



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAN
FRAKSI DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) TERHADAP
*Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Oleh:

Marwah Utama

NIM 152210101114

BAGIAN BIOLOGI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAN
FRAKSI DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) TERHADAP**

Streptococcus mutans

SKRIPSI

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

Oleh:

Marwah Utama

NIM 152210101114

BAGIAN BIOLOGI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

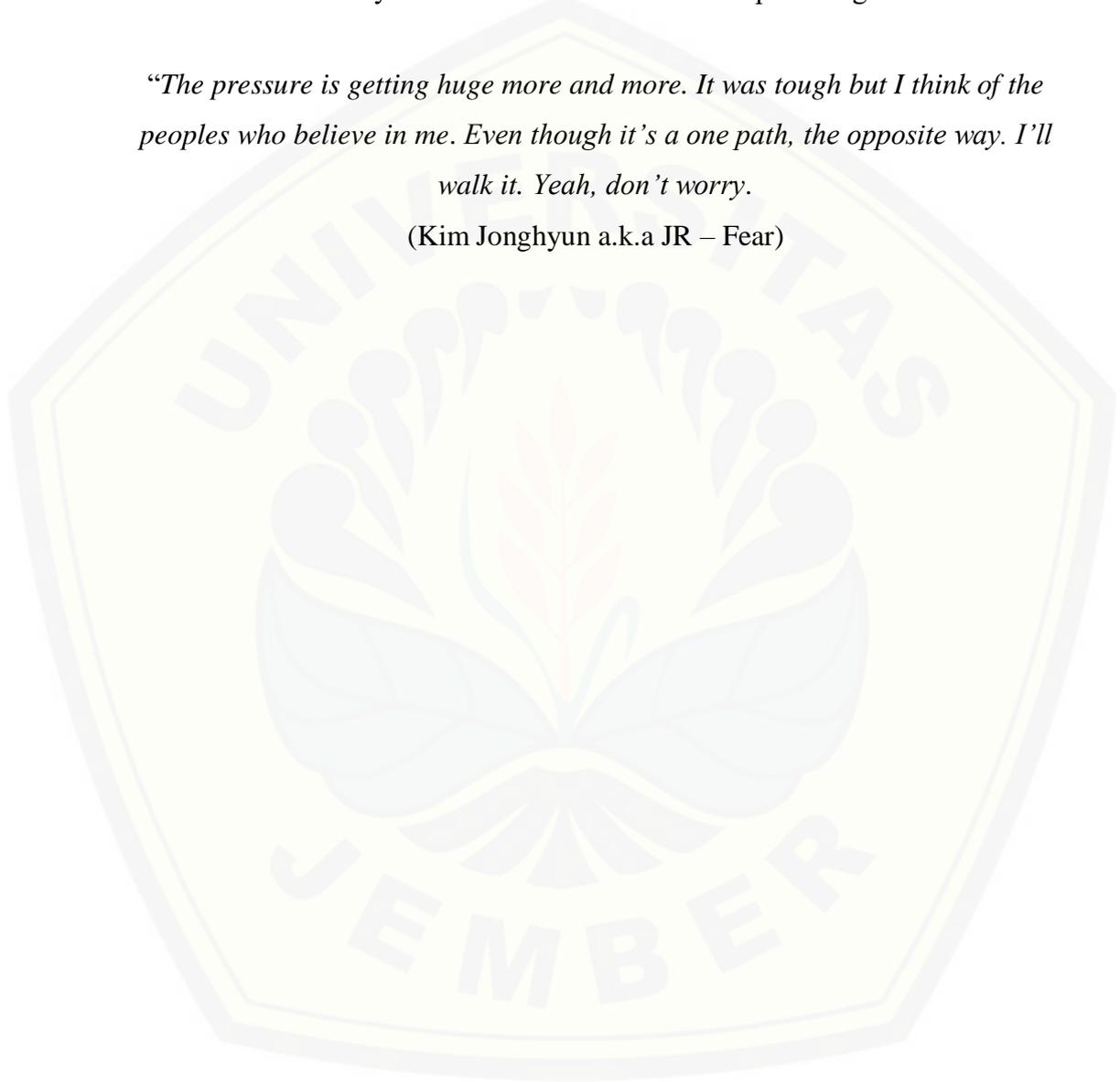
1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, rahmat dan kasih sayang-Nya kepada setiap hamba-Nya dan Rasulullah SAW yang senantiasa menjadi panutan bagi seluruh umat.
2. Keluarga tercinta Ayahku Darliswan dan Ibuku Nurlaili yang dengan sepenuh hati mencintai, mendidik, dan mendukung anak-anaknya dalam mencapai cita-cita, serta kakak dan adikku Wo Rima, Cudo Nisa dan Udo Nabil yang selalu memberikan dukungan terbaiknya.
3. Guru-guru sejak TK hingga SMA, Dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan pengalaman hidup terbaik.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Tidak ada daya dan kekuatan melainkan atas pertolongan Allah”

“The pressure is getting huge more and more. It was tough but I think of the peoples who believe in me. Even though it’s a one path, the opposite way. I’ll walk it. Yeah, don’t worry.

(Kim Jonghyun a.k.a JR – Fear)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Marwah Utama

NIM : 152210101114

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap *Streptococcus mutans*" 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, 28 Oktober 2019

Yang menyatakan,

Marwah Utama

NIM 152210101114

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL
DAN FRAKSI DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth)
TERHADAP *Streptococcus mutans***

Oleh:

Marwah Utama

NIM 152210101114

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap *Streptococcus mutans*” karya Marwah Utama telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 28 Oktober 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP 198201292009121003

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP 198107232006042002

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt Nuri, S.Si., M.Si., Apt.

NIP 198407122008122002

NIP196904122001121007

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap *Streptococcus mutans*; Marwah Utama; 152210101114; 54 halaman; Fakultas Farmasi; Universitas Jember.

Karies gigi adalah penyakit gigi yang tingkat kejadiannya cukup besar. Karies disebabkan oleh mikroorganisme yang memfermentasi gula sehingga menghasilkan asam. *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama dari karies pada gigi. *S. mutans* umumnya terdapat pada plak gigi dan dapat memproduksi glukosa untuk membentuk plak gigi. Terapi karies umumnya menggunakan antikaries berupa *fluoride* yang berperan untuk remineralisasi dan aksi antarmuka. Namun penggunaan *fluoride* konsentrasi tinggi masih ditemukan bakteri. Penggunaan *fluoride* bersama dengan agen antimikroba lebih direkomendasikan.

Saat ini ketertarikan masyarakat terhadap pengobatan menggunakan bahan alam semakin meningkat dengan adanya tren *back to nature*. Salah satu tanaman yang memiliki berbagai macam manfaat adalah kenikir. Secara etnobotani ekstrak kenikir di Jawa Timur digunakan untuk memperbaiki aliran darah dan meningkatkan kepadatan mineral tulang. Di Malaysia kenikir dibuat menjadi olahan salad yang dipercaya berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit infeksi. Kenikir juga bermanfaat sebagai antibakteri. Kenikir juga diketahui memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, tanin dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antimikroba.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak dan fraksi dari daun kenikir. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan pelarut metanol dan metode maserasi. Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol-air. Pada penelitian ini juga dilakukan skrining fitokimia dengan menggunakan metode KLT pada semua larutan uji yang dipakai pada penelitian ini.

Uji aktivitas antibakteri untuk semua larutan uji dilakukan dengan metode difusi sumuran. Hasil yang didapatkan berupa terbentuknya zona bening disekitar lubang sumuran yang menandakan adanya aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri. Larutan uji yang dipakai yaitu pada konsentrasi 1, 2, 5, dan 10 %. Kontrol positif kloramfenikol digunakan untuk memastikan bahwa hasil yang didapatkan adalah benar. Penelitian ini dilakukan dengan menginkubasi bakteri *S. mutans* dengan suhu 37°C selama 18 jam di dalam inkubator. Hasil yang didapatkan kemudian diukur menggunakan jangka sorong dan dilakukan analisis data. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini yaitu fraksi etil asetat dari daun kenikir memiliki aktivitas paling besar dalam menghambat pertumbuhan dari *S. mutans*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap *Streptococcus mutans*”. 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. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua Ayahku Darliswan dan Ibuku Nurlaili yang dengan sepenuh hati membesarkan, mendidik, mendo’akan dan mendukung setiap langkah dalam hidup penulis. Terimakasih ini mungkin belum cukup dan bahkan tidak akan pernah cukup membalas segala bentuk kasih sayang yang telah diberikan selama ini dan juga kedepannya;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bapak Antonius Nugraha Widhi P, S.Farm., Apt., M.P.H. selaku Dosen Pembimbing Akademik, terimakasih telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama menjadi mahasiswa;
4. Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota, terimakasih telah dengan ikhlas memberikan segenap waktu dan pikiran untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Nuri, S.Si., M.Si., Apt. selaku Dosen Penguji II, terimakasih atas saran, kritik dan bimbingan yang diberikan demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Ibu Widya Trinanda, S.T. dan Ibu Parka Agnita selaku teknisi Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, terimakasih atas bantuan dan bimbingannya selama melakukan penelitian skripsi ini;
7. Teman-teman seperjuangan Mahasiswa Fakultas Farmasi Angkatan 2015 LIBITUM, terimakasih atas kekeluargaan, dukungan dan motivasi yang

diberikan selama menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

8. Partner penelitian Cosmos squad Syarif, Icha dan Meranti, terimakasih atas segala bentuk bantuan, dukungan, semangat, dan motivasi yang diberikan. Mohon maaf apabila belum bisa menjadi partner yang baik selama penelitian. Terimakasih telah menguatkan disegala kondisi;
9. Sahabatku tercinta Nut dan Iyol yang selalu menjadi rumah untuk segala suka duka dan keluh kesahku.
10. Teman-teman ISMALA (Ikatan Sekelik Mahasiswa Lampung) yang menjadi keluargaku di Jember, terimakasih telah menjadi penawar saat rindu pulang ke Lampung;
11. Keluarga besar BPM Fakultas Farmasi dan UKMO Fassenden yang telah menjadi tempat belajar berbagai hal selama di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
12. Teman –teman DISPENSER (Dua Belas Ipa Satu Penuh Semangat dan Energik) yang masih terus saling mendukung satu sama lain hingga saat ini;
13. Bapak dan Ibu guru SDN 1 Sumber Agung, SMPN 1 Ngambur, dan SMAN 7 Bandar Lampung yang telah dengan tulus memberikan ilmu, sehingga penulis dapat menempuh pendidikan hingga saat ini
14. Serta seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih telah membantu setiap proses dalam penyelesaian skripsi ini

Jember, 28 Oktober 2018

Penulis

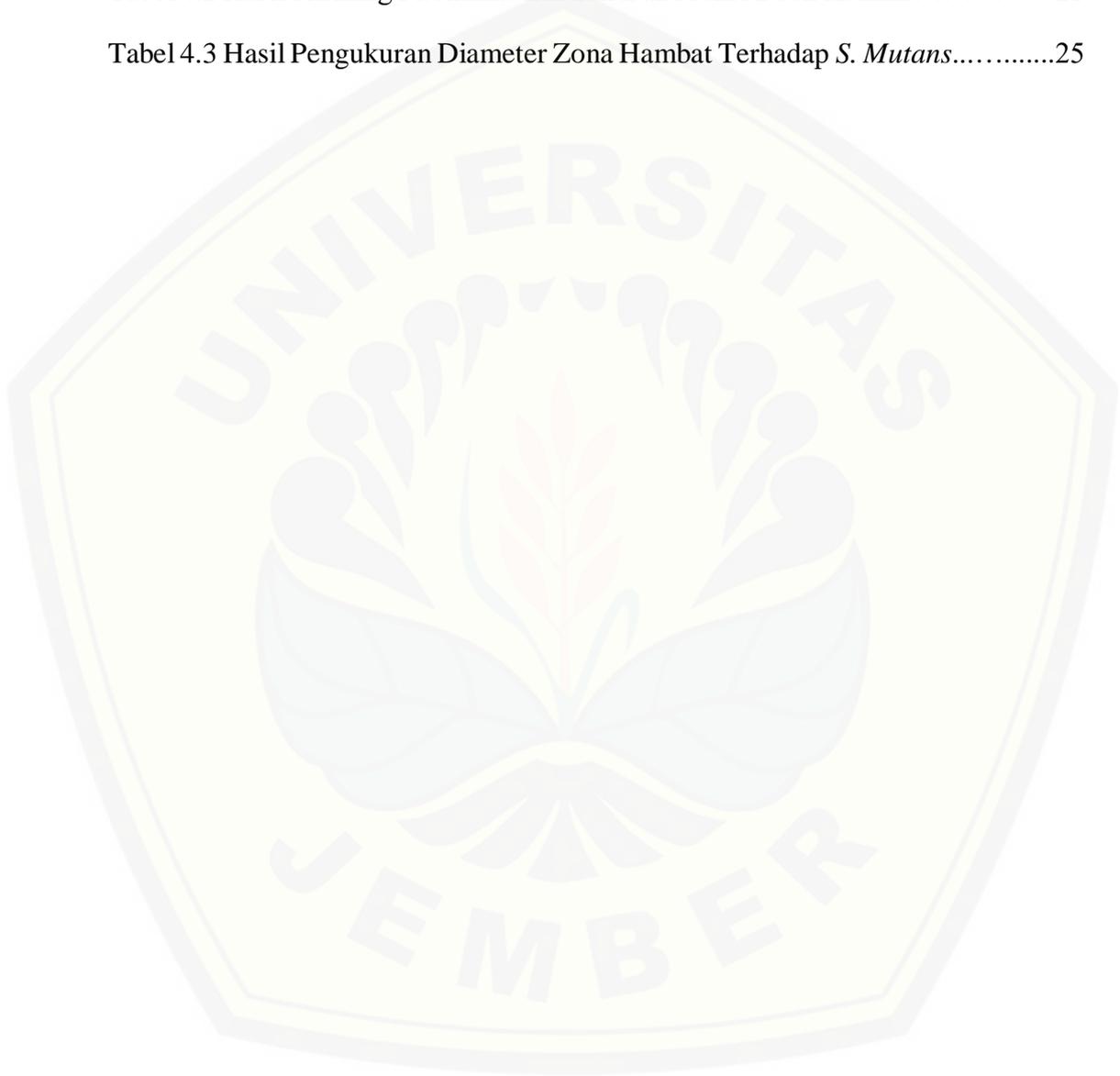
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Penyakit Karies Gigi	4
2.2. Tinjauan Bakteri <i>S. mutans</i>	4
2.3. Tinjauan Tanaman Kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth)	5
2.3.1 Klasifikasi Tanaman Kenikir.....	5
2.3.2 Deskripsi Tanaman Kenikir.....	6
2.3.3 Kandungan Kimia Daun Kenikir	6
2.3.4 Penelitian Terkait Kenikir	7
2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi dan Fraksinasi	7
2.5 Tinjauan Metode Uji Antibakteri	8
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	10
3.1 Jenis Penelitian	10

3.3 Alat dan Bahan	10
3.3.1 Alat.....	10
3.3.2 Bahan.....	10
3.5 Variabel Penelitian	11
3.5.2 Variabel Bebas.....	11
3.5.3 Variabel Terkendali	12
3.6 Definisi Operasional	12
3.7 Skema Penelitian	13
3.8 Prosedur Kerja.....	13
3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir	13
3.8.2 Fraksinasi Ekstrak Daun Kenikir	14
3.8.3 Skrining Fitokimia Metode KLT	15
3.8.4 Uji Aktivitas Antibakteri	17
3.8.5 Analisis Data	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Ekstraksi dan Fraksinasi	20
4.2 Skrining Fitokimia.....	20
4.3 Uji Antibakteri.....	21
BAB 5. KESIMPULAN.....	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kenikir.....	20
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Dan Fraksi Daun Kenikir.....	21
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Terhadap <i>S. Mutans</i>	25



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	5
Gambar 2.2 Tanaman Kenikir.....	6
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	12
Gambar 3.2 Skema Alur Penelitian.....	13
Gambar 3.3 Skema Alur Fraksinasi Daun <i>Cosmos caudatus</i> Kunth	15
Gambar 3.4 Desain Uji Antibakteri Metode Difusi Sumuran	19
Gambar 4.1 Hasil Skrining Fitokimia	22
Gambar 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Sertifikat Hasil Determinasi Tanaman Kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth)	30
Lampiran B. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> Kunth).....	31
Lampiran C. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir Terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	33
Lampiran D. Hasil Analisis Data Statistik Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir Terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	34

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi adalah penyakit gigi yang tingkat kejadiannya cukup besar (Forssten dkk., 2010). Data pada tahun 2011 - 2012 menunjukkan bahwa di Amerika Serikat tingkat kejadian karies adalah sebesar 91 % (Dye dkk., 2015). Pada tahun 2013 di Indonesia persentasenya adalah 76,2% dengan angka kejadian terbesar di Provinsi Bangka Belitung (PDGI, 2016). Karies disebabkan oleh mikroorganisme yang memfermentasi gula sehingga menghasilkan asam (Xuedong, 2016). Asam tersebut mengakibatkan kehilangan mineral pada gigi (Eden, 2016). *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama dari karies pada gigi (Manuchair, 2003). *S. mutans* umumnya terdapat pada plak gigi dan dapat memproduksi glukukan untuk membentuk plak gigi (Rohilla, 2010).

Terapi karies umumnya menggunakan antikaries berupa *fluoride* yang berperan untuk remineralisasi dan aksi antarmuka. Namun penggunaan *fluoride* konsentrasi tinggi masih ditemukan bakteri. Penggunaan *fluoride* bersama dengan agen antimikroba lebih direkomendasikan (Wassel dan Khattab, 2017).

Tanaman merupakan salah satu bahan untuk memenuhi kebutuhan pokok manusia. Salah satu manfaat tanaman adalah sebagai bahan obat. Ada sekitar 40.000 jenis tanaman obat diseluruh dunia (Ramawat, 2008). Indonesia dikenal sebagai *Live laboratory* karena terdapat 30.000 jenis tanaman obat. Saat ini ketertarikan masyarakat terhadap pengobatan menggunakan bahan alam semakin meningkat dengan adanya tren *back to nature*. Istilah tersebut berkaitan dengan pola hidup masyarakat yang beralih menggunakan bahan alam sebagai pengobatan terhadap penyakit (Salim, 2017).

Tanaman umumnya dianggap lebih aman dan efektif. Tetapi banyak khasiat dari tanaman yang belum terbukti secara ilmiah. Salah satu tanaman yang memiliki berbagai macam manfaat adalah kenikir. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) merupakan famili *Asteraceace* (ITIS, 2019a). Kenikir atau ulam raja (melayu) adalah tanaman perdu yang hidup di daerah tropis. Secara etnobotani ekstrak

kenikir di Jawa Timur digunakan untuk memperbaiki aliran darah dan meningkatkan kepadatan mineral tulang. Di Malaysia kenikir dibuat menjadi olahan salad yang dipercaya berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit infeksi (Bunawan dkk., 2014). Kenikir juga bermanfaat sebagai antibakteri (Lutpiatina dkk., 2017).

Ditinjau dari kandungan yang ada di dalamnya seperti saponin, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, dan terpenoid, kenikir berpotensi memiliki potensi sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian, ekstrak etanol pada konsentrasi 30%, 40 %, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% (b/v) dari daun kenikir menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus* (Dwiyanti dkk., 2014). Ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dari kenikir dilaporkan memiliki aktivitas menghambat pada pertumbuhan *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Rasdi dkk., 2010). Berdasarkan penelitian dari Chotiah (2015) diketahui bahwa ekstrak etanol dari daun kenikir memiliki aktivitas menghambat pada konsentrasi 2% terhadap bakteri *S. mutans* dan konsentrasi 0,5% terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya dan kandungan senyawa aktif yang ada didalam daun kenikir, menjadi dasar untuk dilakukannya penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi daun kenikir terhadap bakteri *S. mutans*. Selain itu berdasarkan penelitian sebelumnya, hanya dilakukan penelitian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak dari daun kenikir terhadap *S. mutans*. Belum terdapat penelitian yang melakukan uji antibakteri menggunakan fraksi-fraksi dari daun kenikir terhadap *S. mutans*.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan ilmiah untuk pengembangan fraksi-fraksi dari ekstrak metanol daun kenikir sebagai antibakteri dari bahan alam terutama terhadap *S. mutans*. Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak metanol dan fraksi heksana, etil asetat dari daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans*?
2. Berapa diameter zona hambat dari ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat dari daun kenikir terhadap *S. mutans*?
3. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat dari daun kenikir terhadap *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat dari daun kenikir terhadap *S. mutans*.
2. Menentukan diameter zona hambat dari ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat daun kenikir terhadap *S. mutans*.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri yang paling baik antara ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat dari daun kenikir terhadap *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dari diharapkan dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan informasi ilmiah terkait potensi dari daun kenikir sebagai antibakteri alami.
2. Memberikan informasi ilmiah terkait fraksi yang paling aktif dari daun kenikir sebagai antibakteri terhadap *S. mutans*
3. Menjadi dasar penelitian selanjutnya untuk dapat mengembangkan obat baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Penyakit Karies Gigi

Karies merupakan penyakit umum dan merugikan yang terjadi pada gigi. Penyebab utamanya adalah mikroorganisme berupa bakteri (Manuchair, 2003). *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama karies gigi yang terdapat dalam jumlah banyak di mulut dan menempel pada plak gigi (Forssten dkk., 2010). *S. mutans* menyebabkan demineralisasi dan menghasilkan pH asam sehingga menimbulkan plak pada gigi (Xuedong, 2016). Prevalensi dari karies gigi cukup besar seperti di Amerika Serikat tahun 2011-2012 sebesar 91 % (Dye dkk., 2015), di Indonesia tahun 2013 sebesar 76,2 % (PDGI, 2016), Filipina tahun 2005 sebesar 92,3 % dan di Mexico tahun 2006 sebesar 90,2 % (Bagramian dkk., 2009).

2.2. Tinjauan Bakteri *S. mutans*

Klasifikasi bakteri *S. mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Posibacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i> (ITIS, 2019a)

Streptococcus mutans adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk bulat telur (Pelczar dan Chan, 1988). *S. mutans* berasal dari famili Streptococcus. *S. mutans* merupakan bakteri pada mukosa mulut, nasofaring dan ludah manusia (Gupte, 1990). Bakteri ini merupakan bakteri yang umum ditemukan di gigi terutama ada plak gigi. *S. mutans* dan *Streptococcus sanguis* menjadi penyebab

utama dari terjadinya karies pada gigi. *S. mutans* lebih kariogenik dibandingkan dengan *S. sanguis* dikarenakan *S. mutans* mampu mensintesis glukosa dari sukrosa dan memodifikasinya sehingga meningkatkan kemampuan untuk menempel pada gigi (Rohilla, 2010). *S. mutans* ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Bakteri *Streptococcus mutans* (Britannica.com, 2019)

2.3. Tinjauan Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)

2.3.1 Klasifikasi Tanaman Kenikir

Klasifikasi tanaman kenikir adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
 - Subkingdom : Viridiplantae
 - Infrakingdom : Steptotophyta
 - Superdivisi : Embryophyta
 - Divisi : Tracheophyta
 - Subdivisi : Spermatophytina
 - Kelas : Magnoliopsida
 - Subordo : Asteranae
 - Ordo : Asterales
 - Famili : Asteraceae
 - Genus : *Cosmos* cav.
 - Spesies : *Cosmos caudatus* Kunth
- (ITIS, 2019b)

2.3.2 Deskripsi Tanaman Kenikir

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) adalah famili *asteraceae* yang dapat tumbuh setinggi 1-8 kaki dengan bunga berwarna putih, ungu atau merah muda (Shui dkk., 2005). Bentuk batangnya pipa bergaris membujur. Tangkainya panjang dengan filotaksis yang berhadapan. Bunganya berbentuk bonggol dengan biji bentuk paruh (Noor dkk., 2018). Bagian atas dari daunnya berwarna hijau tua dan bagian bawahnya berwarna hijau muda. Tepi daunnya berbentuk bulat telur segitiga (Bunawan dkk., 2014). Tanaman kenikir ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tanaman kenikir (Sari dkk., 2018)

2.3.3 Kandungan Kimia Daun Kenikir

Kenikir secara empiris banyak digunakan masyarakat. Ditinjau secara fitokimia daun kenikir memiliki kandungan antioksidan berupa *proanthocyanidins* dan mengandung flavonol, flavon, antosianin, asam fenolat, fenol total, asam askorbat, β -karoten dan protein (Bunawan dkk., 2014). Kenikir juga diketahui memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, tanin dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antimikroba (Rasdi dkk., 2010).

2.3.4 Penelitian Terkait Kenikir

Kandungan senyawa dari daun kenikir memiliki berbagai aktivitas yang bermanfaat untuk dunia medis antarlain sebagai antidiabetes, antihipertensi, anti-inflamasi, proteksi tulang, antimikroba dan anti jamur (Cheng dkk., 2015). Berdasarkan penelitian Rasdi dkk (2010) melaporkan bahwa ekstrak etanol, n-heksana, dan dietil eter dari kenikir dengan konsentrasi 1, 20 dan 50 mg/mL memiliki daya menghambat pertumbuhan dari *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak etanol dan air dari daun kenikir menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang terdapat pada mie kuning diantaranya *Bacillus pumilus*, *Corynebacterium urealyticum*, *Enterobacter cloaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Serratia sciuri* dengan zona hambat yang bervariasi (Rosyid dkk., 2016) Ekstrak etanol dari daun kenikir dilaporkan mampu menghambat aktivitiitas pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 2% dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 0,5% (Chotiah, 2015).

2.4 Tinjauan Metode Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi adalah proses untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Depkes RI, 1995). Ekstrak merupakan hasil dari proses ekstraksi. Tujuannya adalah menstandarisasi kandungan yang ada sehingga menjamin keseragaman mutu, khasiat, dan juga keamanan produk akhir (Dirjen POM, 2000).

Metode ekstraksi yang umum digunakan untuk ekstraksi bahan alam diantaranya maserasi, ultrasonikasi, perkolasi, *soxhlet*, digesti, refluks, infusa, dan dekok (Sarker dan Nahar, 2012). Maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan pengadukan beberapa kali pada suhu ruang. Prosesnya dimulai dengan perendaman simplisia didalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup sambil diaduk beberapa kali. Maserasi tidak menggunakan panas sehingga aman digunakan untuk simplisia yang termolabil agar tidak rusak karena pemanasan (Azwanida, 2015).

Salah satu pelarut yang banyak digunakan dalam metode ekstraksi adalah metanol. Metanol dipilih karena termasuk pelarut yang banyak dipakai karena dapat melarutkan sebagian besar kandungan senyawa. Indeks polaritas metanol adalah 5,1. Metanol memiliki tetapan dielektrik yang besar yaitu 2,87 pada determinasi 20° C. Semakin besar tetapan dielektrik suatu pelarut, maka semakin besar pula kepolaran senyawa tersebut (Sarker dan Nahar, 2012). Golongan senyawa yang dapat larut dalam pelarut metanol yaitu terpenoid, saponin, tanin, flavon, polifenol, lakton, antosianin, dan kuasinoid (Tiwari dkk., 2011).

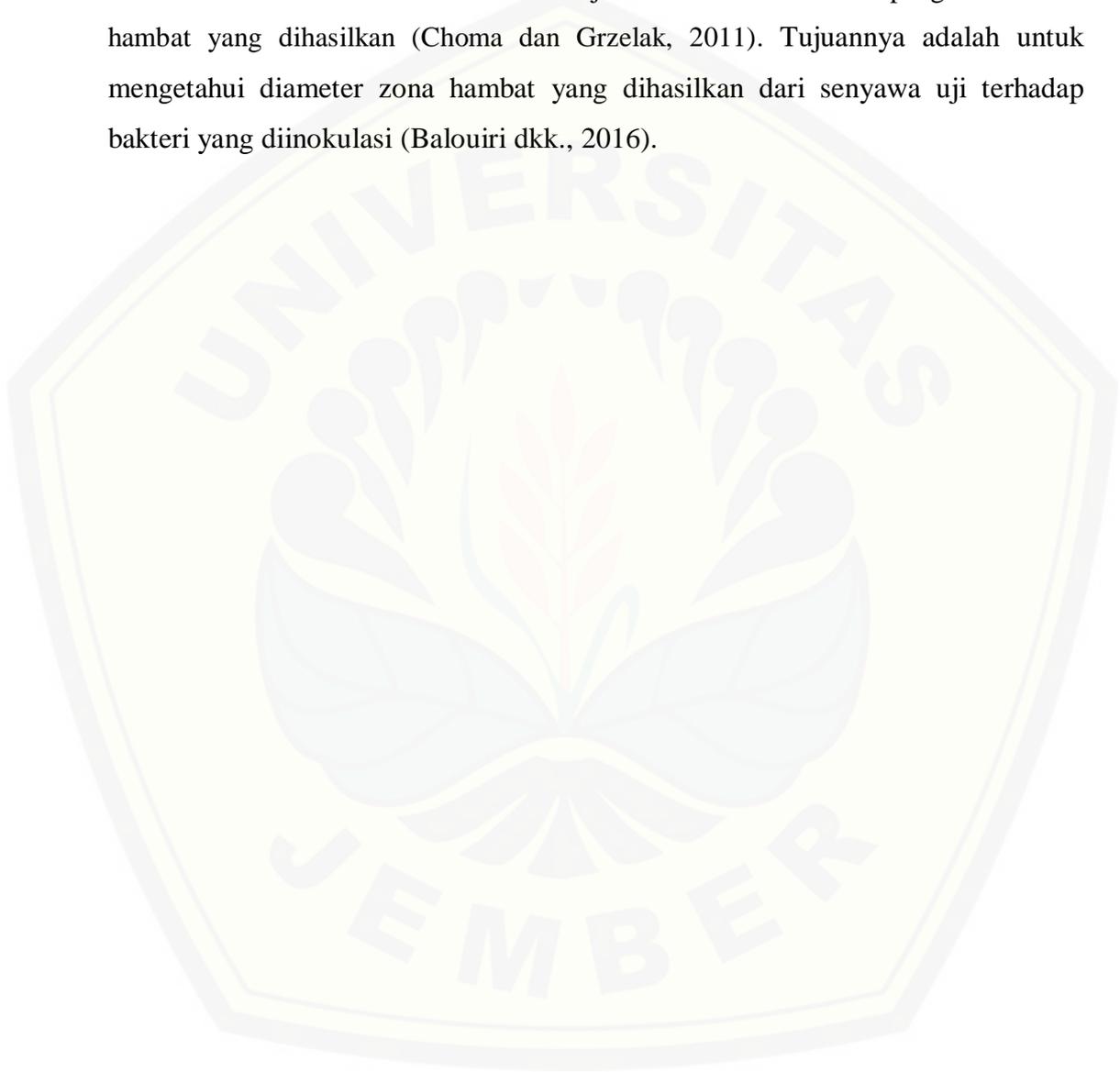
Fraksinasi merupakan pemisahan zat dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran senyawa. Proses fraksinasi dimulai dari yang kepolaran rendah hingga yang kepolarannya tinggi (non polar, semi polar, dan polar) berdasarkan hukum *like dissolve like* baik dengan metode kromatografi kolom maupun metode partisi cair-cair (*separatory funnel*) (Saifudin, 2014). Metode partisi cair-cair umumnya dilakukan karena tekniknya sederhana dan tidak memerlukan alat khusus. Pada partisi cair-cair, solven ditambahkan pada ekstrak yang terlarut di solven lain yang tidak bercampur satu sama lain, sehingga akan terbentuk dua lapisan (fase). Komponen-komponen yang terdapat dalam ekstrak akan terlarut pada kedua fase tersebut kemudian mencapai kesetimbangan konsentrasi pada kedua fase. Untuk mempercepat waktu kesetimbangan dapat dilakukan pengocokan (Houghton dan Raman, 2011).

2.5 Tinjauan Metode Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan langkah awal dalam melakukan penelitian dan pengembangan senyawa antibakteri baru. Tujuannya adalah untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri dari sampel yang diteliti. Ada tiga metode uji antibakteri yaitu metode bioautografi, dilusi, dan difusi (Valgas dkk., 2007).

Terdapat tiga jenis metode difusi antaralain metode difusi sumuran, cakram, dan silinder. Metode difusi sumuran umumnya dipilih karena mudah dan sederhana serta lebih ekonomis. Selain itu, zona hambat yang dihasilkan lebih mudah diukur karena larutan uji yang diberikan dapat berdifusi hingga kebagian bawah media

agar (Haryati dkk., 2017). Diameter sumuran yang digunakan ± 10 mm. Media agar yang sudah diberi bakteri hasil inokulasi kemudian dilubangi menggunakan alat khusus untuk lubang sumuran. Larutan uji kemudian dipipet dan dimasukkan kedalam lubang sumuran. Larutan uji akan berdifusi ke dalam media agar. Cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran zona hambat yang dihasilkan (Choma dan Grzelak, 2011). Tujuannya adalah untuk mengetahui diameter zona hambat yang dihasilkan dari senyawa uji terhadap bakteri yang diinokulasi (Balouiri dkk., 2016).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi daun kenikir terhadap *S.mutans* dilakukan dengan *True Experimental Laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dimulai pada bulan April 2019 hingga selesai.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Seperangkat alat gelas, spatula logam, corong pisah (Phyrex), *hot plate* (UC-152), timbangan analitik (Sartorius), *vortex* (Heidolph), *rotary evaporator* (Strike 300 Steroglass), oven (Memmert), *Laminar Air Flow* (Culus Listed 1384G), autoklaf (ALP), inkubator (Clifton), *filtering flask* (Duran), mikropipet 1000-100 μL dan 100-10 μL (Eppendorf), alat pembuat lubang sumuran, ose, pinset, *plastic wrap*, *buchner*, *rotary evaporator* (Heidolph), *spreader*, jangka sorong (Tricle Brand).

3.3.2 Bahan

Serbuk daun *Cosmos caudatus* Kunth, metanol yang didestilasi (Merck), akuades, n-heksana yang didestilasi (Merck), etil asetat yang didestilasi (Merck), kertas saring, *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, NaCl fisiologis, BaCl₂, H₂SO₄ pa, Media Mueller Hinton Agar bakteri (MHA) *Streptococcus mutans*, larutan kloramfenikol 50 $\mu\text{g/mL}$, dan DMSO.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol-air daun kenikir terhadap bakteri *S. mutans* dengan menggunakan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Pada rancangan penelitian ini dibuat dua kelompok uji, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akan dilakukan pengukuran diameter zona hambat.

Dilakukan maserasi serbuk untuk mendapatkan ekstrak cair daun kenikir dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah ekstrak terbentuk dilakukan fraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1:1 (v/v) dan dilakukan pengadukan. Setelah itu akan didapatkan hasil berupa fraksi n-heksana dan fase metanol-air. Kemudian dilakukan pemekatan, pengeringan dan penimbangan terhadap fraksinya. Fase metanol-airnya kemudian difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 (v/v) dan dilakukan pengadukan. Hasil yang didapatkan yaitu fraksi etil asetat dan fase metanol-air. Kemudian dilakukan pemekatan, pengeringan dan penimbangan terhadap fraksinya. Setelah itu lakukan pemekatan dan penimbangan. Setelah didapatkan fraksi dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi dari daun kenikir terhadap *S. mutans*. Gambar 3.1 menunjukkan rancangan dari penelitian yang akan dilakukan.

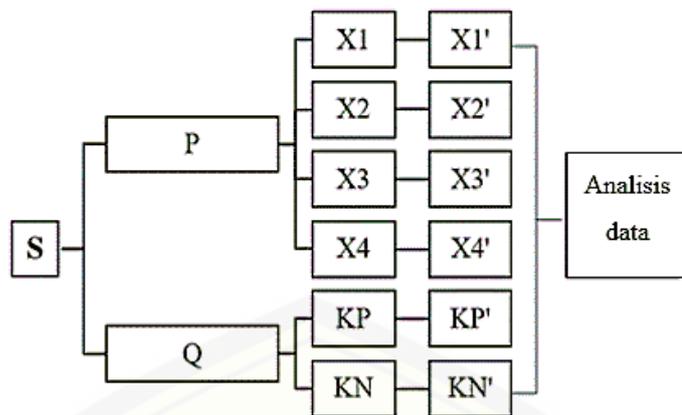
3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Terikat

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak dan fraksi daun kenikir terhadap *Streptococcus mutans* pada media MHA.

3.5.2 Variabel Bebas

Konsentrasi dari ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, etil asetat dan residu daun *Cosmos caudatus* Kunth yaitu 10, 5, 2, dan 1 %.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

- S = sampel ekstrak atau fraksi daun kenikir
 Q = kelompok kontrol
 P = kelompok perlakuan
 X_{1-4} = kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel
 X_{1-4}' = data hasil uji pada kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel
 KP = kontrol positif (larutan kloramfenikol 50 $\mu\text{g/mL}$)
 KP' = data hasil uji kontrol positif (larutan kloramfenikol 50 $\mu\text{g/mL}$)
 KN = kontrol negatif (larutan DMSO 10%)
 KN' = data hasil uji kontrol negatif (larutan DMSO 10%)

3.5.3 Variabel Terkendali

Media MHA, biakan bakteri *Streptococcus mutans*, waktu inkubasi, metode ekstraksi maserasi, metode fraksinasi partisi cair-cair dan prosedur pengujian.

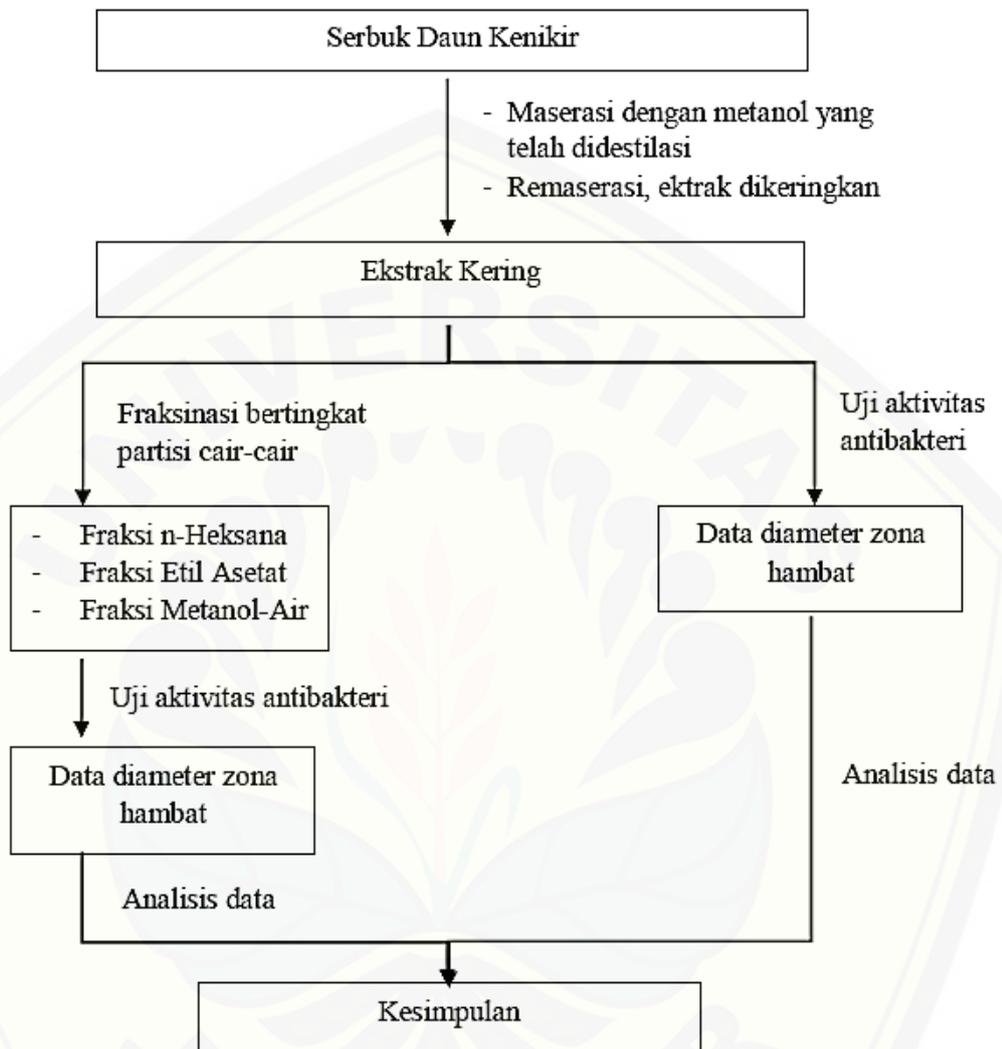
3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Serbuk daun kenikir diperoleh dari Materia Medika Batu, Jawa Timur.
2. Bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Aktivitas antibakteri pada penelitian ini berupa diameter zona hambat yang terdapat di sekitar lubang sumuran.

3.7 Skema Penelitian

Skema prosedur pada penelitian ini adalah ditunjukkan pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

3.8 Prosedur Kerja

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kenikir

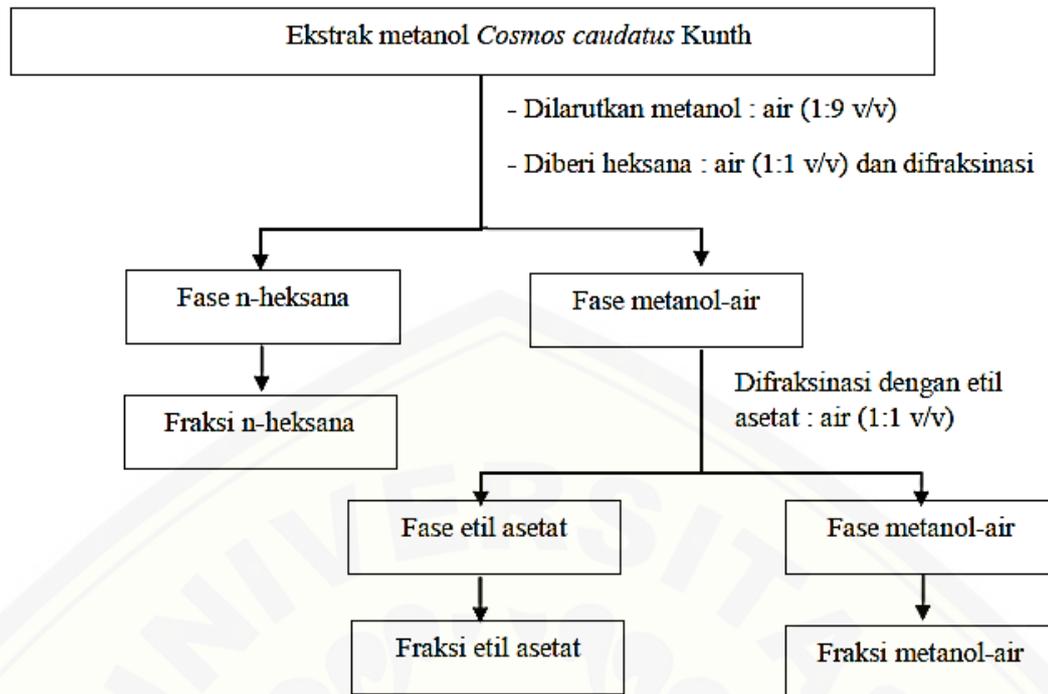
Ekstrak daun kenikir dibuat menggunakan metode maserasi dengan pengadukan. Ditimbang 50 g simplisia serbuk dimasukkan ke erlenmeyer. setelah itu rendam dengan pelarut metanol yang didestilasi dengan perbandingan 1 : 5 (250 mL). Proses maserasi dibantu dengan *magnetic stirrer* untuk mengaduk ekstrak

dengan kecepatan 200 rpm selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan penyaringan dengan corong *buchner*. Kemudian dilakukan remaserasi dari residu simplisia menggunakan pelarut yang sama. Hasil maserasi dimasukkan ke dalam wadah yang sama dan dilakukan pemekatan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 90 rpm pada suhu 50°C. lalu dilakukan pengeringan ekstrak di lemari asam. Ekstrak disimpan dalam wadah gelas. Setelah itu persentase rendemen yang diperoleh dihitung sesuai Persamaan 3.1 :

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

3.8.2 Fraksinasi Ekstrak Daun Kenikir

Timbang 6 gram ekstrak metanol daun kenikir kemudian larutkan dengan air : metanol perbandingan 9 : 1 (v/v), kemudian dimasukkan ke corong pisah. Setelah itu tambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1:1 (v/v) dan dilakukan pengocokan. Hasil yang didapatkan yaitu fraksi n-heksana dan fase air. Setelah itu dilakukaan pemekatan, pengeringan, dan penimbangan bobot dari fraksi n-heksana. Fase air dari hasil fraksinasi menggunakan n-heksana lalu difraksinasi dengan menambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1 (v/v) dan dilakukan pengocokan. Hasil yang didapatkan yaitu fraksi etil asetat dan fase air. Setelah itu dilakukan pemekatan, pengeringan, dan penimbangan bobot dari fraksi etil asetat. Setelah itu dilakukan pemektan fase air dari hasil fraksinasi etil asetat. Kemudian dilakukan perhitungan rendemen dari masing-masing fraksinasi dan dilakukan uji aktivitas antibakteri. Gambar 3.3 menunjukkan skema alur fraksinasi ekstrak daun kenikir.



Gambar 3.3 Skema alur fraksinasi bertingkat daun *Cosmos caudatus* Kunth

3.8.3 Skrining fitokimia metode KLT

Untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak dan fraksi perlu dilakukan skrining fitokimia. Berdasarkan Harborne (1984) skrining fitokimia metode KLT dilakukan dengan cara sebagai berikut :

a. Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Alkaloid

Sampel seberat 0,3 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 2N sebanyak 2 mL. Tabung berisi sampel kemudian dipanaskan selama 2-3 menit di atas penangas air sambil diaduk. Ditunggu hingga dingin lalu ditambahkan 0,3 gram NaCl kemudian diaduk hingga homogen sebelum disaring. Diambil filtrate dari hasil penyaringan lalu diberi HCl 2N sebanyak 5 mL. Setelah itu ditambahkan NH_4OH 28% hingga larutan tersebut basa. Kemudian ditambahkan kloroform sebanyak 5 mL lalu disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan sampai kering dan dilarutkan dengan metanol. Kemudian larutan ditotolkan di atas fase diam berupa silica gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak berupa metanol :

etil asetat : air (2 : 9 : 2). Kemudian diberi penampak noda dragendorff. Adanya kandungan alkaloid ditandai dengan timbulnya warna jingga.

b. Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Saponin, Triterpenoid dan Steroid

Sampel seberat 0,5 gram ditambah 5 mL HCl 2N ditutup dengan corong yang diberi kapas lalu dididihkan selama 2 jam agar saponin terhidrolisis. Kemudian didinginkan dan ditambahkan ammonia untuk menetralkan sampel. Kemudian diekstraksi sebanyak 3 kali menggunakan 3 mL n-heksana lalu diuapkan. Sampel ditotolkan pada fase diam silica gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (4 : 1). Kemudian diberi penampak noda anisaldehyda asam sulfat lalu dipanaskan. Saponin ditunjukkan oleh perubahan warna merah ungu. Terpenoid dan steroid bebas diidentifikasi dengan diambil sedikit sampel ditetesi etanol sambil diaduk hingga larut. Larutan ditotolkan pada fase diam berupa silica gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (4 : 1). Setelah itu diberi penampak noda anisaldehyda asam sulfat lalu dipanaskan. Warna merah ungu atau ungu menunjukkan adanya terpenoid atau steroid bebas.

c. Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Flavonoid

Sampel ditimbang sebanyak 0,3 gram ditambahkan n-heksana lalu dikocok hingga tidak berwarna. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan etanol. Larutan ditotolkan pada fase diam berupa silica gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase geraknya yaitu butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5). Kemudian diberi penampak noda uap ammonia. Kandungan flavonoid ditandai dengan adanya noda berwarna kuning intensif.

d. Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Polifenol

Sampel ditimbang sebanyak 0,3 gram kemudian dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan aquades panas sebanyak 10 mL lalu diaduk sampai homogen. Setelah itu sampel didinginkan dan ditambahkan NaCl 10% sebanyak 3-4 tetes diaduk kemudian diaduk dan disaring. Setelah itu larutan ditotolkan di fase diam silica gel 60 F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak kloroform : etil asetat (1 : 9). Kemudian diberi penampak noda FeCl₃. Kandungan polifenol ditandai dengan adanya noda hitam.

3.8.4 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Tip, media, dan alat gelas yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu. Alat-alat tersebut dicuci hingga bersih sebelum disterilkan. Kemudian keringkan dan bungkus alat-alat tersebut menggunakan kertas kayu cokelat. Kemudian lakukan sterilisasi selama 15 menit menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Sterilisasi jarum ose dan pinset dapat dilakukan dengan cara pemijaran.

b. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 0,38 gram MHA ditimbang dan dilarutkan dalam erlenmeyer 10 mL akuades. Suspensi yang diperoleh dipanaskan hingga larutan jernih. kemudian larutan MHA dituangkan sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi. Setelah itu sterilkan MHA selama 15 menit menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan udara 1 atm. Media yang sudah steril dimiringkan hingga terbentuk agar miring dan didiamkan hingga dingin.

c. Penanaman atau Peremajaan Bakteri

Penanaman bakteri dilakukan dengan menggoreskan bakteri *Streptococcus mutans* yang diambil dengan menggunakan ose pada media miring MHA. Penanaman dilakukan di bawah LAF. Setelah itu tabung reaksi ditutup dengan kapas dan disegel dengan plastic wrap dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

d. Pembuatan larutan Standar Mc Farland 0,5

Sebanyak 0,05 mL BaCl₂ 1% dicampurkan dengan 9,95 mL H₂SO₄ 1%. sehingga setara dengan 1-2 x 10⁸ CFU/mL (Balouiri dkk., 2016)

e. Pembuatan Biakan Bakteri Aktif

Pembuatan suspensi bakteri dengan mengambil bakteri menggunakan ose lalu masukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% 10 mL kemudian vortex hingga homogen. Bandingkan kekeruhan antara kekeruhan larutan standar Mc Farland 0,5 dengan suspensi bakteri dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 625 nm (Balouiri dkk., 2016).

f. Pembuatan Larutan Kontrol

1. Kontrol Positif

Kontrol positif pada penelitian ini adalah kloramfenikol konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$.

2. Kontrol Negatif

Kontrol negatif pada penelitian ini adalah DMSO 10%.

g. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang ekstrak dan fraksi masing-masing sebesar 0,1 g; 0,05 g; 0,02 g; dan 0,01 g lalu tambahkan 1 mL DMSO 10% kemudian larutkan dengan bantuan vortex.

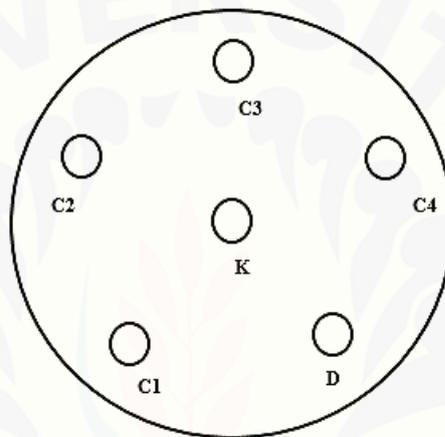
h. Uji Antibakteri

Metode difusi sumuran digunakan untuk mengukur diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak dan fraksi daun kenikir. Gambar 3.4. menunjukkan desain cawan petri yang digunakan pada penelitian ini. Dibuat dua kelompok uji yaitu kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan terdiri dari 4 kelompok dengan seri konsentrasi 10, 5, 2, dan 1%. kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (larutan kloramfenikol 50 $\mu\text{g/ml}$) dan kontrol negatif (larutan DMSO 10%). Media MHA dicairkan lalu dimasukkan dalam cawan petri steril dan tunggu hingga media menjadi padat. Tambahkan biakan bakteri sebanyak 10 μL ke dalam cawan petri dan ratakan menggunakan *spreader*. Media yang berisi bakteri dilubangi menggunakan alat khusus untuk membuat lubang sumuran. Setelah itu pipet masing-masing konsentrasi dari larutan uji (ekstrak, fraksi, kontrol positif dan kontrol negatif) sebanyak 15 μL lalu masukkan ke dalam lubang sumuran. Setelah itu cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu amati zona bening yang terbentuk dan ukur menggunakan jangka sorong untuk melihat aktivitas antibakteri dari larutan uji. Masing-masing konsentrasi dari kelompok perlakuan direplikasi 3 kali.

3.8.5 Analisis Data

Data yang didapatkan berupa data kuantitatif. Diameter zona hambat ekstrak dan masing-masing dianalisis dianalisis statistik. Pertama-tama dilakukan uji normalitas

dan homogenitas. Data dianggap terdistribusi secara normal dan homogen apabila nilai $p > 0,05$. Setelah itu uji dengan *One way ANOVA* dilakukan analisis data untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak dan fraksi daun kenikir terhadap *S.mutans*. Jika data yang didapatkan tidak tersebar homogen dan tidak memenuhi normalitas, maka uji statistik *Kruskal Wallis* harus dilakukan. Apabila data yang didapatkan dari *ANOVA* atau *Kruskal Wallis* sudah signifikan, maka dilanjutkan *Man Whitney* untuk *Kruskal Wallis* dan uji *LSD* untuk *ANOVA*. Jika $p\text{-value} < 0,05$ dan tingkat kepercayaannya sebesar 95% maka perbedaan tersebut dianggap bermakna.



Gambar 3.4 Desain uji antibakteri metode difusi sumuran

Keterangan :

- K : Larutan kloramfenikol 50 $\mu\text{g/mL}$
- D : Larutan DMSO 10%
- C₁₋₄ : Larutan uji dengan berbagai konsentrasi

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian diatas dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1, 2, 5, dan 10%.
2. Rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak metanol fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air berturut-turut yaitu $15,74 \pm 0,87$ mm; $16,48 \pm 0,98$ mm; $17,72 \pm 1,18$ mm; dan $18,78 \pm 0,47$ mm.
3. Berdasarkan hasil analisis data, terdapat perbedaan yang signifikan antar larutan uji yang ditunjukkan oleh nilai $p < 0,05$.

5.2 Saran

Dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai :

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai potensi aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun kenikir terhadap bakteri lainnya.
2. Perlu dilakukan isolasi pada fraksi etil asetat daun kenikir untuk pengembangan obat baru yang berpotensi sebagai antibakteri dari bahan alam.
3. Perlu dilakukan uji *in vivo* terkait aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun kenikir.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- Bagramian, R. A., F. Garcia-Godoy, dan A. R. Volpe. 2009. Perspective and call for action the global increase in dental caries. a pending public health crisis. *American Journal of Dentistry*. 21:3–8.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Britannica.com. 2019. Streptococcus Mutans | Bacterium | Britannica.Com. <https://www.britannica.com/science/Streptococcus-mutans> [Diakses pada May 10, 2019].
- Bunawan, S. N., H. Bunawan, N. Baharum, N. M. Amin, dan N. M. Noor. 2014. *Cosmos caudatus* Kunth: a traditional medicinal herb. *Global Journal of Pharmacology*. 8(3):420–426.
- Cheng, S. H., M. Y. Barakatun-nisak, J. Anthony, dan A. Ismail. 2015. Potential medicinal benefits of *Cosmos caudatus* (ulam raja): a scoping review. *Journal of Research in Medical Sciences*. 20(10):1000–1006.
- Choma, I. M. dan E. M. Grzelak. 2011. Bioautography detection in thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1218(19):2684–2691.
- Chotiah, S. 2015. Ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus*. (L.) h.b.k) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus epidermidis*
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Dwiyanti, W., M. Ibrahim, dan G. Trimulyono. 2014. Pengaruh ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* secara in vitro. *LenteraBio*. 3(1):1–5.
- Dye, B. A., G. Thornton-Evans, X. Li, dan T. J. Iafolla. 2015. Dental caries and tooth loss in adults in the united states, 2011–2012. *NCHS Data Brief* ■. (197):2011–2012.
- Eden, E. 2016. *Evidence-Based Caries Prevention*. Switzerland: Springer.

- Forssten, S. D., M. Björklund, dan A. C. Ouwehand. 2010. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. 290–298.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods : A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman and Hall.
- Haryati, S. D., D. Sri, dan W. Wildiani. 2017. Perbandingan efek ekstrak buah alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode disk dan sumuran. (September):348–352.
- Houghton, P. dan A. Raman. 2011. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*.
- ITIS. 2019a. ITIS Standard Report Page: Aedes. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=37163#null [Diakses pada April 1, 2019].
- ITIS. 2019b. ITIS Standard Report Page: Streptococcus Mutans. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=966483#null [Diakses pada May 15, 2019].
- Kusuma, A. T., A. Adelah, Z. Abidin, dan A. Najib. 2000. Penentuan kadar flavonoid ekstrak etil asetat daun sukun (*Artocarpus altilis*). 1(1):25–31.
- Lutpiatina, L., N. R. Amaliah, dan R. D. Dwiyaniti. 2017. Daya hambat ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap *Staphylococcus aureus*. 5(2):83–91.
- Manuchair, E. 2003. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. The Annals of Pharmacotherapy*.
- Noor, A. S. 2019. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap *Salmonella typhi*.
- Noor, R., S. Si, dan M. Sc. 2018. *Tanaman Obat Di Suku Semendo Kecamatan Way Tenong Kabupaten Lampung Barat*. Lampung: CV. Laduni Aliftama. 49.
- PDGI. 2016. *Rencana Aksi Nasional Pelayanan Kesehatan Gigi Dan Mulut Tahun 2015-2019*
- Pratiwi, R. S., Tjiptasurasa, dan R. Wahyuningrum. 2011. AKTIVITAS antibakteri ekstrak etanol kayu nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. *Pharmacy*. 08(03):1–10.
- Ramawat, K. G. 2008. *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*. Udaipur: M.L. Sukhadis University. *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*.

- Rasdi, N. H. M., A. S. Othman, S. Abubakar, dan U. A. Qamar. 2010. Antimicrobial studies of *Cosmos caudatus* Kunth (compositae). *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(April):669–673.
- Rohilla, A. 2010. *Handbook of Bacteriology*. New Delhi: Oxford Book Company.
- Rosyid, T. A., K. Roselina, M. A. Noranizan, dan M. G. Farinazleen. 2016. Antibacterial activity of several malaysian leaves extracts on the spoilage bacteria of yellow alkaline noodles. *African Journal of Microbiology Research*. 5(8):898–903.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep Dan Teknik*. Edisi Ed.1. Yogyakarta: Deepublish.
- Salim, Z. 2017. Info komoditi tanaman obat. (info komiditi):1–160.
- Sari, E. R., N. Lely, dan D. Septimarleti. 2018. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan beberapa fraksi daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap bakteri penyebab disentri *Shigella sp.* *Jurnal Penelitian Sains*. 20(1):14–19.
- Sarker, S. D. dan L. Nahar. 2012. *Natural Products Isolation 3ed*. New York: Humana Press. 1.
- Shui, G., L. P. Leong, dan P. W. Shih. 2005. Rapid screening and characterisation of antioxidants of *Cosmos caudatus* using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 827(1):127–138.
- Tanaya, V. dan R. Retnowati. 2015. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi. 1(1):778–784.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1):98–106.
- Valgas, C., Simone Machado de Souza;, Elza F A Smânia;, dan Artur Smânia Jr. 2007. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38(2):369–380.
- Wassel, M. O. dan M. A. Khattab. 2017. Antibacterial activity against streptococcus mutans and inhibition of bacterial induced enamel demineralization of propolis, miswak, and chitosan nanoparticles based dental varnishes. *Journal of Advanced Research*. 8(4):387–392.
- Xuedong, Z. 2016. *Dental Caries Principles and Management*. Berlin: Springer.

LAMPIRAN

Lampiran A. Hasil Determinasi Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)


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

Nomor : 074/ 393A/ 102.7/ 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Kenikir**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MARWAH UTAMA
 NIM : 152210101114
 Fakultas : FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman kenikir

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: Cosmos
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth
Nama Daerah	: Kenikir, curing (Indonesia), ulam raja (Melayu), kenikir (Jawa Tengah).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43a-44b-45a-46a-1b-12a-13b-15a.

2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi 75-100 cm, bau khas Batang: Tegak, segi empat, beralur membujur, bercabang banyak, muda berbulu, beruas, hijau keunguan. Daun: Majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25 cm, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk bongkol, di ujung batang, tangkai panjang : 25 cm, mahkota terdiri dari 8 daun mahkota, panjang ± 1 cm, merah, benang sari bentuk tabung, kepala sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, merah. Buah: Keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda hijau setelah tua coklat. Biji: Keras, kecil, bentuk jarum, panjang ± 1 cm, hitam. Akar: Tunggang, putih.

3. Nama Simplisia : *Cosmii Folium* / Daun Kenikir.

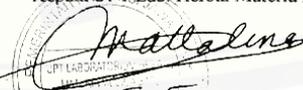
4. Kandungan : Daun mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, polifenol, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, vitamin A, dan antioksidan.

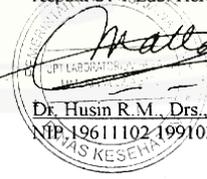
5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=392>, diakses tanggal 25 Oktober 2010.
- Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesihatan/tanaman_obat/depkes/1-087.pdf, diakses tanggal 21 Desember 2010.
- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 20 Mei 2019
 Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu

 Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
 NIP. 196111021991031003



Lampiran B. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir

1. Pembuatan larutan uji ekstrak metanol daun kenikir

- Pembuatan larutan induk 100 % (b/v)

$$100 \% (b/v) = \frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml DMSO } 100\%} \times 100\%$$

- Larutan uji 1 % (v/v)

$$1\% (v/v) = \frac{10 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 2 % (v/v)

$$1\% (v/v) = \frac{20 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 5 % (v/v)

$$1\% (v/v) = \frac{50 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 10 % (v/v)

$$1\% (v/v) = \frac{100 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

2. Pembuatan larutan uji fraksi n-heksana daun kenikir

- Pembuatan larutan induk 100 % (b/v)

$$100 \% (b/v) = \frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml DMSO } 100\%} \times 100\%$$

- Larutan uji 1 % (v/v)

$$1\% (v/v) = \frac{10 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 2 % (v/v)

$$2\% (v/v) = \frac{20 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 5 % (v/v)

$$5\% (v/v) = \frac{50 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 10 % (v/v)

$$10\% \text{ (v/v)} = \frac{100 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

3. Pembuatan larutan uji fraksi etil asetat daun kenikir

- Pembuatan larutan induk 100 % (b/v)

$$100\% \text{ (b/v)} = \frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml DMSO } 100\%} \times 100\%$$

- Larutan uji 1 % (v/v)

$$1\% \text{ (v/v)} = \frac{10 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 2 % (v/v)

$$2\% \text{ (v/v)} = \frac{20 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 5 % (v/v)

$$5\% \text{ (v/v)} = \frac{50 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 10 % (v/v)

$$10\% \text{ (v/v)} = \frac{100 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

4. Pembuatan larutan uji fraksi methanol-air daun kenikir

- Pembuatan larutan induk 100 % (b/v)

$$100\% \text{ (b/v)} = \frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ ml DMSO } 100\%} \times 100\%$$

- Larutan uji 1 % (v/v)

$$1\% \text{ (v/v)} = \frac{10 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 2 % (v/v)

$$2\% \text{ (v/v)} = \frac{20 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 5 % (v/v)

$$5\% \text{ (v/v)} = \frac{50 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

- Larutan uji 10 % (v/v)

$$10\% \text{ (v/v)} = \frac{100 \mu\text{l}}{\text{ad } 1000 \mu\text{l aquadest}} \times 100\%$$

Lampiran C. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir

Hasil pengamatan diameter zona hambat dari ekstrak dan fraksi daun kenikir terhadap *S. mutans*

Sampel	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)				K+	K-
		1%	2%	5%	10%		
Ekstrak metanol	1	16,42	16,93	18,45	18,85	29,80	0,00
	2	14,75	15,35	16,35	18,28	30,42	0,00
	3	16,07	17,17	18,37	19,22	29,53	0,00
	Rerata	15,74	16,48	17,72	18,78	29,92	0,00
	SD	0,87881	0,98841	1,18911	0,47022	0,45308	0,00
	CV	5,58174	5,99639	6,70971	2,50341	1,51446	0,00000
Fraksi n-Heksana	1	13,97	14,42	15,18	15,30	30,53	0,00
	2	13,90	14,47	14,88	15,57	29,80	0,00
	3	13,57	14,18	16,03	16,60	30,52	0,00
	Rerata	13,81	14,36	15,37	15,82	30,28	0,00
	SD	0,21430	0,15123	0,59652	0,68665	0,41866	0,00
	CV	1,55167	1,05346	3,88189	4,33975	1,38248	0,00000
Fraksi etil asetat	1	16,35	16,57	16,73	18,97	29,63	0,00
	2	16,08	16,85	17,12	18,88	30,27	0,00
	3	15,83	16,60	17,32	18,78	29,97	0,00
	Rerata	16,09	16,67	17,06	18,88	29,96	0,00
	SD	0,25838	0,15486	0,29643	0,09179	0,31681	0,00
	CV	1,60594	0,92885	1,73802	0,48625	1,05761	0,00000
Fraksi metanol-air	1	15,02	15,30	16,08	16,73	29,80	0,00
	2	15,17	15,73	16,13	16,35	29,77	0,00
	3	15,18	15,57	16,23	16,77	29,78	0,00
	Rerata	15,12	15,53	16,15	16,62	29,78	0,00
	SD	0,09179	0,21858	0,07638	0,23154	0,01667	0,00
	CV	0,60701	1,40718	0,47292	1,39342	0,05596	0,00000

Lampiran D. Hasil Analisis Data Statistik Ekstrak dan Fraksi Daun Kenikir

1. Analisis data antar konsentrasi pada sampel yang sama

Tests of Normality							
	konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ekstrak	1 %	.315	3	.	.891	3	.358
	2%	.353	3	.	.823	3	.171
	5%	.373	3	.	.779	3	.064
	10%	.223	3	.	.985	3	.767
heksana	1 %	.251	3	.	.966	3	.644
	2%	.297	3	.	.917	3	.443
	5%	.287	3	.	.929	3	.485
	10%	.311	3	.	.898	3	.378
etilasetat	1 %	.185	3	.	.998	3	.925
	2%	.276	3	.	.942	3	.537
	5%	.250	3	.	.967	3	.649
	10%	.181	3	.	.999	3	.942
air	1 %	.262	3	.	.956	3	.598
	2%	.264	3	.	.955	3	.590
	5%	.253	3	.	.964	3	.637
	10%	.274	3	.	.944	3	.545

Pada penelitian ini jumlah dari kelompok uji <50, maka dilihat hasil *Test of Normality* Shapiro-Wilk. Nilai yang diperoleh adalah $p > 0,05$ menunjukkan bahwa data diatas terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ekstrak	1.733	3	8	.237
heksana	.251	3	8	.858
etilasetat	1.324	3	8	.333
air	1.421	3	8	.306

Nilai signifikansi dari data diatas adalah $p > 0,05$ artinya tidak ada varians antara kelompok uji yang dibandingkan atau dengan kata lain “variens data sama atau homogen”.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ekstrak	Between Groups	19.367	3	6.456	8.640	.007
	Within Groups	5.978	8	.747		
	Total	25.345	11			
heksana	Between Groups	5.852	3	1.951	5.790	.021
	Within Groups	2.695	8	.337		
	Total	8.547	11			
etilasetat	Between Groups	14.068	3	4.689	55.208	.000
	Within Groups	.680	8	.085		
	Total	14.748	11			
air	Between Groups	2.976	3	.992	22.894	.000
	Within Groups	.347	8	.043		
	Total	3.323	11			

Nilai p yang diperoleh adalah $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai zona hambat pada setiap konsentrasi uji dari masing-masing sampel.

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	1 %	2%	-1.02667	.70580	.184	-2.6542	.6009
		5%	-2.30000*	.70580	.012	-3.9276	-.6724
		10%	-3.36000*	.70580	.001	-4.9876	-1.7324
	2%	1 %	1.02667	.70580	.184	-.6009	2.6542
		5%	-1.27333	.70580	.109	-2.9009	.3542
		10%	-2.33333*	.70580	.011	-3.9609	-.7058
	5%	1 %	2.30000*	.70580	.012	.6724	3.9276
		2%	1.27333	.70580	.109	-.3542	2.9009
		10%	-1.06000	.70580	.172	-2.6876	.5676
	10%	1 %	3.36000*	.70580	.001	1.7324	4.9876
		2%	2.33333*	.70580	.011	.7058	3.9609
		5%	1.06000	.70580	.172	-.5676	2.6876

heksana	1 %	2%	-.58667	.47393	.251	-1.6795	.5062
		5%	-1.35667*	.47393	.021	-2.4495	-.2638
		10%	-1.81667*	.47393	.005	-2.9095	-.7238
	2%	1 %	.58667	.47393	.251	-.5062	1.6795
		5%	-.77000	.47393	.143	-1.8629	.3229
		10%	-1.23000*	.47393	.032	-2.3229	-.1371
	5%	1 %	1.35667*	.47393	.021	.2638	2.4495
		2%	.77000	.47393	.143	-.3229	1.8629
		10%	-.46000	.47393	.360	-1.5529	.6329
	10%	1 %	1.81667*	.47393	.005	.7238	2.9095
		2%	1.23000*	.47393	.032	.1371	2.3229
		5%	.46000	.47393	.360	-.6329	1.5529
etilasetat	1 %	2%	-.88000*	.23797	.006	-1.4288	-.3312
		5%	-1.15667*	.23797	.001	-1.7054	-.6079
		10%	-2.97667*	.23797	.000	-3.5254	-2.4279
	2%	1 %	.88000*	.23797	.006	.3312	1.4288
		5%	-.27667	.23797	.278	-.8254	.2721
		10%	-2.09667*	.23797	.000	-2.6454	-1.5479
	5%	1 %	1.15667*	.23797	.001	.6079	1.7054
		2%	.27667	.23797	.278	-.2721	.8254
		10%	-1.82000*	.23797	.000	-2.3688	-1.2712
	10%	1 %	2.97667*	.23797	.000	2.4279	3.5254
		2%	2.09667*	.23797	.000	1.5479	2.6454
		5%	1.82000*	.23797	.000	1.2712	2.3688
air	1 %	2%	-.29000	.16997	.126	-.6819	.1019
		5%	-.86333*	.16997	.001	-1.2553	-.4714
		10%	-1.28333*	.16997	.000	-1.6753	-.8914
	2%	1 %	.29000	.16997	.126	-.1019	.6819
		5%	-.57333*	.16997	.010	-.9653	-.1814
		10%	-.99333*	.16997	.000	-1.3853	-.6014
	5%	1 %	.86333*	.16997	.001	.4714	1.2553
		2%	.57333*	.16997	.010	.1814	.9653
		10%	-.42000*	.16997	.039	-.8119	-.0281
	10%	1 %	1.28333*	.16997	.000	.8914	1.6753

2%	.99333*	.16997	.000	.6014	1.3853
5%	.42000*	.16997	.039	.0281	.8119

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

Sampel dengan Nilai $p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar zona hambatnya. Sampel dengan nilai $p > 0,05$ menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar zona hambatnya.

2. Analisis data antar sampel pada konsentrasi yang sama

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi_1	Ekstrak Metanol	.315	3	.	.891	3	.358
	Fraksi Heksana	.251	3	.	.966	3	.644
	Fraksi Etil Asetat	.185	3	.	.998	3	.925
	Fraksi Air	.188	3	.	.998	3	.911
Konsentrasi_2	Ekstrak Metanol	.353	3	.	.823	3	.171
	Fraksi Heksana	.283	3	.	.934	3	.504
	Fraksi Etil Asetat	.276	3	.	.942	3	.537
	Fraksi Air	.264	3	.	.955	3	.590
Konsentrasi_5	Ekstrak Metanol	.322	3	.	.880	3	.326
	Fraksi Heksana	.287	3	.	.929	3	.485
	Fraksi Etil Asetat	.250	3	.	.967	3	.649
	Fraksi Air	.253	3	.	.964	3	.637
Konsentrasi_10	Ekstrak Metanol	.223	3	.	.985	3	.767
	Fraksi Heksana	.311	3	.	.898	3	.378
	Fraksi Etil Asetat	.181	3	.	.999	3	.942
	Fraksi Air	.354	3	.	.821	3	.165

Pada penelitian ini jumlah dari kelompok uji < 50 , maka dilihat hasil *Test of Normality* Shapiro-Wilk. Nilai yang diperoleh adalah $p > 0,05$ menunjukkan bahwa data diatas terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Konsentrasi_1	2.510	3	8	.133
Konsentrasi_2	3.817	3	8	.058
Konsentrasi_5	3.201	3	8	.084
Konsentrasi_10	3.501	3	8	.069

Nilai signifikansi dari data diatas adalah $p > 0,05$ artinya tidak ada varians antara kelompok uji yang dibandingkan atau dengan kata lain “variens data sama atau homogen”.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasi_1	Between Groups	5.827	3	1.942	6.405	.016
	Within Groups	2.426	8	.303		
	Total	8.253	11			
Konsentrasi_2	Between Groups	8.567	3	2.856	11.657	.003
	Within Groups	1.960	8	.245		
	Total	10.527	11			
Konsentrasi_5	Between Groups	17.937	3	5.979	34.040	.000
	Within Groups	1.405	8	.176		
	Total	19.343	11			
Konsentrasi_10	Between Groups	21.393	3	7.131	37.650	.000
	Within Groups	1.515	8	.189		
	Total	22.909	11			

Nilai p yang diperoleh adalah $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai zona hambat pada setiap konsentrasi uji dari masing-masing sampel.

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
						Konsentrasi 1	Ekstrak Metanol
		Fraksi Etil Asetat	-.47667	.44962	.320	-1.5135	.5602
		Fraksi Air	.25333	.44962	.589	-.7835	1.2902
	Fraksi Heksana	Ekstrak Metanol	-1.41667 [*]	.44962	.014	-2.4535	-.3798
		Fraksi Etil Asetat	-1.89333 [*]	.44962	.003	-2.9302	-.8565
		Fraksi Air	-1.16333 [*]	.44962	.032	-2.2002	-.1265
	Fraksi Etil Asetat	Ekstrak Metanol	.47667	.44962	.320	-.5602	1.5135
		Fraksi Heksana	1.89333 [*]	.44962	.003	.8565	2.9302
		Fraksi Air	.73000	.44962	.143	-.3068	1.7668
	Fraksi Air	Ekstrak Metanol	-.25333	.44962	.589	-1.2902	.7835
		Fraksi Heksana	1.16333 [*]	.44962	.032	.1265	2.2002
		Fraksi Etil Asetat	-.73000	.44962	.143	-1.7668	.3068
Konsentrasi 2	Ekstrak Metanol	Fraksi Heksana	1.84667 [*]	.40412	.002	.9148	2.7786
		Fraksi Etil Asetat	-.33000	.40412	.438	-1.2619	.6019
		Fraksi Air	.87667	.40412	.062	-.0552	1.8086
	Fraksi Heksana	Ekstrak Metanol	-1.84667 [*]	.40412	.002	-2.7786	-.9148
		Fraksi Etil Asetat	-2.17667 [*]	.40412	.001	-3.1086	-1.2448
		Fraksi Air	-.97000 [*]	.40412	.043	-1.9019	-.0381
	Fraksi Etil Asetat	Ekstrak Metanol	.33000	.40412	.438	-.6019	1.2619
		Fraksi Heksana	2.17667 [*]	.40412	.001	1.2448	3.1086
		Fraksi Air	1.20667 [*]	.40412	.017	.2748	2.1386
	Fraksi Air	Ekstrak Metanol	-.87667	.40412	.062	-1.8086	.0552
		Fraksi Heksana	.97000 [*]	.40412	.043	.0381	1.9019
		Fraksi Etil Asetat	-1.20667 [*]	.40412	.017	-2.1386	-.2748
Konsentrasi 5	Ekstrak Metanol	Fraksi Heksana	3.28667 [*]	.34220	.000	2.4976	4.0758
		Fraksi Etil Asetat	1.59333 [*]	.34220	.002	.8042	2.3824
		Fraksi Air	2.50333 [*]	.34220	.000	1.7142	3.2924
	Fraksi Heksana	Ekstrak Metanol	-3.28667 [*]	.34220	.000	-4.0758	-2.4976
		Fraksi Etil Asetat	-1.69333 [*]	.34220	.001	-2.4824	-.9042

