menurut penelitian Raghavamma dan Rao (2010), aktivitas anthelmintik *Nauclea orientalis* L. menunjukkan aksi penghambatan motilitas spontan (kelumpuhan) dan kematian cacing tanah golongan Annelida (*Pheritima postuma*). Ekstrak etanol cair daun *Nauclea orientalis* L. menunjukkan sifat antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* yang kemudian dibuat sediaan salep (Cruz dan Jubilo, 2014).

2.4 Tinjauan tentang Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu metode untuk menghasilkan suatu sediaan pekat (ekstrak) yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia nabati atau simplisia hewani dari zat aktifnya menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan bagian-bagian tertentu dari suatu bahan yang mengandung zat-zat berkhasiat mempunyai kadar tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Azmir dkk., 2013; Mandal dkk., 2015). Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, dan senyawa yang diinginkan/sifat dari bahan mentah obat. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu cara dingin dan cara panas (Anonim, 2000).

2.4.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana dengan cara merendam serbuk sampel pada pelarut selama beberapa waktu, kemudian disaring, dan didapatkan hasil berupa filtrat. Prinsip kerja ekstraksi ini yaitu pelarut akan menembus dinding sel serbuk yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut dan perbedaan konsentrasi larutan zat aktif dalam sel menyebabkan larutan yang terpekat didesak keluar.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dan umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses dari perkolasi ini yaitu tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1- 5 kali bahan.

c. Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi dengan getaran ultrasonik (> 20.000 Hz.) yang memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (*cavitation*) sebagai stres dinamik serta

menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat, dan lama proses ultrasonikasi. Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Menurut Sholihah dkk (2017), metode ultrasonik mampu meningkatkan rendemen dan mengurangi waktu ekstraksi suatu sampel. Bantuan ultrasonik saat proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat karena dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Clark dan Macquarrie, 2002).

2.4.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas relatif konstan karena adanya pendingin balik.

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi dengan pelarut selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu pada temperatur 40-50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah proses seperti infus tetapi pada waktu yang lebih lama (~30°C) dan temperatur sampai titik didih air.

2.5 Tinjauan tentang Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan suatu senyawa dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya antara pelarut air, dan pelarut organik seperti metanol, etanol, etil asetat, heksana, dan petroleum eter (Harborne, 1998). Selain dipengaruhi kelarutannya, fraksinasi juga dipengaruhi oleh polaritas, titik didih, dan tetapan dielektrik (Houghton dan Raman, 2012). Fraksinasi ada dua jenis yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair (Harborne, 1998). Fraksinasi padat-cair dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan cara membiarkan fase gerak mengalir melalui kolom yang dipengaruhi oleh adanya gaya gravitasi bumi dan senyawa terlarut mengalir dengan laju berbeda melalui kolom serta menyebabkan interaksi antara senyawa terlarut, fase gerak, dan fase diam.

Fraksinasi cair-cair merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Prinsip metode ini "*like dissolve like*" yaitu kepolaran senyawa dengan pelarut penting guna mengetahui tingkat kelarutan senyawa antar dua fase (Houghton dan Raman, 2012). Teknik pemisahan ini biasanya dilakukan menggunakan corong pisah dengan cara kedua pelarut yang tidak saling bercampur dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan. Senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasenya masing-masing tergantung kelarutannya terhadap fase tersebut, kemudian akan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Odugbemi, 2008; Houghton dan Raman, 2012). Air bertindak sebagai fase polar ditambahkan pada sampel dan selanjutnya ditambahkan pelarut secara berurutan berdasarkan kepolaran yaitu non polar-semipolar. Pelarut yang digunakan pada fraksinasi penelitian ini meliputi heksana, etil asetat, dan metanol-air (residu). Penelitian ini menggunakan fraksinasi dengan teknik partisi cair-cair karena cara kerja yang sederhana, tidak membutuhkan alat khusus, memisahkan senyawa dalam jumlah banyak, dan biaya yang murah (Pereira dkk., 2013).

2.6 Tinjauan Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang membahayakan/merugikan manusia. Antibakteri juga merupakan komponen yang dapat bersifat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau membunuh (bakterisidal) dan digunakan untuk pengobatan infeksi pada manusia serta hewan. Aktivitas bakteriostatik artinya antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jika bahan antibakteri hilang atau habis maka perkembangbiakan bakteri dapat berjalan seperti semula kembali. Jika aktivitas bakterisidal artinya antibakteri dapat membunuh bakteri dan jika bahan antibakteri telah hilang atau habis bakteri yang telah mati akan tetap mati serta tidak dapat berkembangbiak kembali (Ganiswarna, 2008; Jawetz dkk., 2007).

Zat antibakteri yang ideal harus memiliki sifat toksisitas selektif yaitu dapat berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inangnya (Xia dkk., 2010). Adapun aktivitas antibakteri dibedakan berdasarkan spektrum kerja sempit atau spektrum kerja luas, cara bakteri (bakteriostatik atau bakterisidal), dan konsentrasi hambat minimal serta potensi pada konsentrasi hambat minimal tersebut (Ganiswarna, 2008).

2.6.1 Metode Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan langkah awal dalam melakukan penelitian dan pengembangan senyawa antibakteri dari suatu sampel yang diduga memiliki potensi antibakteri. Metode untuk menguji aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak tanaman diantaranya meliputi metode dilusi, difusi, dan bioautografi (Balouiri dkk., 2016). Menurut Balouiri dkk. (2016) metode yang sering digunakan dalam setiap pengujian aktivitas antibakteri adalah metode difusi dan dilusi. Pada penelitian ini digunakan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi.

Metode difusi dilakukan dengan cara dalam media agar padat ditanami mikroba yang sesuai, kemudian memasukkan senyawa uji ke dalam lubang yang telah dibuat pada media (untuk metode sumuran) atau dengan diletakkan cakram

yang sebelumnya diberi larutan uji (metode cakram kertas). Media yang berisi senyawa uji dan bakteri kemudian diinkubasi dengan suhu 36-37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antibakteri dapat diamati dengan adanya zona hambat disekitar lubang atau cakram (Choma dan Grzelak, 2011).

Metode uji pada penelitian kali ini yaitu metode difusi cakram. Metode difusi cakram ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihan metode ini adalah sederhana dalam teknik pengerjaannya, mudah, tidak memerlukan alat khusus, relatif murah, skrining uji isolat dalam jumlah besar, dan modifikasi uji antimikroba dengan cakram mudah dilakukan. Sedangkan kekurangannya adalah membutuhkan waktu cukup lama dalam pengukuran zona hambat yang dilakukan secara manual dengan menggunakan jangka sorong (Balouiri dkk., 2016).

2.7 Antibiotik Gentamisin

Antibiotik gentamisin merupakan salah satu antibiotik golongan aminoglikosida yang diisolasi dari *Micromonospora purpurea*. Antibiotik gentamisin memiliki sifat fisika kimia yang menyerupai golongan aminoglikosida lain dan efektif melawan gram negatif maupun positif. Mekanisme kerja gentamisin yaitu menghambat sintesis protein sehingga terjadi kerusakan membran yang bersifat *irreversible* dan letal pada sel serta mampu berikatan pada protein ribosomal sub unit 30 S. Gentamisin sulfat dengan dosis 2-10 µg/mL mampu menghambat secara *in vitro* beberapa golongan *Staphylococcus* dan beberapa bakteri gram negatif yang lain (Katzung dkk., 2015).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun gempol terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538 merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari 2019 bertempat di Laboratorium Kimia Analisis dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, alat penggiling, timbangan analitik (Ohaus), ultrasonik, corong buchner, rotavapor (Stroglass Strike 300), oven, inkubator (CLIFTON), autoklaf (ALP), cawan petri, *hot plate* (Thermo Cimarex), *Laminar air flow* (Airtech), corong pisah, jarum ose, mikropipet (SOCOREX ASBA S.A), pembakar spiritus, *yellow tip*, *blue tip*, spatula logam, lemari asam (FH 120 G *Standart*), vortex, pinset, jangka sorong, rak tabung, pipet tetes, dan *plastic wrap*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun gempol yang diambil secara acak dari pohonnya daun ke 2-3 tangkai dibawah pucuk kemudian dikeringkan dan diserbuk sehingga menjadi serbuk kering daun gempol. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah sampel ekstrak dan fraksi, plat silika gel 60 F₂₅₄, kertas saring, HCl, NaCl, larutan Mayer, larutan Wagner,

NH₄OH 28%, kloroform, metanol, larutan Dragendorff, asam asetat anhidrida, H₂SO₄ p.a, etanol, anisaldehyda asam sulfat, aquades, FeCl₃, dan sitrat borat. Bahan untuk uji antibakteri adalah NaCl fisiologis, akuades steril, kertas saring, DMSO (Dimetil Sulfoksida) 10%, bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Media bakteri untuk peremajaan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) sedangkan media bakteri untuk uji metode difusi adalah *Mueller Hinton* (MH). Kontrol positif antibakteri menggunakan gentamisin cakram dengan konsentrasi 10 µg. Bahan kimia lain yang digunakan adalah etanol 96%, aquades, heksana p.a, etil asetat p.a, dan metanol p.a.

3.4 Variabel Penelitian dan Variabel Operasional

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi uji ekstrak etanol 96%, fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu daun gempol.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai zona hambat ekstrak etanol dan fraksi teraktif daun gempol terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538 yang tumbuh pada media agar *Mueller Hinton Agar*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah proses sterilisasi, metode ekstraksi ultrasonikasi daun gempol, metode fraksinasi, waktu inkubasi, prosedur pengujian, dan cara pengukuran untuk uji antibakteri.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

- a. Sampel menggunakan daun yang diambil secara acak dari pohon gempol. Daun gempol tumbuh di ladang warga Desa Ledokdawan, Kecamatan Geyer, Kabupaten Grobogan, Provinsi Jawa Tengah. Pengambilan dilakukan pada bulan Desember 2019 yang selanjutnya dideterminasi di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur.
- b. Ekstrak etanol daun gempol adalah ekstrak dari simplisia daun gempol yang diserbuk kemudian diekstraksi dengan metode ultrasonikasi menggunakan etanol 96%.
- c. Fraksi penelitian ini menggunakan fraksi heksana, fraksi etil asetat, dan residu (metanol-air). Fraksi-fraksi tersebut diperoleh dari metode fraksinasi partisi cair-cair ekstrak etanol daun gempol yang dilarutkan dengan air dan metanol serta perbandingan volume penambahan heksana p.a, etil asetat p.a.
- d. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538.
- e. Waktu inkubasi uji aktivitas antibakteri metode difusi menggunakan waktu inkubasi 18-24 jam.

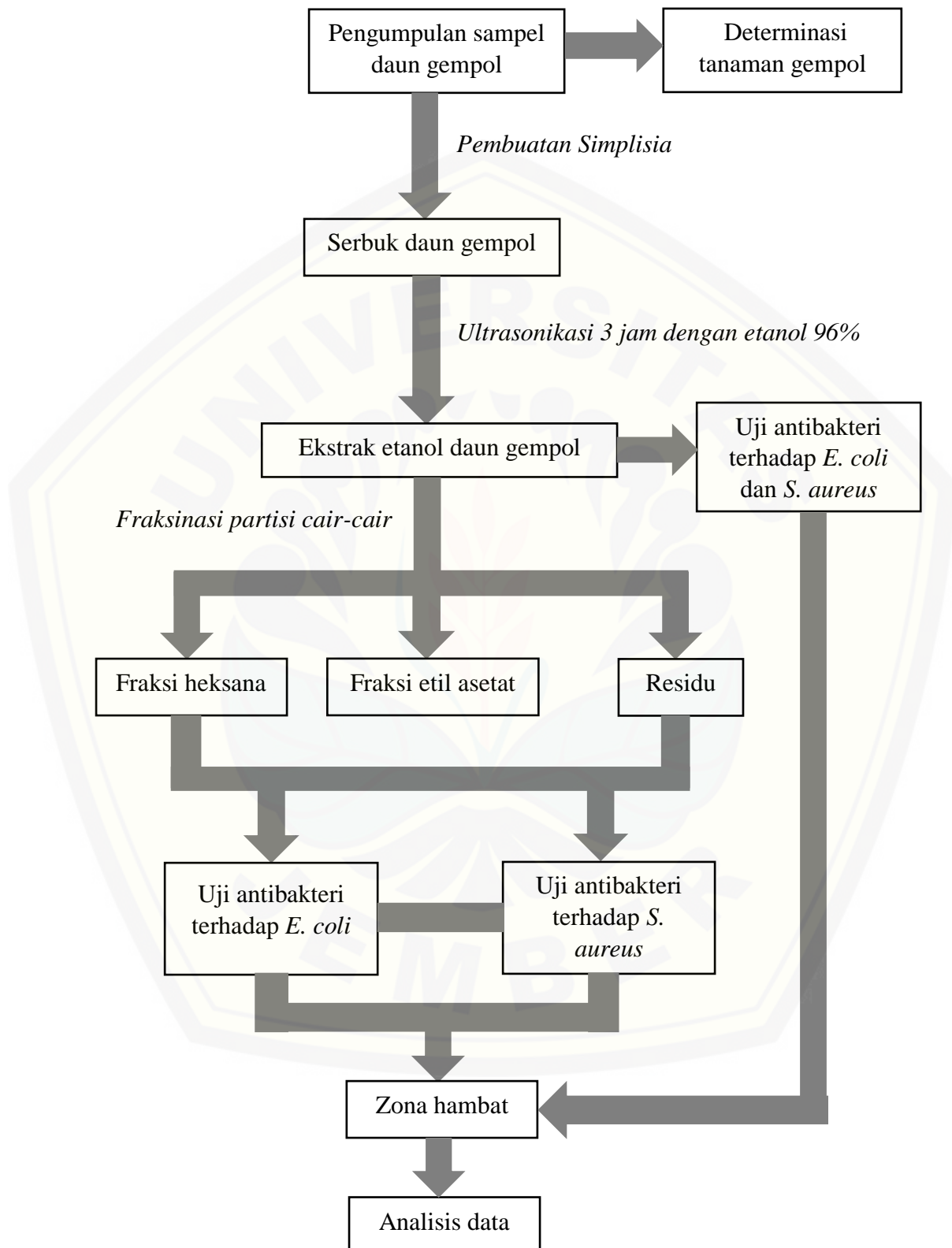
3.6 Rancangan Penelitian

3.6.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini mencakup uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun gempol terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538. Tahap awal penelitian adalah pengambilan sampel daun gempol kemudian sampel disortasi dan dikeringkan hingga menjadi simplisia. Selanjutnya dilakukan proses *grinding* hingga simplisia daun gempol menjadi serbuk.

Serbuk daun gempol kemudian diultrasonikasi selama 3 jam menggunakan etanol 96%. Setelah didapatkan ekstrak etanol 96% selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan fraksinasi partisi cair-cair. Fraksi yang didapatkan kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Ekstrak etanol dan fraksi daun gempol diukur zona hambatnya. Seluruh data kemudian dianalisis menggunakan SPSS.

3.6.2 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pengumpulan Sampel dan Determinasi Tanaman

Sampel yang digunakan adalah daun gempol yang diambil secara acak dari pohonnya serta dipilih yang tidak muda dan tidak tua yaitu diambil daun ke 2-3 tangkai dibawah pucuk. Daun gempol muda berwarna kemerahan dan daun tuanya berwarna hijau tua. Daun gempol diperoleh dengan memetik langsung, dimana pohonnya tumbuh di ladang warga Desa Ledokdawan, Kecamatan Geyer, Kabupaten Grobogan, Provinsi Jawa Tengah. Pengambilan dilakukan pada bulan Desember 2018 yang selanjutnya dideterminasi di Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur.

3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun

Sampel tanaman daun gempol yang diambil, dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran. Daun gempol dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan tidak terkena sinar matahari langsung selama lima hari hingga daun menjadi kering ditandai dengan hancur saat diremas, kemudian diserbukkan dengan cara diblender, dan diayak, hasil ayakan dipindahkan pada wadah yang tidak lembab (Yuliani dkk., 2016).

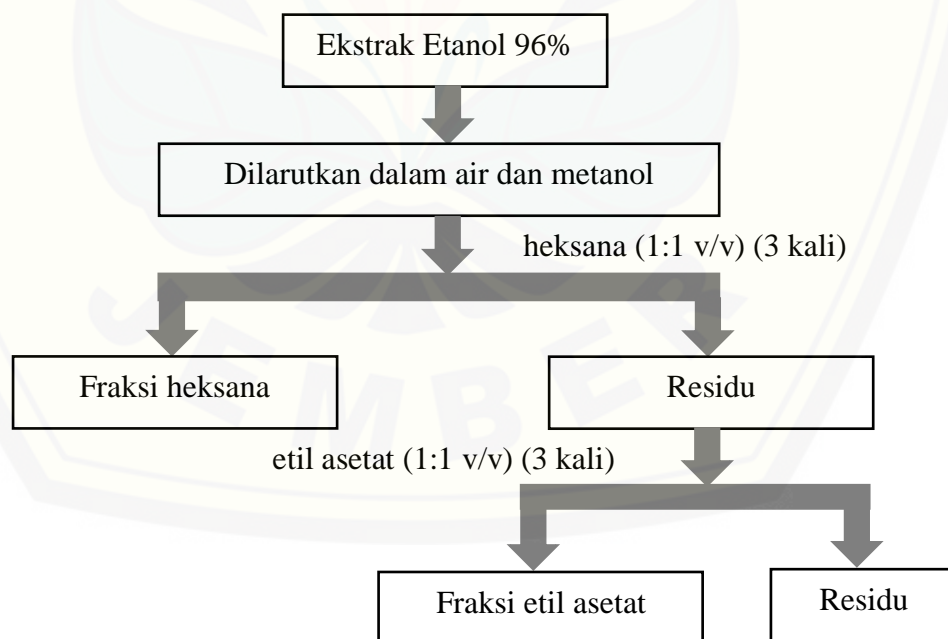
3.7.3 Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi gempol mengacu pada metode Sholihah dkk (2017), dua ratus gram serbuk daun gempol dilakukan ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 800 mL menggunakan ultrasonik selama 1 jam. Maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring melalui corong *Buchner* dan didapatkan filtrat. Sisa ampas kemudian diultrasonik kembali dengan etanol 96% sebanyak 400 mL selama 1 jam kemudian disaring dan sisa ampas yang terakhir diultrasonik lagi dengan etanol 96% sebanyak 300 mL selama 1 jam serta disaring kembali. Filtrat disatukan dan dipekatkan menggunakan *vaccum rotary*

evaporator pada suhu 50°C kemudian dikeringkan dalam oven hingga diperoleh ekstrak kental. Perhitungan rendemen ekstrak menggunakan persamaan :

$$\text{Rendemen ekstrak(\%)} : \frac{\text{massa hasil ekstraksi (g)}}{\text{massa serbuk (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Setelah diperoleh ekstrak kental, ekstrak difraksinasi untuk mendapatkan fraksi heksana, etil asetat, dan residu dengan cara partisi cair-cair. Sebanyak 5 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 5 mL metanol dan 45 mL aquades. Larutan tersebut selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 50 mL heksana p.a, dikocok dalam corong pisah dan didiamkan hingga terdapat dua lapisan (metanol-aquades pada lapisan bawah dan heksana pada lapisan atas). Lapisan heksana diambil dan dilakukan tiga kali penambahan heksana sampai lapisan heksana menjadi bening. Lapisan metanol-aquades kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat p.a dan residu berupa metanol-air. Hasil fraksinasi dari heksana, etil asetat, dan residu ditampung kemudian dipekatkan untuk digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri (Sembiring dkk., 2016). Alur fraksinasi daun gempol ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema Alur Fraksinasi Daun Gempol

3.7.4 Pembuatan Media NA dan MHA

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dilakukan dengan menimbang serbuk NA sebanyak 23 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades lalu dihomogenkan dengan magnetik *stirrer* di atas penangas air sampai mendidih dan tepat larut. Larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 5 mL. Media NA disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit (Adibi dkk., 2017).

Sedangkan pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dilakukan dengan menimbang serbuk MHA sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades dan dihomogenkan dengan magnetik *stirrer* di atas penangas air sampai mendidih hingga semuanya larut. Larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 15 mL. Media kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Wiegand dkk., 2008; Balouiri dkk., 2016).

3.7.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

1. Sterilisasi dengan uap yang bertekanan (autoklaf), yaitu sterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang disterilisasi seperti : cawan petri, tabung reaksi, aquades steril, media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan NaCl fisiologis.
2. Sterilisasi dengan pemijaran, yaitu sterilisasi dengan cara pembakaran alat-alat diatas lampu spiritus seperti jarum ose, spreader, dan pinset.

3.7.6 Peremajaan Biakan Bakteri

Peremajaan biakan bakteri dilakukan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dalam tabung reaksi dengan cara menggoreskan bakteri yang telah diambil dengan jarum ose pada media NA miring yang dilakukan secara aseptis yaitu saat proses menggoreskan bakteri mulut tabung reaksi didekatkan pada nyala api bunsen dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Setelah itu, media dalam tabung reaksi

yang berisi bakteri ditutup rapat dengan menggunakan kapas dan *plastic wrap* kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.

3.7.7 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji ekstrak dibuat dengan lima seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% sedangkan larutan uji fraksi dibuat juga dengan 5 seri konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5% dengan menggunakan pelarut DMSO 10% untuk masing-masing konsentrasi. Larutan uji dibuat dengan cara menimbang sebanyak 500 mg dalam 1 mL. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi ekstrak dan fraksi sebanyak 1 mL. Perhitungan larutan uji dapat dilihat pada Lampiran 4.4.

3.7.8 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *E. coli* ATCC 25922 maupun *S. aureus* ATCC 6538 yang diremajakan pada umur 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan dalam 5 mL NaCl fisiologis. Suspensi bakteri divortex dan diukur menggunakan *Spectrophotometry* pada panjang gelombang 625 nm hingga absorbansinya sama dengan standar Mc Farland 0,5 antara 0,08-0,13 (Wiegand dkk., 2008).

3.8 Tahapan Pengujian

3.8.1 Skrining Fitokimia

Identifikasi skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi daun gempol dilakukan sebagai berikut :

a. Uji alkaloid

Sampel sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 2 mL HCL, dipanaskan 5 menit kemudian ditambahkan 0,1 gram NaCl dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 5 mL. Kemudian filtrat dibagi menjadi 3 bagian, larutan A, B, dan C. Larutan A ditambahkan pereaksi mayer, Larutan B ditambahkan pereaksi wagner. Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan adanya alkaloid. Larutan

C digunakan sebagai uji KLT dengan menambahkan NH_4OH 28%, kemudian ditambahkan 5 mL kloroform kemudian disaring. Filtrat diuapkan kemudian dilarutkan dalam metanol. Filtrat yang didapatkan ditotolkan ke plat silika gel 60 F_{254} yang kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi dragendorff. Adanya alkaloid dalam sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna jingga pada plat silika gel 60 F_{254} (Jones dan Kinghorn, 2006).

b. Uji glikosida saponin/steroid/triterpenoid

Sampel 0,1 gram ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan, dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm menunjukkan adanya glikosida saponin. Pada penambahan HCl 2N, buih akan hilang. Sampel 0,1 gram dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid. Bila cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid (Jones dan Kinghorn, 2006; Evans, 2009). Uji KLT dengan sampel 0,1 gram ditambah beberapa tetes etanol, aduk sampai larut, ditotolkan ke plat silika gel 60 F_{254} yang kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi anisaldehida asam sulfat. Adanya steroid/triterpenoid dalam sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna merah ungu pada plat silika gel 60 F_{254} .

c. Uji polifenol/tanin

Sampel 0,1 gram ditambahkan dengan 1 mL larutan FeCl_3 10%. Jika terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin (Robinson, 1995; Jones dan Kinghorn, 2006). Sampel 0,1 gram ditambahkan larutan gelatin, jika terjadi endapan menunjukkan adanya tanin. Uji dengan menggunakan FeCl_3 dan uji gelatin positif maka sampel mengandung tanin, jika uji FeCl_3 positif dan uji gelatin negatif menunjukkan sampel yang diuji mengandung polifenol, jika uji FeCl_3 negatif maka sampel tidak mengandung polifenol maupun tanin.

d. Uji flavonoid

Sebanyak 0,1 gram sampel dilarutkan dalam etanol kemudian dibagi 3 bagian, masing-masing disebut A, B, dan C. Larutan A ditambahkan HCl pekat kemudian dipanaskan, diamati perubahan warna jika terjadi perubahan warna menjadi merah terang/ungu menunjukkan ada senyawa leukoantosianin. Larutan B ditambahkan dengan HCl pekat dan Mg. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah/jingga. Larutan C digunakan untuk uji KLT dengan ditotolkan pada plat silika gel 60 F₂₅₄ yang kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi sitrat borat/uap ammonia. Adanya flavonoid dalam sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna kuning intensif pada plat silika gel 60 F₂₅₄.

3.8.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gempol diawali dengan membuat larutan suspensi bakteri terlebih dahulu dengan cara stok bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538 dilarutkan dengan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian 100 µL suspensi bakteri dituangkan pada permukaan media *Mueller Hinton* yang sudah memadat dalam cawan petri dan diratakan menggunakan spreader. Plat kultur yang permukaannya sudah diberi bakteri didiamkan hingga 15 menit sampai memadat kemudian disiapkan larutan uji ekstrak (CLSI, 2018). Setelah itu, diletakkan cakram steril yang telah dipreparasi sebelumnya dengan ditambahkan larutan uji sebanyak 10 µL masing-masing konsentrasi. Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan berturut-turut adalah antibiotik gentamisin 10 µg dan larutan DMSO 10%. Masing-masing cawan petri yang telah diberikan perlakuan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Aktivitas antibakteri diamati keesokan harinya setelah 20 jam berdasarkan diameter zona hambat yang ditandai dengan daerah bening yang terbentuk di sekeliling cakram steril. Kemudian dilakukan fraksinasi partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Fraksi heksana, etil asetat, dan residu pada konsentrasi 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5%, juga digunakan untuk uji aktivitas

antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Aktivitas antibakteri juga diamati berdasarkan diameter zona hambatnya (Handayani dkk., 2013).

3.8.3 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong dan memegang cawan petri dengan latar belakang berwarna hitam atau gelap. Pengukurannya dengan membuat dua garis tegak lurus melalui titik pusat lubang sumuran kemudian bentuk garis yang ketiga di antara kedua garis tegak lurus terhadap dua garis lurus tersebut dan diukur sebanyak 3 kali pada tempat yang berbeda. Hasil pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi 3 untuk mendapatkan besarnya zona hambatan yang terbentuk (Darjono, 2011).

3.9 Analisis Data

Analisis data dari aktivitas antibakteri suatu senyawa uji dapat diketahui berdasarkan pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 6538. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan software SPSS. Langkah awal, data yang diperoleh dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas. Jika data terdistribusi secara homogen dan normal dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*. Jika data yang terdistribusi tidak homogen dan normal maka dilakukan transformasi data hingga data yang diperoleh homogen dan normal. Apabila setelah dilakukan transformasi data yang diperoleh terdistribusi secara homogen dan normal lalu dilanjutkan dengan uji analisis *one way ANOVA*. Jika data yang diperoleh tidak terdistribusi homogen dan normal setelah dilakukan transformasi maka dilanjutkan dengan uji analisis statistik alternatif menggunakan *Kruskall-Walis*. Jika data yang diperoleh melalui uji *one way ANOVA* atau *Kruskall-Walis* telah signifikan, maka dilanjutkan analisis statistik dengan LSD (*Least Significant Difference*) atau *Man-Whitney* untuk untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan nilai signifikan dengan nilai $p \leq 0,05$ dan taraf kepercayaan 95%.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat dan residu daun gempol terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak.
2. Ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat dan residu daun gempol terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 6538 yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi etil asetat, fraksi heksana, dan ekstrak.
3. Ada perbedaan bermakna zona hambat antara kedua bakteri uji terhadap ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat dan residu daun gempol yaitu nilai aktivitas antibakteri zona hambat pada bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah :

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) dengan metode yang lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap bakteri gram positif dan gram negatif lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Adibi, S., H. Nordan, S. N. Ningsih, M. Kurnia, Evando, dan S. Rohiat. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* (Keji Beling) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 1:148–154.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Dalam Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, dan A. K. M. Omar. 2013. Technique For Extraction of Bioactive Compounds From Plant Materials: a Review. *Journal of Food Engineering*. 117(4):426-436.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibsouda. 2016. Methods For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: a Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 71–79.
- Choma, I. M. dan E. M. Grzelak. 2011. Bioautography Detection In Thin-Layer Chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1218:2684–2691.
- Clark, J. dan D. Macquarrie. 2002. *Handbook of Green Chemistry and Technology*. Editor T. J. Mason dan P. Cintas. London: Blackwell Science Ltd.
- CLSI. 2018. *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing*. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cruz, J. P. dan R. M. M. Jubilo. 2014. Evaluation of The Anti-Staphylococcal Activity of *Nauclea orientalis* Linn. *European Scientific Journal*. 10(27):170–179.
- Dai, J. dan R. J. Mumper. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. 15:7313–7352.
- Daniels, D., B. Biswas, K. Rogers, F. Mclaughlin, D. Daniels, dan A. Yadav. 2013. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) On Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology*. 1–8.
- Darjono, U. N. A. 2011. Analisis Minyak Atsiri Serai (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi Dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*. 49:124.
- Erdelmeier, C. A. J., A. D. Wright, B. Baumgartner, T. Rali, dan O. Stiche. 1990. New Indole Alkaloid Glycosides From *Nauclea orientalis*. *Planta Med*. 57:149–152.

- Evans, C.W. 2009. *Pharmacognosy Trease and Evans, Ed 16th*. London: Saunders Elvesier.
- Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Handayani, N., A. Fitriana, dan D. S. Handayani. 2013. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherischia coli*. *Molekul*. 178–185.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods; A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman And Hall. *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Haryoto, R. Nisa, R. Munaaroh. 2013. Aktivitas Larvasida Fraksi Polar Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.) terhadap Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* Beserta Profil Kromatografinya. *Farmasi*. 3-15
- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. 2011. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl fruit. *Int J Mol Sci*. 12:3422-3431.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 2012. *Laboratory Handbook For The Fractionation of Natural Extract*. Springer.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology*. Edisi Edisi 24th. New York: Mc Graw Hill.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2013. *Medical Microbiology*. Edisi Edisi 26th. New York: Mc Graw Hill.
- Jones, W.P. dan Kinghorn, A.D., 2006. *Extraction of Plant Secondary Metabolites*, In: Sarker, S.D., Latif, Z. dan Gray, A.I., eds. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press.
- Kadariya, J., T. C. Smith, dan D. Thapaliya. 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge In Public Health. *BioMed Research International*. 1–10.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpoire, J., Traore, A. S. 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 4(12):195-200.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan J. T. Anthony. 2015. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 13. San Fransisco: Mc Graw Hill.

- Kosasih, E., E. Ana, dan A. Safari. 2011. Informasi Singkat Benih Gempol (*Nauclea orientalis* Linn.). *Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura*. 118
- Madduluri, S., Rao, K. B., & Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacteria Pathogens of Humans. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4):679-684.
- Mandal, S. C., V. Mandal, dan A. K. Das. 2015. *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications*. London: Elsevier Inc.
- M.J., Pelczar dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edisi I. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Nuria, M. C., A. Faizatun, dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian. Mediagro*. 5(2):26–37.
- Odugbemi, T. 2008. *A Textbook of Medicinal Plants From Nigeria*. Yoba-Lagos, Nigeria: University of Lagos Press.
- Panawala, L. 2017. Difference Between Gram Positive and Gram Negative Bacteria Stunning Images of Cells Discover How Scientists Use Main Difference Gram Positive vs Gram Negative Bacteria. *Pediaa*.
- Pereira, J., J. Gonçalves, V. Alves, dan J. S. Câmara. 2013. Microextraction Using Packed Sorbent As An Effective and High-Throughput Sample Extraction Technique : Recent Applications and Future Trends. *Sample Preparation*. 38–53.
- Poeloengan, M., Andriani., M. N. Susan., I. Komala dan M. Hasnita. 2007. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Raghavamma, S. T. V. dan N. R. Rao. 2010. In Vitro Evaluation of Anthelmintic Activity of *Nauclea orientalis* Leaves. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 72(4):520–521.
- Reynolds, J. E. F. 1996. *Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition*. London: The Royal Pharmaceutical Society Press.
- Riany, F. 2017. Variasi Genetik dan Nilai Heritabilitas Uji Keturunan Gempol (*Nauclea orientalis* L.) di Parung Panjang, bogor. *IPB*

- RISKESDAS. 2013. *Penyakit Yang Ditularkan Melalui Udara*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rusli, S. dan D. Darmawan, 1998. Pengaruh Cara Pengeringan dan Type Pengeringan Terhadap Mutu Jahe Kering. *Bul. Litro*. 3(2):80-83.
- Sembiring, E., M. S. Sangi, dan E. Suryanto. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Chem.Prog.* 9:16–24.
- Sharif, M. M. dan G. R. Banik. 2006. Status and Utilization of Medicinal Plants In Rangamati of Bangladesh. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 2(6):268–273.
- Sholihah, M., U. Ahmad, dan I. W. Budiastara. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik Untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis. *JTEP Jurnal Keteknik Pertanian*. 5:161–168.
- Sudira, I. W., Merdana, I., & Wibawa, I. 2011. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kedondong (*Lannea Grandis Engl*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Erwinia carotovora*. *Buletin Veteriner Udayana*. 3(1):45-50.
- Takayama, H., M. Kitajima, dan N. Kogure. 2005. Chemistry of Indole Alkaloids Related to The Corynanthe-Type From Uncaria, Nauclea and Mitragyna Plants. *Current Organic Chemistry*. 19(15):1445–1464.
- Todar, K. 2008a. Pathogenic E. Coli. www.textbookofbacteriology.net [Diakses pada 22 Januari 2019].
- Todar, K. 2008b. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Disease. <http://textbookofbacteriology.net> [Diakses pada 22 Januari 2019].
- WHO. 2014. World Health Statistics 2014. *World Health Organization 2014*.
- WHO. 2018. World Health Statistics 2018: Monitoring Health For The SDGS, Sustainable Development Goals. *World Health Organization 2014*.
- Wiegand, I., K. Hilpert, dan R. E. W. Hancock. 2008. Agar and Broth Dilution Methods to Determine The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nature Protocols*. 3:163–175.
- Xia, E., G. Deng, Y. Guo, dan H. Li. 2010. Biological Activities of Polyphenols From Grapes. *Molecular Sciences*. 11:622–646.
- Yuliani, N. N., J. Sambara, dan M. A. Mau. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Info Kesehatan*. 14:1092–1111.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Lembar Determinasi

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 62/PL17.3.1.02/LL/2018

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Universitas Jember No: 2440/UN25.13/LL/2018 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Eka Ayu Amaliyah dan Reny Diastri Noviriana
NIM : 152210101095 dan 152210101098
Jur/Fak/PT : Fakultas Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Sympetalae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Nauclea; Spesies: Nauclea orientalis, L

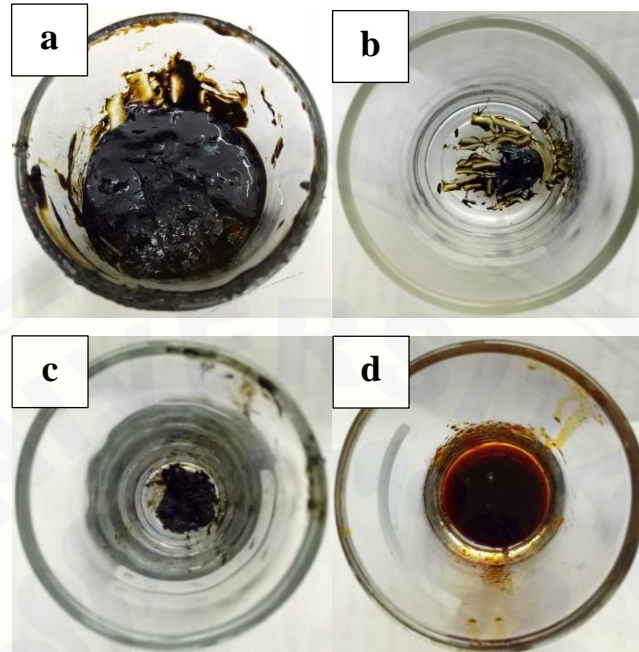
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 5 Desember 2018
Kepala Laboratorium Tanaman

Eka Ayu Amaliyah, MP
NIP. 195808201987032001



Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi



Keterangan : (a) Ekstrak etanol, (b) Fraksi heksana, (c) Fraksi etil asetat, dan (d) Residu daun gempol

Perhitungan bobot ekstrak = (botol + ekstrak) – botol kosong

Perhitungan rendemen ekstrak = $\frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia kering}} \times 100\%$

Perhitungan rendemen fraksi = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$

Sampel	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
Ekstrak etanol	29,98	14,99
Fraksi heksana	0,24	4,80
Fraksi etil asetat	0,56	11,20
Residu	2,32	46,40

Lampiran 4.3 Skrining Fitokimia

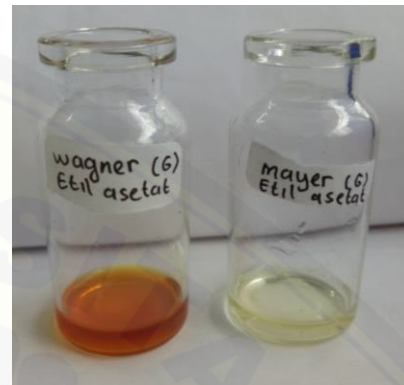
1. Metode uji tabung dan reaksi warna

a. Uji Alkaloid

Ekstrak



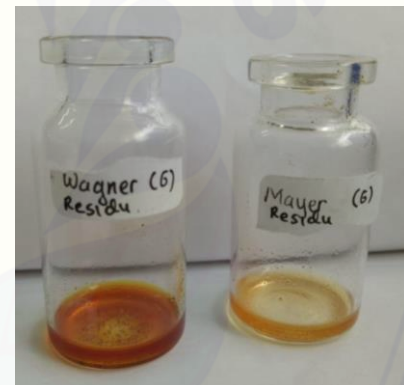
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana

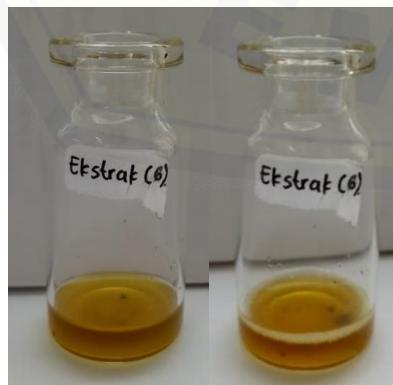


Residu

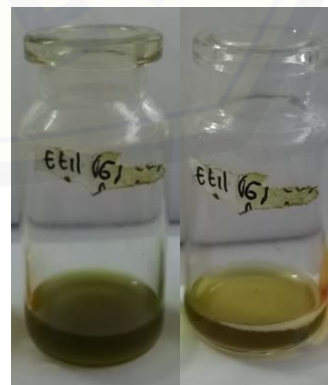


b. Uji Flavonoid

Ekstrak



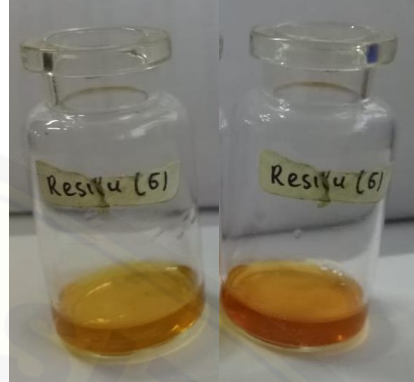
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu

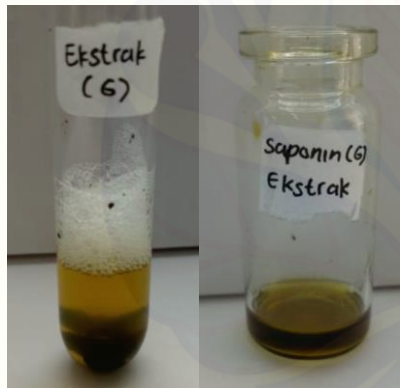


Kanan : penambahan HCl pekat

Kiri : penambahan HCL pekat dan Magnesium

c. Uji Glikosida Saponin

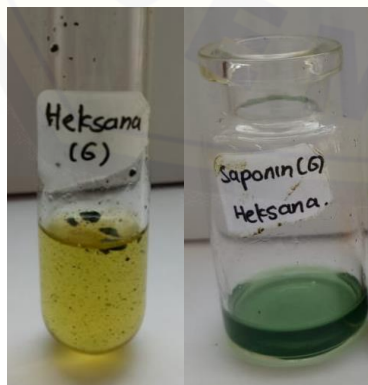
Ekstrak



Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu



Kanan : uji buih

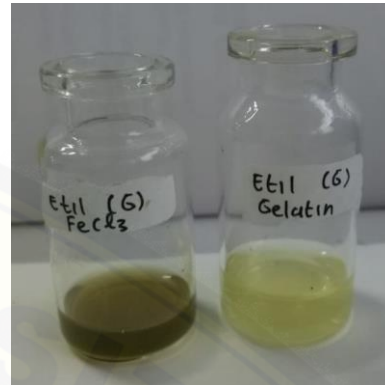
Kiri : reaksi warna *Liebermann-burchard*

d. Uji Polifenol/Tanin

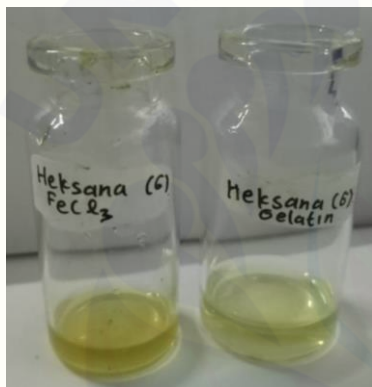
Ekstrak



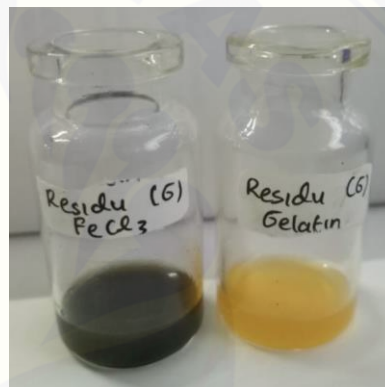
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu



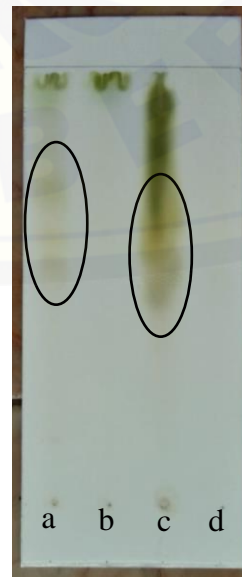
2. Metode KLT

a. Alkaloid



- a. Ekstrak etanol
- b. Fraksi heksana
- c. Fraksi etil asetat
- d. Residu

b. Flavonoid



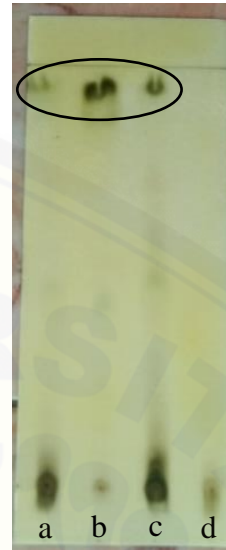
- a. Ekstrak etanol
- b. Fraksi heksana
- c. Residu
- d. Fraksi etil asetat

c. Glikosida
saponin



- a. Ekstrak etanol
- b. Fraksi heksana
- c. Residu
- d. Fraksi etil asetat

d. Polifenol/Tanin



- a. Ekstrak etanol
- b. Fraksi etil asetat
- c. Residu
- d. Fraksi heksana

Lampiran 4.4 Pembuatan Larutan Uji untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Larutan DMSO 10%

Larutan DMSO 10% dibuat dengan melarutkan 1 ml DMSO dengan 9 ml akuades steril.

b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil Asetat dan Residu Daun Gempol Dengan Konsentrasi 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; dan 5%

$$\text{Penimbangan sampel} = 500 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi dalam DMSO 100\%} &= \frac{500 \text{ mg}}{1000 \mu\text{l}} \times 10^6 \\ &= 500.000 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi dalam DMSO 10\%} &= \frac{100 \mu\text{l}}{1000 \mu\text{l}} \times 500.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 50.000 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

Pengenceran sampel dengan DMSO 10%

$$\begin{aligned} \text{a. Konsentrasi 5\%} &= \frac{100 \mu\text{l}}{1000 \mu\text{l}} \times 500.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 50.000 \mu\text{g/mL (5\%)} \end{aligned}$$

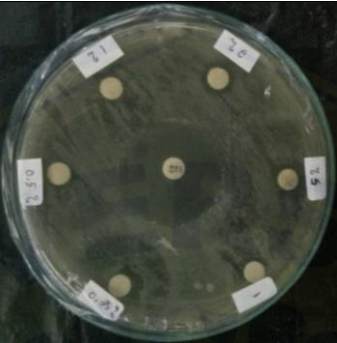

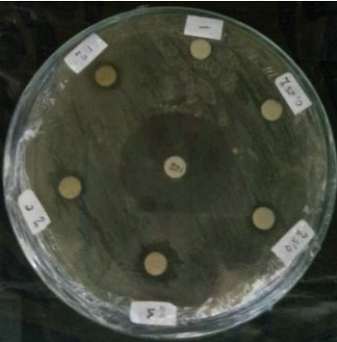
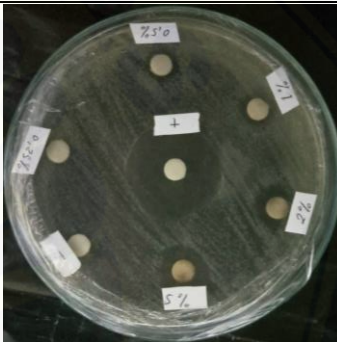
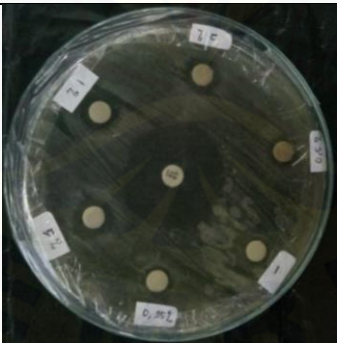
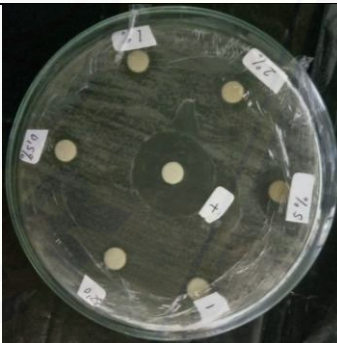
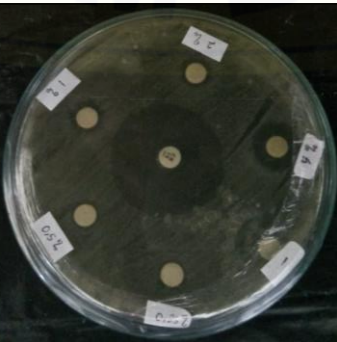

$$\begin{aligned} \text{b. Konsentrasi 2\%} &= \frac{80 \mu\text{l}}{200 \mu\text{l}} \times 50.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 20.000 \mu\text{g/mL (2\%)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. Konsentrasi 1\%} &= \frac{40 \mu\text{l}}{200 \mu\text{l}} \times 50.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 10.000 \mu\text{g/mL (1\%)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. Konsentrasi 0,5\%} &= \frac{20 \mu\text{l}}{200 \mu\text{l}} \times 50.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 5000 \mu\text{g/mL (0,5\%)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{e. Konsentrasi 0,25\%} &= \frac{10 \mu\text{l}}{200 \mu\text{l}} \times 50.000 \mu\text{g/mL} \\ &= 2500 \mu\text{g/mL (0,25\%)} \end{aligned}$$

Lampiran 4.5 Gambar Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Gempol Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No.	Sampel	Zona hambat terhadap <i>E. coli</i>	Zona hambat terhadap <i>S. aureus</i>
1.	Ekstrak etanol		
2.	Fraksi Heksana		
3.	Fraksi Etil Asetat		
4.	Residu		

Lampiran 4.6 Hasil Pengujian Zona Hambat

- a. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	0,00	7,30	9,50	10,00	12,50	28,55	0,00
	2	0,00	7,31	9,50	10,00	12,50	28,50	0,00
	3	0,00	7,30	9,50	10,00	12,50	28,50	0,00
2	1	0,00	7,30	9,55	10,05	12,56	28,60	0,00
	2	0,00	7,30	9,55	10,05	12,55	28,60	0,00
	3	0,00	7,40	9,60	10,05	12,55	28,40	0,00
3	1	0,00	7,31	9,60	10,07	12,50	28,60	0,00
	2	0,00	7,31	9,60	10,07	12,50	28,60	0,00
	3	0,00	7,31	9,60	10,05	12,60	28,60	0,00

- b. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	0,00	7,30	9,50	10,00	12,50	28,52	0,00
2	0,00	7,33	9,57	10,05	12,55	28,53	0,00
3	0,00	7,31	9,60	10,06	12,53	28,60	0,00
Rata-rata	0,00	7,31	9,56	10,04	12,53	28,55	0,00
SD	0,00	0,02	0,05	0,03	0,03	0,04	0,00
CV	0,00	0,27	0,52	0,29	0,24	0,14	0,00

- c. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Heksana Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	6,60	7,45	9,70	10,22	13,00	29,10	0,00
	2	6,60	7,55	9,70	10,20	13,00	29,10	0,00
	3	6,60	7,55	9,70	10,20	13,20	29,10	0,00
2	1	6,55	7,54	9,71	10,52	13,05	29,10	0,00
	2	6,55	7,54	9,71	10,55	13,10	29,12	0,00
	3	6,55	7,55	9,71	10,55	13,10	29,10	0,00
3	1	6,60	7,60	9,70	10,20	13,00	29,12	0,00
	2	6,60	7,60	9,70	10,20	13,10	29,12	0,00
	3	6,60	7,60	9,70	10,25	13,10	29,12	0,00

- d. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Fraksi Heksana Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	6,60	7,52	9,70	10,21	13,07	29,10	0,00
2	6,55	7,54	9,71	10,54	13,08	29,11	0,00
3	6,60	7,60	9,70	10,22	13,07	29,12	0,00
Rata-rata	6,58	7,55	9,70	10,33	13,07	29,11	0,00
SD	0,03	0,04	0,01	0,77	0,01	0,01	0,00
CV	0,46	0,53	0,10	0,19	0,08	0,03	0,00

- e. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Etil asetat Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	7,00	8,80	9,70	11,00	13,35	29,60	0,00
	2	7,00	8,80	9,70	11,00	13,35	29,60	0,00
	3	7,10	8,80	9,90	11,00	13,35	29,60	0,00
2	1	7,00	8,82	9,70	11,00	13,34	29,67	0,00
	2	7,00	8,82	9,70	11,00	13,34	29,67	0,00
	3	7,00	8,82	9,70	11,00	13,34	29,67	0,00
3	1	7,10	8,81	9,75	11,00	13,34	29,60	0,00
	2	7,10	8,82	9,75	11,00	13,34	29,60	0,00
	3	7,10	8,82	9,75	11,00	13,34	29,60	0,00

- f. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Fraksi Etil asetat Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	7,03	8,80	9,77	11,00	13,35	29,60	0,00
2	7,00	8,82	9,70	11,00	13,34	29,67	0,00
3	7,10	8,82	9,75	11,00	13,34	29,60	0,00
Rata-rata	7,04	8,81	9,74	11,00	13,34	29,62	0,00
SD	0,05	0,01	0,04	0,00	0,01	0,04	0,00
CV	0,71	0,11	0,41	0,00	0,07	0,14	0,00

- g. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Residu Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	7,50	9,20	10,55	12,00	14,00	30,00	0,00
	2	7,50	9,20	10,55	12,00	14,00	30,00	0,00
	3	7,50	9,22	10,55	12,00	14,00	30,00	0,00
2	1	7,52	9,20	10,55	12,00	14,02	30,00	0,00
	2	7,52	9,20	10,56	12,00	14,02	30,00	0,00
	3	7,52	9,20	10,56	12,00	14,02	30,00	0,00
3	1	7,50	9,19	10,56	12,04	14,06	30,00	0,00
	2	7,50	9,19	10,56	12,04	14,06	30,00	0,00
	3	7,50	9,19	10,56	12,04	14,06	30,00	0,00

- h. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Residu Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	7,50	9,21	10,55	12,00	14,00	30,00	0,00
2	7,52	9,20	10,56	12,00	14,02	30,00	0,00
3	7,50	9,19	10,56	12,04	14,06	30,00	0,00
Rata-rata	7,51	9,20	10,56	12,01	14,03	30,00	0,00
SD	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,00	0,00
CV	0,13	0,11	0,09	0,17	0,21	0,00	0,00

- i. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	0,00	7,80	9,64	13,60	15,00	30,00	0,00
	2	0,00	7,80	9,65	13,60	15,00	30,00	0,00
	3	0,00	7,80	9,60	13,60	15,00	30,00	0,00
2	1	0,00	7,80	9,65	13,65	15,00	29,90	0,00
	2	0,00	7,80	9,45	13,65	15,00	29,85	0,00
	3	0,00	7,82	9,45	13,65	15,02	29,90	0,00
3	1	0,00	7,80	9,55	13,60	15,02	30,00	0,00
	2	0,00	7,80	9,52	13,60	15,02	30,00	0,00
	3	0,00	7,84	9,42	13,60	15,02	30,00	0,00

- j. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Ekstrak Etanol Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	0,00	7,80	9,63	13,60	15,00	30,00	0,00
2	0,00	7,81	9,52	13,65	15,01	29,88	0,00
3	0,00	7,81	9,50	13,60	15,02	30,00	0,00
Rata-rata	0,00	7,81	9,55	13,62	15,01	29,96	0,00
SD	0,00	0,01	0,07	0,03	0,01	0,10	0,00
CV	0,00	0,13	0,73	0,22	0,06	0,33	0,00

- k. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Heksana Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	7,10	8,45	9,55	13,75	15,40	30,30	0,00
	2	7,00	8,45	9,55	13,75	15,40	30,30	0,00
	3	7,00	8,45	9,55	13,75	15,40	30,30	0,00
2	1	7,11	8,40	9,60	13,60	15,30	30,33	0,00
	2	7,11	8,40	9,60	13,60	15,30	30,33	0,00
	3	7,11	8,45	9,56	13,62	15,30	30,33	0,00
3	1	7,10	8,40	9,64	13,70	15,45	30,30	0,00
	2	7,10	8,40	9,64	13,70	15,40	30,30	0,00
	3	7,10	8,40	9,60	13,70	15,40	30,30	0,00

- l. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Fraksi Heksana Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	7,03	8,45	9,55	13,75	15,40	30,30	0,00
2	7,11	8,42	9,59	13,61	15,30	30,33	0,00
3	7,10	8,40	9,63	13,70	15,42	30,30	0,00
Rata-rata	7,08	8,42	9,59	13,69	15,37	30,31	0,00
SD	0,04	0,03	0,04	0,07	0,06	0,02	0,00
CV	0,56	0,36	0,42	0,51	0,40	0,07	0,00

- m. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Etil asetat Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	7,10	9,50	10,70	14,95	15,55	30,00	0,00
	2	7,10	9,50	10,70	14,95	15,55	30,00	0,00
	3	7,10	9,50	10,70	14,95	15,56	30,00	0,00
2	1	7,12	9,50	10,72	14,95	15,56	30,04	0,00
	2	7,12	9,50	10,72	14,95	15,55	30,04	0,00
	3	7,12	9,51	10,72	14,95	15,55	30,04	0,00
3	1	7,12	9,51	10,70	14,96	15,55	30,04	0,00
	2	7,12	9,51	10,70	14,96	15,55	30,04	0,00
	3	7,12	9,51	10,70	14,96	15,55	30,04	0,00

- n. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Fraksi Etil asetat Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	7,10	9,50	10,70	14,95	15,55	30,00	0,00
2	7,12	9,50	10,72	14,95	15,55	30,04	0,00
3	7,12	9,51	10,70	14,96	15,55	30,04	0,00
Rata-rata	7,11	9,50	10,71	14,95	15,55	30,03	0,00
SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	0,00
CV	0,14	0,11	0,09	0,07	0,00	0,07	0,00

- o. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Residu Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	1	8,30	9,70	11,30	15,00	16,00	29,85	0,00
	2	8,30	9,70	11,30	15,00	16,00	29,85	0,00
	3	8,30	9,70	11,30	15,00	16,00	29,85	0,00
2	1	8,32	9,72	11,32	15,03	16,00	29,85	0,00
	2	8,32	9,72	11,32	15,03	16,00	29,85	0,00
	3	8,32	9,72	11,32	15,03	16,00	29,84	0,00
3	1	8,30	9,72	11,30	15,01	16,00	30,00	0,00
	2	8,30	9,72	11,30	15,01	16,00	30,00	0,00
	3	8,30	9,72	11,30	15,01	16,00	30,02	0,00

- p. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Rata-rata Residu Daun Gempol (*Nauclea orientalis* L.) terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%	K +	K -
1	8,30	9,70	11,30	15,00	16,00	29,85	0,00
2	8,32	9,72	11,32	15,03	16,00	29,85	0,00
3	8,30	9,72	11,30	15,01	16,00	30,01	0,00
Rata-rata	8,31	9,71	11,31	15,01	16,00	29,90	0,00
SD	0,01	0,01	0,01	0,02	0,00	0,09	0,00
CV	0,12	0,10	0,09	0,13	0,00	0,30	0,00

Lampiran 4.7 Analisis Hasil Statistik

- a. Tabel hasil analisis statistik uji *Mann-Whitney* sampel yang berbeda dengan konsentrasi yang sama terhadap bakteri *E. coli*

No.	Kelompok Uji	Nilai signifikansi (<i>p</i>)
1.	Ekstrak etanol 0,25% dan fraksi heksana 0,25%	0,043
2.	Ekstrak etanol 0,25% dan fraksi etil asetat 0,25%	0,037
3.	Ekstrak etanol 0,25% dan residu 0,25%	0,034
4.	Fraksi heksana 0,25% dan fraksi etil asetat 0,25%	0,046
5.	Fraksi heksana 0,25% dan residu 0,25%	0,043
6.	Fraksi etil asetat 0,25% dan residu 0,25%	0,046
7.	Ekstrak etanol 0,5% dan fraksi heksana 0,5%	0,050
8.	Ekstrak etanol 0,5% dan fraksi etil asetat 0,5%	0,046
9.	Ekstrak etanol 0,5% dan residu 0,5%	0,050
10.	Fraksi heksana 0,5% dan fraksi etil asetat 0,5%	0,046
11.	Fraksi heksana 0,5% dan residu 0,5%	0,050
12.	Fraksi etil asetat 0,5% dan residu 0,5%	0,046
13.	Ekstrak etanol 1% dan fraksi heksana 1%	0,046
14.	Ekstrak etanol 1% dan fraksi etil asetat 1%	0,050
15.	Ekstrak etanol 1% dan residu 1%	0,046
16.	Fraksi heksana 1% dan fraksi etil asetat 1%	0,246
17.	Fraksi heksana 1% dan residu 1%	0,043
18.	Fraksi etil asetat 1% dan residu 1%	0,046
19.	Ekstrak etanol 2% dan fraksi heksana 2%	0,050
20.	Ekstrak etanol 2% dan fraksi etil asetat 2%	0,037
21.	Ekstrak etanol 2% dan residu 2%	0,046
22.	Fraksi heksana 2% dan fraksi etil asetat 2%	0,037
23.	Fraksi heksana 2% dan residu 2%	0,046
24.	Fraksi etil asetat 2% dan residu 2%	0,034
25.	Ekstrak etanol 5% dan fraksi heksana 5%	0,046
26.	Ekstrak etanol 5% dan fraksi etil asetat 5%	0,046

27.	Ekstrak etanol 5% dan residu 5%	0,050
28.	Fraksi heksana 5% dan fraksi etil asetat 5%	0,043
29.	Fraksi heksana 5% dan residu 5%	0,046
30.	Fraksi etil asetat 5% dan residu 5%	0,046

b. Tabel hasil analisis statistik uji *Mann-Whitney* sampel yang berbeda dengan konsentrasi yang sama terhadap bakteri *S. aureus*

No.	Kelompok Uji	Nilai signifikansi (<i>p</i>)
1.	Ekstrak etanol 0,25% dan fraksi heksana 0,25%	0,037
2.	Ekstrak etanol 0,25% dan fraksi etil asetat 0,25%	0,034
3.	Ekstrak etanol 0,25% dan residu 0,25%	0,034
4.	Fraksi heksana 0,25% dan fraksi etil asetat 0,25%	0,178
5.	Fraksi heksana 0,25% dan residu 0,25%	0,046
6.	Fraksi etil asetat 0,25% dan residu 0,25%	0,043
7.	Ekstrak etanol 0,5% dan fraksi heksana 0,5%	0,046
8.	Ekstrak etanol 0,5% dan fraksi etil asetat 0,5%	0,043
9.	Ekstrak etanol 0,5% dan residu 0,5%	0,043
10.	Fraksi heksana 0,5% dan fraksi etil asetat 0,5%	0,046
11.	Fraksi heksana 0,5% dan residu 0,5%	0,046
12.	Fraksi etil asetat 0,5% dan residu 0,5%	0,043
13.	Ekstrak etanol 1% dan fraksi heksana 1%	0,376
14.	Ekstrak etanol 1% dan fraksi etil asetat 1%	0,046
15.	Ekstrak etanol 1% dan residu 1%	0,046
16.	Fraksi heksana 1% dan fraksi etil asetat 1%	0,046
17.	Fraksi heksana 1% dan residu 1%	0,046
18.	Fraksi etil asetat 1% dan residu 1%	0,043
19.	Ekstrak etanol 2% dan fraksi heksana 2%	0,121
20.	Ekstrak etanol 2% dan fraksi etil asetat 2%	0,043
21.	Ekstrak etanol 2% dan residu 2%	0,046
22.	Fraksi heksana 2% dan fraksi etil asetat 2%	0,046

23.	Fraksi heksana 2% dan residu 2%	0,050
24.	Fraksi etil asetat 2% dan residu 2%	0,046
25.	Ekstrak etanol 5% dan fraksi heksana 5%	0,050
26.	Ekstrak etanol 5% dan fraksi etil asetat 5%	0,050
27.	Ekstrak etanol 5% dan residu 5%	0,037
28.	Fraksi heksana 5% dan fraksi etil asetat 5%	0,037
29.	Fraksi heksana 5% dan residu 5%	0,037
30.	Fraksi etil asetat 5% dan residu 5%	0,025

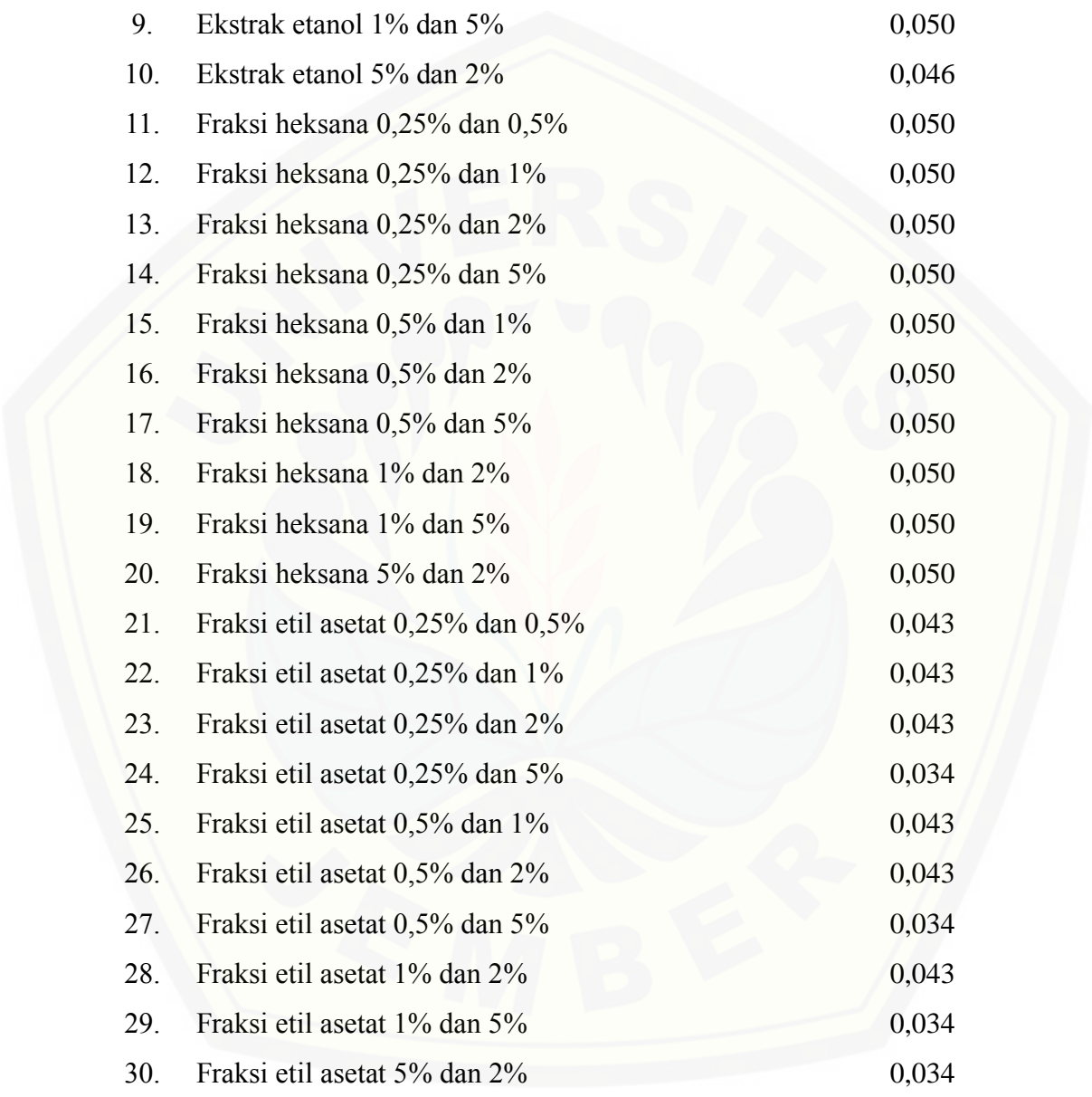
c. Tabel hasil analisis statistik uji *Mann-Whitney* sampel yang sama dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *E. coli*

No.	Kelompok Uji	Nilai signifikansi (<i>p</i>)
1.	Ekstrak etanol 0,25% dan 0,5%	0,037
2.	Ekstrak etanol 0,25% dan 1%	0,037
3.	Ekstrak etanol 0,25% dan 2%	0,037
4.	Ekstrak etanol 0,25% dan 5%	0,037
5.	Ekstrak etanol 0,5% dan 1%	0,050
6.	Ekstrak etanol 0,5% dan 2%	0,050
7.	Ekstrak etanol 0,5% dan 5%	0,050
8.	Ekstrak etanol 1% dan 2%	0,050
9.	Ekstrak etanol 1% dan 5%	0,050
10.	Ekstrak etanol 5% dan 2%	0,050
11.	Fraksi heksana 0,25% dan 0,5%	0,046
12.	Fraksi heksana 0,25% dan 1%	0,043
13.	Fraksi heksana 0,25% dan 2%	0,046
14.	Fraksi heksana 0,25% dan 5%	0,043
15.	Fraksi heksana 0,5% dan 1%	0,046
16.	Fraksi heksana 0,5% dan 2%	0,050
17.	Fraksi heksana 0,5% dan 5%	0,046
18.	Fraksi heksana 1% dan 2%	0,046

19.	Fraksi heksana 1% dan 5%	0,043
20.	Fraksi heksana 5% dan 2%	0,046
21.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 0,5%	0,046
22.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 1%	0,050
23.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 2%	0,037
24.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 5%	0,046
25.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 1%	0,046
26.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 2%	0,034
27.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 5%	0,043
28.	Fraksi etil asetat 1% dan 2%	0,037
29.	Fraksi etil asetat 1% dan 5%	0,046
30.	Fraksi etil asetat 5% dan 2%	0,034
31.	Residu 0,25% dan 0,5%	0,046
32.	Residu 0,25% dan 1%	0,043
33.	Residu 0,25% dan 2%	0,043
34.	Residu 0,25% dan 5%	0,046
35.	Residu 0,5% dan 1%	0,046
36.	Residu 0,5% dan 2%	0,046
37.	Residu 0,5% dan 5%	0,050
38.	Residu 1% dan 2%	0,043
39.	Residu 1% dan 5%	0,046
40.	Residu 5% dan 2%	0,046

d. Tabel hasil analisis statistik uji *Mann-Whitney* sampel yang sama dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *S. aureus*

No.	Kelompok Uji	Nilai signifikansi (<i>p</i>)
1.	Ekstrak etanol 0,25% dan 0,5%	0,034
2.	Ekstrak etanol 0,25% dan 1%	0,037
3.	Ekstrak etanol 0,25% dan 2%	0,034
4.	Ekstrak etanol 0,25% dan 5%	0,037



5.	Ekstrak etanol 0,5% dan 1%	0,046
6.	Ekstrak etanol 0,5% dan 2%	0,043
7.	Ekstrak etanol 0,5% dan 5%	0,046
8.	Ekstrak etanol 1% dan 2%	0,046
9.	Ekstrak etanol 1% dan 5%	0,050
10.	Ekstrak etanol 5% dan 2%	0,046
11.	Fraksi heksana 0,25% dan 0,5%	0,050
12.	Fraksi heksana 0,25% dan 1%	0,050
13.	Fraksi heksana 0,25% dan 2%	0,050
14.	Fraksi heksana 0,25% dan 5%	0,050
15.	Fraksi heksana 0,5% dan 1%	0,050
16.	Fraksi heksana 0,5% dan 2%	0,050
17.	Fraksi heksana 0,5% dan 5%	0,050
18.	Fraksi heksana 1% dan 2%	0,050
19.	Fraksi heksana 1% dan 5%	0,050
20.	Fraksi heksana 5% dan 2%	0,050
21.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 0,5%	0,043
22.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 1%	0,043
23.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 2%	0,043
24.	Fraksi etil asetat 0,25% dan 5%	0,034
25.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 1%	0,043
26.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 2%	0,043
27.	Fraksi etil asetat 0,5% dan 5%	0,034
28.	Fraksi etil asetat 1% dan 2%	0,043
29.	Fraksi etil asetat 1% dan 5%	0,034
30.	Fraksi etil asetat 5% dan 2%	0,034
31.	Residu 0,25% dan 0,5%	0,043
32.	Residu 0,25% dan 1%	0,043
33.	Residu 0,25% dan 2%	0,046
34.	Residu 0,25% dan 5%	0,034
35.	Residu 0,5% dan 1%	0,043

36.	Residu 0,5% dan 2%	0,046
37.	Residu 0,5% dan 5%	0,034
38.	Residu 1% dan 2%	0,046
39.	Residu 1% dan 5%	0,034
40.	Residu 5% dan 2%	0,037

e. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu Daun Gempol terhadap *E. Coli*

Tests of Normality ^{a,c}							
	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter hambat	konsentrasi ekstrak 0,5%	,253	3	.	,964	3	,637
	konsentrasi ekstrak 1%	,269	3	.	,949	3	,567
	konsentrasi ekstrak 2%	,328	3	.	,871	3	,298
	konsentrasi ekstrak 5 %	,219	3	.	,987	3	,780
	konsentrasi fraksi heksana 0,25 %	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi heksana 0,5%	,292	3	.	,923	3	,463
	konsentrasi fraksi heksana 1%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi heksana 2%	,376	3	.	,773	3	,051
	konsentrasi fraksi heksana 5%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 0,25%	,269	3	.	,949	3	,567
	konsentrasi fraksi etil asetat 0,5%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 1%	,276	3	.	,942	3	,537

konsentrasi fraksi etil asetat 5%	,385	3	.	,750	3	,000
konsentrasi residu 0,25%	,385	3	.	,750	3	,000
konsentrasi residu 0,5%	,175	3	.	1,000	3	1,000
konsentrasi residu 1%	,385	3	.	,750	3	,000
konsentrasi residu 2%	,385	3	.	,750	3	,000
konsentrasi residu 5%	,253	3	.	,964	3	,637

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter hambatan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9,435	19	40	,000

- f. Uji *Kruskal-Wallis* Diameter Zona Hambatan Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu Daun Gempol terhadap *E. Coli*

Test Statistics ^{a,b}	
	Diameter hambatan
Chi-Square	58,862
df	19
Asymp. Sig.	,000
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: Konsentrasi	

- g. Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu Daun Gempol terhadap *S. aureus*

Tests of Normality ^{a,c,d}							
	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter hambat	konsentrasi ekstrak 0,5%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi ekstrak 1%	,333	3	.	,862	3	,274
	konsentrasi ekstrak 2%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi ekstrak 5%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	konsentrasi fraksi heksana 0,25%	,343	3	.	,842	3	,220
	konsentrasi fraksi heksana 0,5%	,219	3	.	,987	3	,780
	konsentrasi fraksi heksana 1%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	konsentrasi fraksi heksana 2%	,241	3	.	,974	3	,688
	konsentrasi fraksi heksana 5%	,328	3	.	,871	3	,298
	konsentrasi fraksi etil asetat 0,25%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 0,5%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 1%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 2%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi residu 0,25%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi residu 0,5%	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi residu 1%	,385	3	.	,750	3	,000

	konsentrasi residu 2%	,253	3	.	,964	3	,637
--	--------------------------	------	---	---	------	---	------

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter hambatan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,164	19	40	,000

- h. Uji *Kruskal-Wallis* Diameter Zona Hambatan Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu Daun Gempol terhadap *S. aureus*

Test Statistics ^{a,b}	
	Diameter hambatan
Chi-Square	58,752
df	19
Asymp. Sig.	,000
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: konsentrasi	

- i. Uji Analisis Data *Mann-Whitney* diameter zona hambatan sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap *E. coli*
- Ekstrak etanol dengan fraksi heksana

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-1,964	-1,993	-1,964	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,050	,046	,050	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

2. Ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat

Test Statistics^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-1,993	-1,964	-2,087	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,046	,050	,037	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

3. Ekstrak etanol dengan residu

Test Statistics^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-1,964	-1,993	-1,993	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,050	,046	,046	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4. Fraksi heksana dengan fraksi etil asetat

Test Statistics^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	2,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	8,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,993	-1,159	-2,087	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,246	,037	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,400 ^b	,100 ^b	,100 ^b

5. Fraksi heksana dengan residu

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,023	-1,964	-2,023	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,050	,043	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

6. Fraksi etil asetat dengan residu

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,993	-1,993	-2,121	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,046	,034	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

j. Uji Analisis Data *Mann-Whitney* diameter zona hambat sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap *S. aureus*

1. Ekstrak etanol dengan fraksi heksana

Test Statistics ^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	2,500	1,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	8,500	7,000	6,000
Z	-2,087	-1,993	-,886	-1,550	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,046	,376	,121	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,400 ^b	,200 ^b	,100 ^b

2. Ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat

Test Statistics ^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-2,023	-1,993	-2,023	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,043	,046	,043	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

3. Ekstrak etanol dengan residu

Test Statistics ^a					
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-2,023	-1,993	-1,993	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,043	,046	,046	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4. Fraksi heksana dengan fraksi etil asetat

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	1,500	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	7,500	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,348	-1,993	-1,993	-1,993	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,178	,046	,046	,046	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

5. Fraksi heksana dengan residu

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,993	-1,993	-1,964	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,046	,050	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

6. Fraksi etil asetat dengan residu

	Test Statistics ^a				
	0,25%	0,5%	1%	2%	5%
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,023	-2,023	-2,023	-1,993	-2,236
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,043	,043	,046	,025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

k. Uji Analisis Data *Mann-Whitney* diameter zona hambat sampel yang sama pada konsentrasi berbeda terhadap bakteri *E. coli*

1. Konsentrasi 0,25% dengan 0,5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-1,993	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,046	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

2. Konsentrasi 0,25% dengan 1%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-2,023	-1,964	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,043	,050	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

3. Konsentrasi 0,25% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-1,993	-2,087	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,046	,037	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4. Konsentrasi 0,25% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-2,023	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,043	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

5. Konsentrasi 0,5% dengan 1%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,993	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

6. Konsentrasi 0,5% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,964	-2,121	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,050	,034	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

7. Konsentrasi 0,5% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,993	-2,023	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,043	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

8. Konsentrasi 1% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,993	-2,087	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,037	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

9. Konsentrasi 1% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-2,023	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,043	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

10. Konsentrasi 2% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,993	-2,121	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,034	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

1. Uji Analisis Data *Mann-Whitney* diameter zona hambat sampel yang sama pada konsentrasi berbeda terhadap bakteri *S. aureus*

1. Konsentrasi 0,25% dengan 0,5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-1,964	-2,023	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,050	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

2. Konsentrasi 0,25% dengan 1%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-1,964	-2,023	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,050	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

3. Konsentrasi 0,25% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-1,964	-2,023	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,050	,043	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4. Konsentrasi 0,25% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,087	-1,964	-2,121	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,050	,034	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

5. Konsentrasi 0,5% dengan 1%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,964	-2,023	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,050	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

6. Konsentrasi 0,5% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,023	-1,964	-2,023	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,050	,043	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

7. Konsentrasi 0,5% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,964	-2,121	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,050	,034	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

8. Konsentrasi 1% dengan 2%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,964	-2,023	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,050	,043	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

9. Konsentrasi 1% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,964	-1,964	-2,121	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,050	,034	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

10. Konsentrasi 2% dengan 5%

Test Statistics^a

	Ekstrak Etanol	Fraksi Heksana	Fraksi Etil Asetat	Residu
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-1,964	-2,121	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,050	,034	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b