



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan
Escherichia coli ATCC 25922**

SKRIPSI

Oleh:

Eka Ayu Amaliyah

NIM 152210101095

BAGIAN KIMIAFARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan
Escherichia coli ATCC 25922**

SKRIPSI

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

Oleh:

Eka Ayu Amaliyah

NIM 152210101095

BAGIAN KIMIA FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

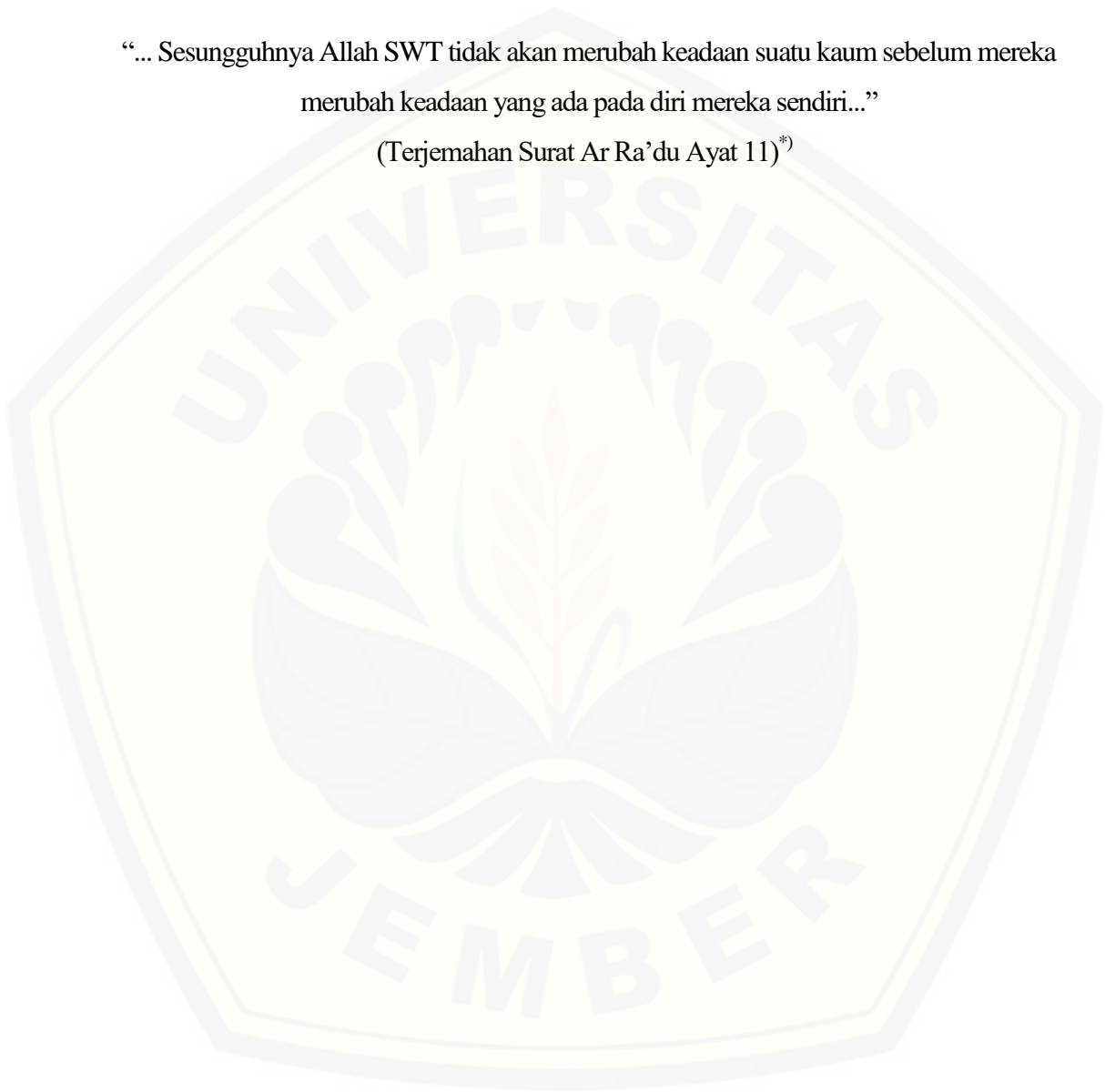
Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Lilik Hariyati dan ayahanda Abdul Azis yang telah membesarkan dengan penuh kasih sayang, kesabaran, serta doa beliau sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
2. Ayah Djumain dan Mama Hartini yang menjadi orangtua kedua, yang telah membesarkan saya dan memberikan kasih sayang serta doa yang tidak pernah putus.
3. Adikku Raisya Aulia Azis dan keluarga besar lainnya yang telah memberi kasih sayang, motivasi dan 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.

MOTO

“... Sesungguhnya Allah SWT tidak akan merubah keadaan suatu kaum sebelum mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri...”

(Terjemahan Surat Ar Ra’du Ayat 11)^{*)}



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Semarang. PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eka Ayu Amaliyah

NIM : 152210101095

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922” 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, 16 Juli 2019

Yang menyatakan,

Eka Ayu Amaliyah

NIM 152210101095

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN
FRAKSI DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan
Escherichia coli ATCC 25922**

Oleh:

Eka Ayu Amaliyah

NIM 182210101190

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922” karya Eka Ayu Amaliyah telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 16 Juli 2016

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198204062006042001

Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198504282009121004

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP. 198304282008122004

Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP.198201292009121003

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922: Eka Ayu Amaliyah: 152210101095; 2019; 66 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang selalu berkembang dari waktu ke waktu dan menjadi salah satu permasalahan di bidang kesehatan. Pengobatan penyakit infeksi dapat ditanggulangi dengan pemberian antibakteri. Salah satu sumber potensial yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu tanaman. Kemiri telah lama digunakan di Indonesia sebagai obat disentri dan diare. Selain itu dari penelitian sebelumnya dan hasil skrining fitokimia ekstrak daun kemiri memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri baru. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol 96% dan fraksi daun kemiri terhadap bakteri gram positif dimana digunakan *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif digunakan *Escherichia coli*.

Penelitian dilakukan dengan ekstraksi daun kemiri dengan menggunakan etanol 96% didapatkan persen rendemen sebesar 14,23%. Selanjutnya ekstrak kental difraksinasi bertingkat dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Diperoleh persen rendemen untuk fraksi heksana, fraksi etil asetat dan residu masing masing sebesar 27,05%, 23,32%, 38,90%. Dari masing-masing sampel dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit didalamnya dan dilakukan uji aktivitas antibakteri untuk selanjutnya diukur zona hambat yang dihasilkan. Hasil skrining fitokimia didapatkan positif alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin didalam ekstrak etanol daun kemiri. Hasil skrining untuk fraksi heksana diketahui positif mengandung alkaloid. Pada fraksi etil asetat didapatkan hasil positif untuk alkaloid dan tanin. Hasil skrining residu diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan masing-masing 5 konsentrasi uji untuk ekstrak etanol, fraksi heksana, fraksi etil asetat dan residu yaitu 200, 400, 600, 800 dan 1.000 µg/mL. Digunakan kontrol positif gentamisin dan kontrol negatif DMSO 10% pengujian

dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Hasil uji antibakteri yang dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli* menunjukkan hasil yang sama yaitu residu memiliki hambatan paling tinggi dibandingkan dengan sampel yang lain. Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan aktivitas penghambatan yang tinggi pada sampel fraksi etil asetat dan residu, sedangkan untuk sampel ekstrak etanol dan fraksi heksana aktivitas penghambatan tinggi hanya pada salah satu bakteri yaitu *S. aureus*.

Hasil analisis statistik aktivitas antibakteri sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan, namun pada ekstrak etanol dan fraksi heksana konsentrasi 600 µg/mL; 800 µg/mL; 1.000 µg/mL; dan ekstrak etanol dan residu menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan terhadap bakteri *S. aureus* dengan nilai p berturut-turut 0,05; 0,05; 0,05; 0,369. Data lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi heksana konsentrasi 200 µg/mL; 600 µg/mL; dan 1.000 µg/mL menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan terhadap bakteri *E. coli* dengan nilai p berturut-turut 1,00; 0,05; dan 0,05. Hasil analisis ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri sampel yang sama dengan konsentrasi yang berbeda didapatkan bahwa nilai p perbandingan ekstrak dan fraksi pada konsentrasi 400 µg/mL dan 1.000 µg/mL terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai p masing-masing 0,248 dan 0,309.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT. Atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. ALLAH SWT. yang telah memberikan karunia kehidupan sehingga dapat menyelesaikan tulisan ini.
2. Kedua orang tua, adik, kakek dan nenek yang selama ini telah memberikan segala kasih sayang, dorongan serta doanya demi terselesaikannya karya tulis ini;
3. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si.,M.Farm.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt dan Bapak Bawon Triatmoko S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Laboran Laboratorium Mikrobiologi Bu Widi dan Mbak Parka yang telah memberikan bimbingan dalam penelitian ini;
7. Kakakku Dwi Agustin yang selalu menjadi tempat berkeluh kesah, tempat berbagi cerita, pengalaman dan teman jalan-jalan;

8. Kawan seperjuangan, Reny Diastri Noviriana yang selalu menyemangati memberi masukan dan berbagi pikiran;
9. Sahabatku Dewi Enggar Fitriani yang selalu menemani disaat apapun, menjadi adek sekaligus kakak selama di Jember serta senantiasa memberikan saran, motivasi dan semangat sehingga penulis menjadi pribadi yang lebih baik;
10. Sahabat-sahabatku *Girls Squad* (Intan Alvi, Weka, Irsa, Reren) yang selalu memberi motivasi, semangat, bantuan serta dukungan yang tak pernah putus selama ini;
11. Teman-teman kos Retno, Enggar, mbak Ayik, mbak Weka, mbak Tanti, Mbak Eka yang menemani selama berada di kos dan menjadi keluarga selama di Jember;
12. *Biology Squad* yang telah membantu dalam proses penyelesaian tugas akhir ini;
13. Keluarga besar Libitum, UKMO Fassenden, UKSM Essensi yang telah memberikan dukungan, doa, dan pengalaman selama penulis menempuh studi S1;
14. Seluruh teman KKN 266 (Nada, Hesty, Vee, Mur, Bima, Zizah, Gege, Ika) yang telah memberikan motivasi dan dukungan penuh selama penulis menyelesaikan skripsi ini;
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

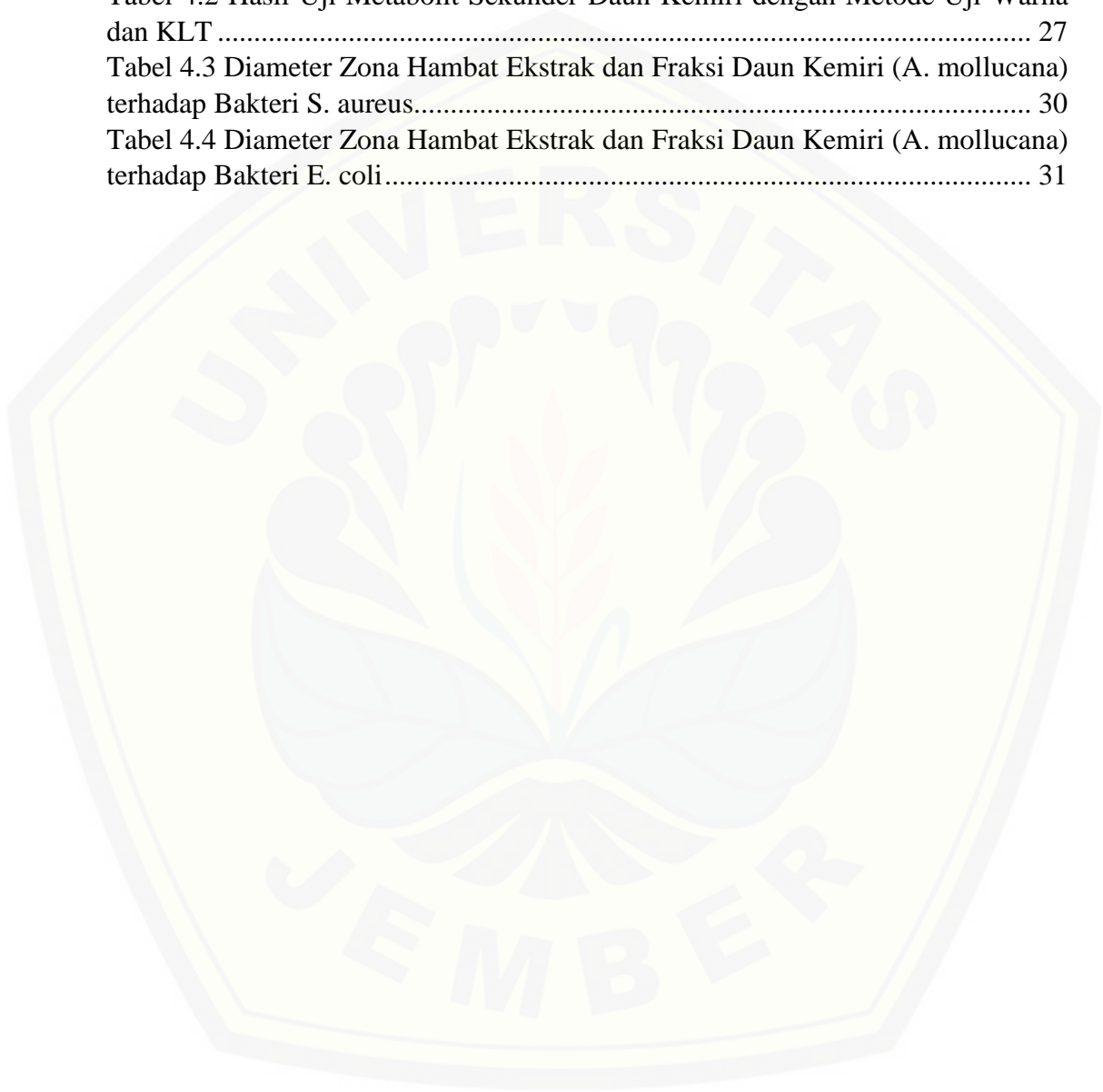
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR RUMUS	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Tanaman Kemiri.....	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Kemiri.....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Kemiri	5
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Kemiri	6
2.1.4 Penelitian Tanaman Kemiri.....	6
2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi	7
2.2.1 Ekstraksi	7
2.2.2 Fraksinasi	8
2.3 Tinjauan Umum Antibakteri.....	9
2.3.1 Aktivitas Antibakteri	9

2.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri	9
2.4 Tinjauan Umum Bakteri Uji	11
2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.4.2 <i>Escherichia coli</i>	11
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Jenis Penelitian	13
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.3 Variabel Penelitian	13
3.3.1 Variabel Bebas	13
3.3.2 Variabel Terikat.....	13
3.3.3 Variabel Terkontrol	13
3.4 Definisi Operasional	14
3.5 Rancangan Penelitian	14
3.5.1 Rancangan Percobaan	14
3.5.2 Alur Penelitian.....	15
3.6 Bahan Dan Alat.....	16
3.6.1 Bahan.....	16
3.6.2 Alat	16
3.7 Ekstraksi Bahan.....	16
3.8 Fraksinasi Dengan Corong Pisah.....	17
3.8.1 Pembuatan Media Bakteri	18
3.8.2 Peremajaan Bakteri	18
3.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	18
3.8.4 Pembuatan Larutan Uji.....	19
3.8.5 Sterilisasi	19
3.9 Tahapan Pengujian	19
3.9.1 Skrining Fitokimia.....	19
3.9.2 Uji Aktivitas Antibakteri	22
3.9.3 Pengukuran Zona Hambat	22
3.9.4 Analisis Data	22
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Determinasi Tanaman.....	24

4.2 Pembuatan Simplisia.....	24
4.3 Ekstraksi Dan Fraksinasi	25
4.4 Skrining Fitokimia	27
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri	29
4.5.1 Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kemiri (<i>A. moluccana</i>) terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	30
4.5.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Kemiri (<i>A. moluccana</i>) terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	31
4.5.3 Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	32
4.5 Analisis Data	Error! Bookmark not defined.
BAB 5. KESIMPULAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40

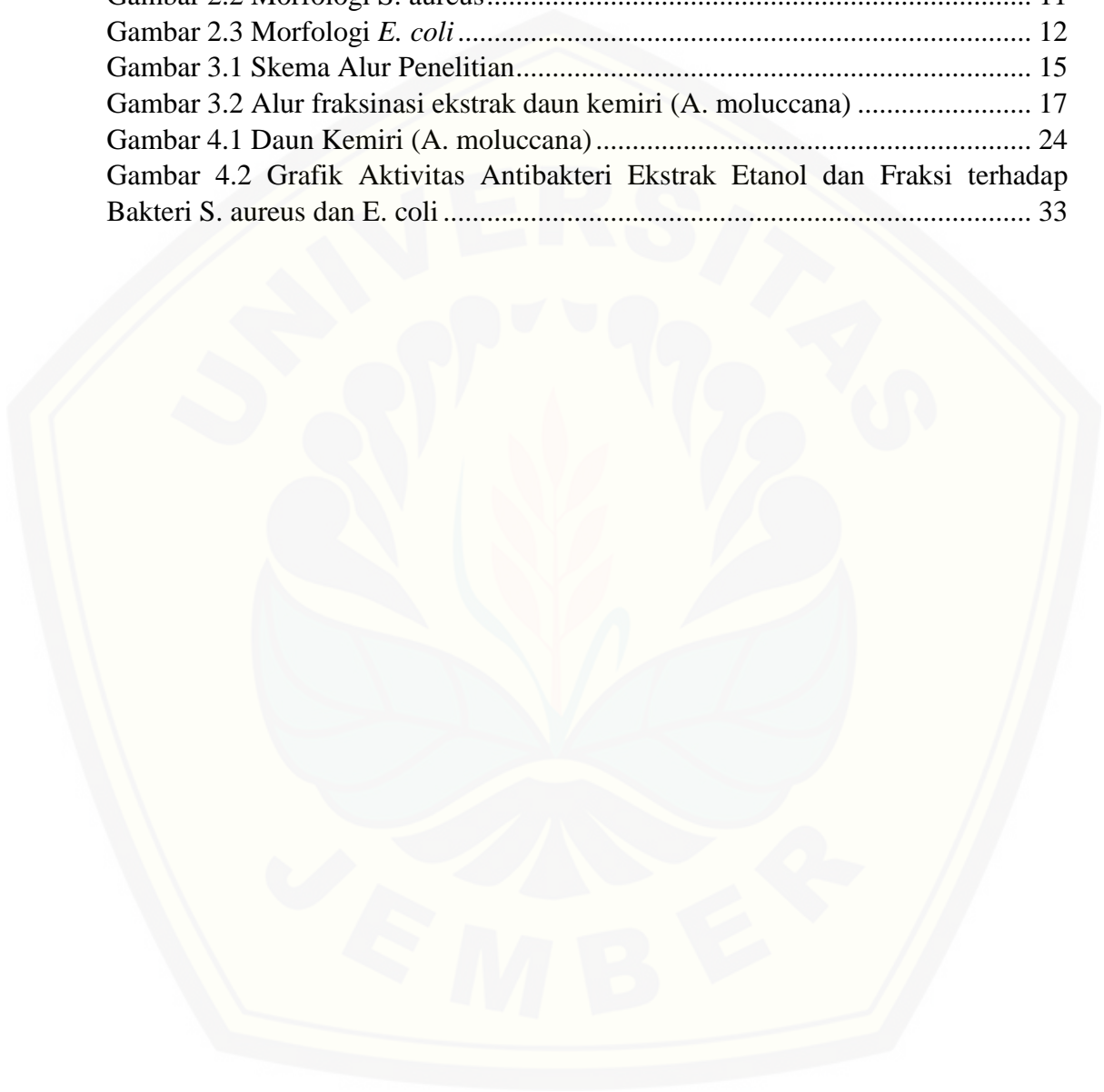
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Fraksinasi Sampel.....	26
Tabel 4.2 Hasil Uji Metabolit Sekunder Daun Kemiri dengan Metode Uji Warna dan KLT	27
Tabel 4.3 Diameter Zona Hambat Ekstrak dan Fraksi Daun Kemiri (<i>A. mollucana</i>) terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	30
Tabel 4.4 Diameter Zona Hambat Ekstrak dan Fraksi Daun Kemiri (<i>A. mollucana</i>) terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (a) Gambar tanaman <i>A. moluccana</i> (b) daun dan bunga (c) buah.....	5
Gambar 2.2 Morfologi <i>S. aureus</i>	11
Gambar 2.3 Morfologi <i>E. coli</i>	12
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian.....	15
Gambar 3.2 Alur fraksinasi ekstrak daun kemiri (<i>A. moluccana</i>).....	17
Gambar 4.1 Daun Kemiri (<i>A. moluccana</i>).....	24
Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	33



DAFTAR RUMUS

Rumus 3. 1 Persen (%) rendemen 17



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Lembar Determinasi	40
Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	41
Lampiran 4.3 Skrining Fitokimia	42
Lampiran 4.4 Pembuatan Larutan Uji	47
Lampiran 4.5 Hasil Pengujian Zona Hambat	48
Lampiran 4.6 Dokumentasi Pengamatan Zona Hambat	54
Lampiran 4.7 Analisis Hasil Statistik	55
4.7.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu terhadap <i>S. aureus</i> ...	55
4.7.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu terhadap <i>E. coli</i>	56
4.7.3 Uji Kruskal-Wallis	57
4.7.4 Uji <i>Mann-Whitney</i> Diameter Zona Hambat sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	57
4.7.5 Uji <i>Mann-Whitney</i> Diameter Zona Hambat sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri <i>E. coli</i>	59
4.7.6 Uji <i>Mann-Whitney</i> Diameter Zona Hambat sampel yang sama konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	60
4.7.7 Uji <i>Mann-Whitney</i> Diameter Zona Hambat sampel yang sama konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri <i>E. coli</i>	63

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang selalu berkembang dari waktu ke waktu dan menjadi salah satu permasalahan di bidang kesehatan. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, jamur atau parasit. Setiap tahunnya sekitar 3,5 juta orang meninggal karena penyakit infeksi yang sebagian besar anak-anak miskin dan anak-anak yang tinggal di negara dengan penghasilan rendah (WHO, 2014). Data dari WHO pada tahun 2016 menunjukkan bahwa penyakit infeksi merupakan penyebab terbesar anak usia 1-59 bulan mengalami kematian diantaranya dikarenakan infeksi pernapasan akut, diare dan malaria (WHO, 2018).

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Parachlamydia*, *E. coli*, *S. aureus*, *H. pylori*, *V. cholerae*, *K. pneumoniae* dan lainnya. Bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit seperti pneumonia, diare, *peptic ulcer*, tifus, difteri, kolera, radang paru-paru, infeksi nosokomial dan sebagainya. Pada awal abad ke-20, pneumonia, TBC dan diare adalah tiga penyebab utama kematian (Todar, 2008).

Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat ditanggulangi dengan pemberian antibakteri. Penggunaan antibakteri yang tidak rasional atau tidak sesuai dengan kebutuhan akan menyebabkan terjadinya resistensi. Resistensi menyebabkan infeksi bakteri membutuhkan penanganan khusus oleh antibakteri dengan daya kerja yang lebih kuat dan optimal. Penemuan dan pengembangan antibakteri baru perlu dilakukan untuk mencari lebih banyak alternatif antibiotik.

Tanaman merupakan adalah satu sumber potensial yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Saat ini, penemuan obat baru yang didasarkan pada penggunaan tanaman herbal mulai banyak dikembangkan sebagai potensi obat baru melalui investigasi senyawa fitokimia dari tumbuhan (Marvibaigi dkk., 2014) sejalan dengan tren *back to nature* atau kembali ke alam dengan pemanfaatan bahan-bahan alam. Salah satu tanaman yang telah lama dimanfaatkan di Indonesia

yaitu kemiri. Di Malaysia kemiri dimanfaatkan sebagai obat sakit kepala dan sakit perut, sedangkan di Indonesia terutama di daerah Jawa kemiri digunakan sebagai obat diare dan disentri. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya kemiri memiliki beberapa aktivitas yaitu pada bagian batang sebagai penyembuh luka (*wound healing*) (Locher dkk.,1995), pada bagian kulit batang antara lain sebagai antikanker (Ningsih, 2017) dan antibakteri (kulit batang kemiri) (Mukhriani, 2018). Pada bagian daun aktivitas kemiri yang telah dilaporkan antara lain sebagai analgesik (Meyresilva dkk.,1998), antiinflamasi dan antipiretik (Junaid dkk., 2010), dan antihiperlipidemia (mekanisme penurunan lemak) (Pedrosa dkk., 2002). Skrining fitokimia dari ekstrak metanol daun kemiri didapatkan bahwa daun kemiri memiliki kandungan antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, sterol (Junaid dkk.,2010).

Berdasarkan latar belakang diatas, kemiri memiliki potensi untuk dikembangkan dalam pencarian antibakteri baru. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol 96% dan fraksi daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri gram positif dimana digunakan *S. aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *E. coli*. Pada penelitian ini digunakan bagian tanaman yaitu daun, dimana daun dipilih dikarenakan masih minimnya penelitian mengenai aktivitas antibakteri kemiri pada bagian tersebut. Alasan lainnya yaitu daun mudah untuk didapatkan dan jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan bagian tanaman yang lain serta regenerasi dari daun lebih cepat sehingga ketersediaannya dapat terjamin. Daun selanjutnya diekstraksi untuk didapatkan ekstrak kental. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun kemiri yaitu etanol 96%. Pelarut ini dipilih karena merupakan pelarut universal yang bersifat polar dan mudah menguap sehingga baik digunakan sebagai pelarut organik (Poeloengan dkk., 2007). Ekstrak yang didapatkan selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan metanol-air (polar). Digunakan 3 macam fraksi dengan perbedaan tingkat kepolaran dengan tujuan untuk memisahkan metabolit yang terdapat dalam ekstrak daun kemiri, sehingga dapat terpisah sesuai dengan kelarutannya mengikuti teori "*like dissolve like*" dimana senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki tingkat

kepolaran yang sama. Ekstrak dan fraksi yang didapatkan diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri ini dipilih karena merupakan dua bakteri dengan sifat yang berbeda yaitu gram positif dan gram negatif, sehingga dapat dilakukan skrining apakah kemiri 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 *disk* atau cakram. Pengamatan hasil uji dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang dihasilkan dari pengujian pada mikroba. Pemilihan metode difusi didasarkan atas beberapa hal antara lain hasil yang mudah ditafsirkan, aplikasi mudah dilakukan, ekonomis dan efisien (Balouiri dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 6538?
2. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922?
3. Apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri (*A. moluccana*) antara bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dan *E. coli* ATCC 25922?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk:

1. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah memberikan perbedaan yang bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri

(*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

2. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah memberikan perbedaan yang bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. Untuk mengetahui hasil yang didapat apakah ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri (*A. moluccana*) antara bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dan *E. coli* ATCC 25922.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai, maka penelitian ini diharapkan mempunyai manfaat sebagai berikut :

1. Hasil dari penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai potensi antibakteri daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dan *E. coli* ATCC 25922..
2. Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan bahan informasi dalam penelitian lanjutan daun kemiri (*A. moluccana*) sebagai pengembangan antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Kemiri

2.1.1 Taksonomi Tanaman Kemiri

Klasifikasi Tanaman Kemiri adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)

Ordo : Euphorbiales

Famili : Euphorbiaceae

Genus : *Aleurites*

Spesies : *Aleurites moluccana*, (L.) Willd. (Krisnawati dkk., 2011)



Gambar 2. 1(a) Gambar tanaman *A. moluccana* (b) daun dan bunga (c) buah (sumber: dokumentasi pribadi)

2.1.2 Morfologi Tanaman Kemiri

Pohon kemiri tergolong pohon yang berukuran sedang dengan ketinggian bisa mencapai hingga 20 m dan diameter 90 cm. Bentuk cabang pohon kemiri umumnya berliku, tidak teratur dan melebar menggantung sampai bagian samping. Kulit batangnya berwarna abu-abu coklat dan bertekstur agak halus dengan garis vertikal. Daunnya berbentuk khas oval, berwarna hijau tua untuk

daun tua. Terdiri dari 3-5 helai daun dari pangkal berselang-seling dan pinggir daun bergelombang. Panjang daun mencapai 10-20 cm. Bagian atas daun muda mengkilap yang kemudian seiring bertambahnya umur pohon akan berwarna hijau tua. Permukaan bagian bawah daun mengkilap dan berbulu halus. Bunga kemiri memiliki kelamin ganda dimana bunga jantan dan bunga betina berada dalam satu pohon yang sama. Bunga kemiri berwarna putih kehijauan, berbau harum dan tersusun dalam gugusan sepanjang 10-15 cm dimana bunga betina dikelilingi oleh banyak bunga jantan berukuran kecil. Mahkota bunga berwarna putih dan terdiri dari 5 kelopak bunga berbentuk bulat lonjong. Buah kemiri berwarna hijau sampai kecoklatan, berbentuk oval sampai bulat dengan panjang 5-6 cm dan lebar 5-7 cm. Satu buah kemiri umumnya terdiri 2-3 biji tetapi pada buah jantan kemungkinan hanya ditemukan 1 biji. Kulit biji umumnya kasar hitam keras dan berbentuk bulat panjang sekitar 2,5-3,5 cm (Krisnawati, dkk., 2011).

2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Kemiri

Skринing fitokimia dari ekstrak metanol daun kemiri didapatkan bahwa daun kemiri memiliki kandungan antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, sterol, asam amino dan karbohidrat (Junaid dkk.,2010). Selain itu menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Meyresilva (1998) didapatkan isolat dari ekstrak daun kemiri berupa n-hentriacontane, fitosterol meliputi β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, dan triterpen meliputi α dan β - amirin.

2.1.4 Penelitian Tanaman Kemiri

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya kemiri memiliki beberapa aktivitas antara lain ekstrak metanol dan ekstrak air batang kemiri memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* sebagai penyembuh luka (*wound healing*) (Locher dkk.,1995). Pada bagian kulit batang kemiri dilakukan penelitian antara lain sebagai antikanker yang dilakukan oleh Ningsih (2017) menunjukkan fraksi ekstrak etil asetat memiliki penghambatan terhadap sel Hela,

dan aktivitas antibakteri dengan pengujian fraksi tidak larut n-heksan terhadap bakteri *E. coli*, *S. mutans*, *S. aureus*, *S. typhi*, *B. Subtilis*, dan *V. colera* (Mukhriani, 2018). Pada bagian daun aktivitas kemiri yang telah dilaporkan antara lain sebagai analgesik (Meyresilva dkk.,1998) yaitu dengan pengujian terhadap tikus yang diinduksi asam asetat menggunakan ekstrak metanol air dan fraksi ekstrak etanol daun kemiri. Penelitian lain pada bagian daun kemiri menunjukkan aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun kemiri menurunkan edema pada kaki tikus yang diinduksi oleh caragenan dan pengujian aktivitas antipiretik dilakukan dengan mengukur suhu perut tikus dengan menggunakan termometer setelah dilakukan induksi dengan pyrexia (Junaid dkk., 2010), dan aktivitas antihiperlipidemia (mekanisme penurunan lemak) ekstrak metanol daun kemiri yang dilakukan pada tikus (Pedrosa dkk., 2002).

2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan suatu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengestraksi simplisia nabati atau simplisia hewani dari zat aktifnya menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan. Pembuatan sediaan ekstrak bertujuan agar zat berkhasiat pada simplisia mempunyai kadar tinggi, sehingga memudahkan pengaturan dosis untuk zat berkhasiat tersebut (Azmir dkk., 2013; Mandal dkk., 2015). Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu dengan cara dingin dan cara panas (Anonim, 2000).

Ekstraksi yang dipilih yaitu dengan menggunakan metode ultrasonikasi. Metode ini dilakukan 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 sertamenimbulkan fraksi interfase. Hasil yang didapatkan tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi. Metode ultrasonik

merupakan metode yang paling cepat prosesnya untuk mendapatkan ekstrak dengan hasil rendemen yang didapatkan lebih banyak (Sholihah dkk., 2017).

2.2.2 Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya antara pelarut air dan pelarut organik seperti metanol, etanol, etil asetat, heksana dan petroleum eter. Fraksinasi terdiri dari dua macam yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair (Harborne, 1998). Fraksinasi padat-cair menggunakan prinsip keseimbangan antara fase padat dan fase cair. Fraksinasi padat-cair dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan cara mengalirkan fase gerak melewati kolom ke arah bawah yang mengikuti gaya gravitasi bumi.

Pada penelitian ini metode fraksinasi dipilih menggunakan metode partisi cair-cair karena metode ini memiliki kelebihan antar lain teknik pengerjaan yang sederhana, tidak menggunakan alat khusus, mampu memisahkan senyawa dalam jumlah banyak, dan biaya yang digunakan murah (Pereira dkk., 2013). Metode fraksinasi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Teknik pemisahan ekstraksi cairan ini biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan. Solut atau senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasenya masing-masing bergantung kepada kelarutannya terhadap fase tersebut dan kemudian akan terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Odugbemi, 2008).

2.3 Tinjauan Umum Antibakteri

2.3.1 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau membunuh (bakterisidal), dan digunakan untuk kepentingan pengobatan infeksi pada manusia dan hewan (Ganiswara, 1995). Antibakteri memiliki dua aktivitas yaitu bakteriostatik artinya bahan yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan apabila bahan antibakteri dihilangkan maka perkembangbiakan bakteri berjalan seperti semula, dan bakterisidal yang artinya bahan antibakteri digunakan untuk membunuh bakteri, dan apabila bahan dihilangkan bakteri yang sudah mati tidak dapat tumbuh lagi seperti semula (Lay, 1992). Idealnya bahan antibakteri memiliki toksisitas yang selektif terhadap parasit tetapi tidak membahayakan inangnya (Jawetz dkk., 1995).

Antibakteri dapat didapatkan dari beberapa sumber antara lain antibakteri dari tanaman, sumber laut (*marine sources*), mikroorganisme, dan lainnya. Contoh antibakteri yang berasal dari tanaman yaitu lada hitam yang mengandung piperin dilaporkan memiliki aktivitas dalam melawan fungi, *Lactobacillus*, *Mocrococcus*, *E. Coli* (Cowan, 1999). Antibakteri yang didapatkan dari sumber laut contohnya massetolides yang diperoleh dari isolasi bakteri pada alga merah (massetolides A-D) dan cacing tabung (massetolides E-H) dimana massetolides A menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap memiliki *M. tuberculosis* dan *M. avium* (Kasanah dan Hamann, 2016).

2.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode uji antibakteri digunakan untuk menentukan aktivitas penghambatan senyawa terhadap bakteri. Pengujian dengan metode difusi, dilusi dan bioautografi dapat digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak tanaman (Balouiri dkk., 2016). Metode uji antibakteri yang dapat digunakan antara lain metode difusi (cakram, silinder dan sumuran), dilusi atau pengenceran, bioautografi (kontak, langsung, pencelupan).

Metode difusi dengan menggunakan cakram dipilih karena teknik pengerjaannya yang mudah, sederhana tidak menggunakan alat khusus dan biaya yang murah. Namun penggunaan metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pengukuran zona hambat yang dilakukan secara manual dengan menggunakan jangka sorong sehingga proses pengukuran diameter zona hambat membutuhkan waktu yang lama (Balouiri dkk., 2016).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram juga dilakukan dengan menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang dapat digunakan dalam pengujian antibakteri yaitu antibakteri yang telah banyak dipasarkan seperti kloramfenikol, gentamisin, eritromisin, dan lainnya sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut larutan uji. Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini yaitu gentamisin dan DMSO 10%.

Gentamisin merupakan antibiotik yang termasuk dalam golongan aminoglikosida yang didapatkan dari isolasi *Micromonospora purpurea*. Antibiotik gentamisin merupakan antibiotik yang memiliki sifat fisika kimia yang menyerupai golongan Aminoglikosida yang lain dan efektif melawan gram positif dan negatif. Gentamisin sulfat pada dosis 2-10 µg/mL menghambat secara in vitro beberapa golongan *staphylococcus* dan beberapa bakteri gram negatif yang lain. Gentamisin aktif dalam terapi tunggal tapi juga bersinergis dengan antibiotik golongan beta laktam dalam menghambat bakteri gram negatif (Katzung dkk., 2009).

Gentamisin memiliki mekanisme kerja yaitu berikatan pada protein ribosomal sub unit 30S dan menghambat sintesis protein sehingga terjadi kerusakan membran yang bersifat irreversibel dan letal pada sel. Gentamisin digunakan pada beberapa infeksi utama seperti sepsis dan pneumonia. Gentamisin yang dikombinasikan dengan vancomycin atau penisilin akan menghasilkan efek bakterisidal yang poten (Katzung dkk., 2009).

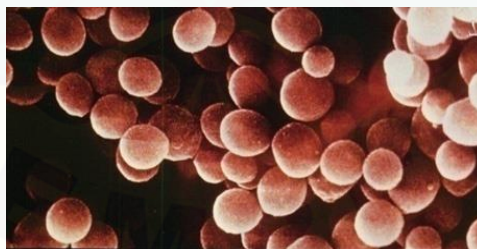
2.4 Tinjauan Umum Bakteri Uji

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tergolong dalam bakteri gram positif yang memiliki bentuk bulat/*coccus* dan jika diamati dibawah mikroskop akan terlihat seperti anggur. Memiliki ukuran diameter 1 μm dan tersusun dalam koloni dan tidak beraturan, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu dengan rentang 15-45°C. Sel *S. aureus* berkembang membentuk rantai dan berwarna kuning (Todar, 2008a).

S. aureus menginfeksi manusia terutama pada daerah nasal, membran mukosa, saluran pernafasan, serta saluran pencernaan. *S. aureus* menyebabkan bermacam-macam infeksi yang membentuk nanah dan bersifat toksin pada manusia (Todar, 2008a). *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi seperti bisul, mastitis, pneumonia, meningitis, endokartitis dan lain-lain. Sifat khas *S. aureus* yang bersifat patogen adalah penahanan lokal. *S. aureus* membentuk enterotoksinyang stabil pada pemanasan. Enterotoksin dapat menyebabkan gejala keracunan makanan seperti mual, diare, dan muntah-muntah.

Pada penelitian ini digunakan bakteri *S. aureus* ATTC 6538. Strain bakteri ini merupakan bakteri yang digunakan untuk aplikasi tes agen antibakteri, disinfektan, *drug recovery*, dan lain-lain (ATCC, 2019a).



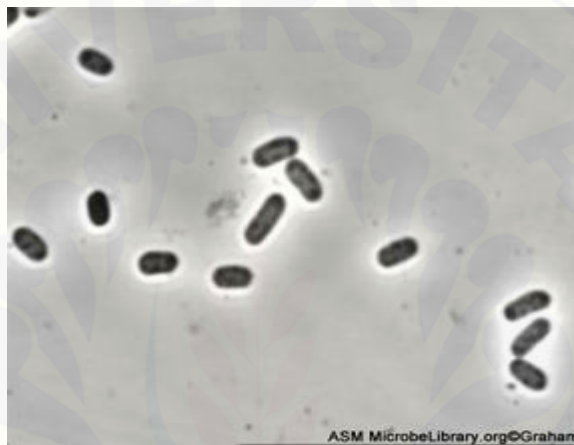
Gambar 2. 2Morfologi *S. aureus* (Sumber: Todar, 2008a)

2.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk bundar, cembung, dan membentuk koloni halus dengan tepi yang jelas. Ciri-ciri bakteri *E. coli* adalah memberikan hasil positif pada tes indol, lisin dekarboksilasi, dan fermentasi manitol dan menghasilkan gas yang berasa dari glukosa (Jawetz dkk.,

2007). *E. coli* berbentuk batang, bergerak, tidak berspora. Pada media laktosa yang terfermentasi, *E. coli* terlihat berkilau, bergerak, datar dan membentuk koloni yang cair.

Bakteri *E. coli* bertanggung jawab terhadap tiga tipe infeksi pada manusia: infeksi saluran kencing (ISK), meningitis, dan penyakit saluran cerna (Todar, 2008b). Pada penelitian ini digunakan bakteri *E. coli* ATTC 25922. Strain bakteri ini merupakan bakteri yang digunakan untuk aplikasi tes kerentanan terhadap antibiotik, untuk diagnostik dan lainnya (ATCC, 2019b).



Gambar 2. 3 Morfologi *E. coli* (Sumber: Todar,2008b)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Pada penelitian ini, dilakukan penelitian *True Experimental Laboratories* yang merupakan jenis penelitian dengan melakukan penelitian langsung di Laboratorium.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

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

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang termasuk variabel bebas meliputi konsentrasi ekstrak etanol 96%, fraksi heksana, fraksi etil asetat dan residu daun kemiri.

3.3.2 Variabel Terikat

Pada penelitian ini yang termasuk variabel terikat meliputi zona hambat ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri pada bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dan *E. coli* ATCC 25922 yang tumbuh pada media *Mueller Hinton*.

3.3.3 Variabel Terkontrol

Pada penelitian ini yang termasuk variabel terkontrol adalah proses sterilisasi, metode ekstraksi ultrasonikasi daun kemiri, metode fraksinasi daun kemiri menggunakan partisi cair-cair, lama waktu inkubasi, prosedur penelitian dan cara pengukuran untuk uji antibakteri.

3.4. Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah

- a. Sampel yang digunakan yaitu daun dari tanaman *A. moluccana*. Daun yang diambil yaitu daun yang tua dengan kriteria warna daun hijau tua. Daun kemiri yang digunakan diambil dari pohon yang tumbuh di kebun warga Desa Pandansari Kecamatan Tempeh Kidul Kabupaten Lumajang. Pengambilan dilakukan pada bulan Januari 2019 yang selanjutnya dideterminasi di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.
- b. Ekstrak etanol adalah ekstrak yang diperoleh dari simplisia yang diserbuk kemudian diesktraksi menggunakan metode ultrasonik dengan etanol 96%.
- c. Fraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi heksana, fraksi etil asetat dan residu. Fraksi-fraksi tersebut diperoleh dari partisi cair-cair ekstrak etanol *Aleurites moluccana* yang telah dilarutkan menggunakan air dan metanol dengan perbandingan volume 1:9 dilanjutkan penambahan heksana p.a dan etil asetat p.a.

3.5. Rancangan Penelitian

3.5.1 Rancangan Percobaan

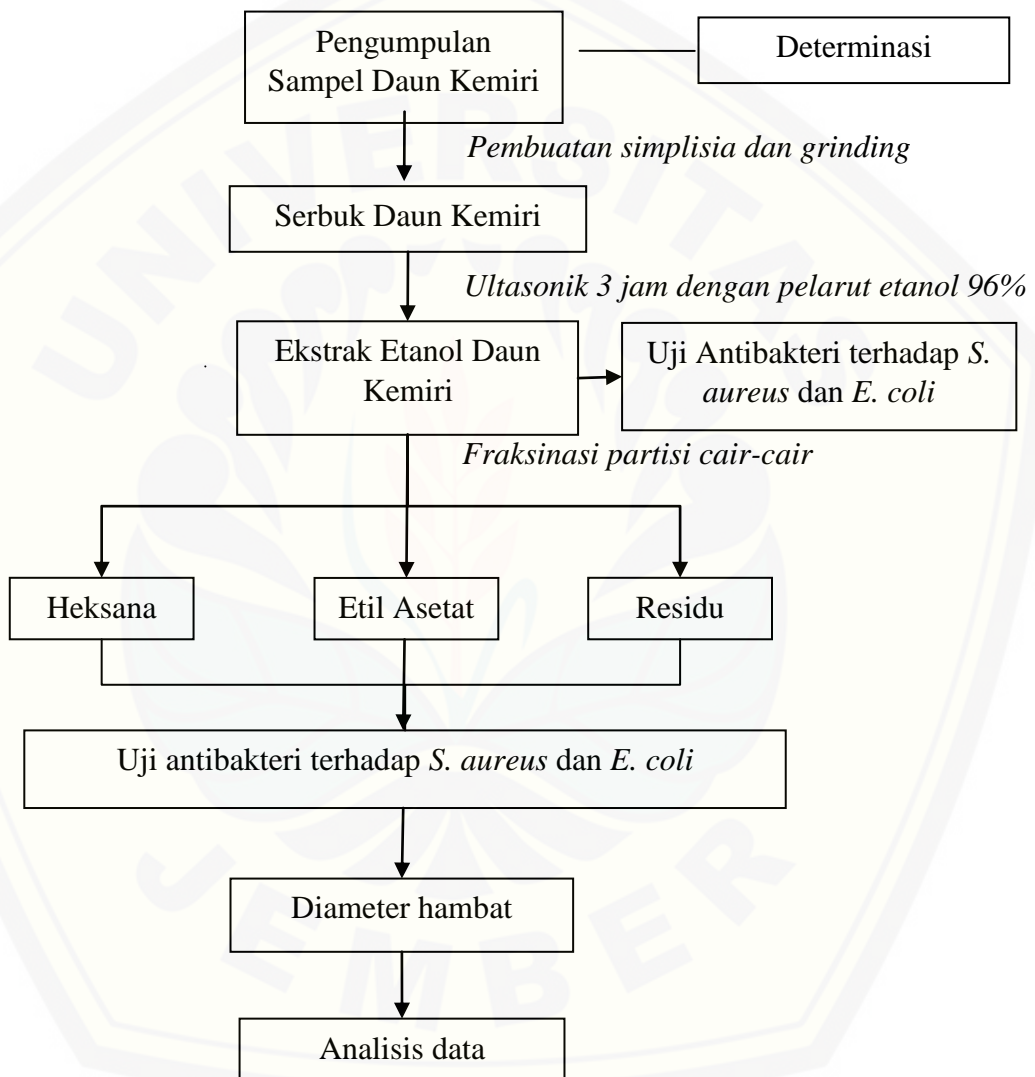
Penelitian ini mencakup uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Tahap awal dari penelitian ini dimulai dengan pengumpulan bahan. Bahan yang sudah didapatkan dibersihkan dan dikeringkan untuk selanjutnya dapat dihaluskan sehingga menjadi serbuk.

Serbuk daun kemiri kemudian diultrasonikasi dengan menggunakan etanol 96% selama 3 jam untuk kemudian dipekatkan hingga didapatkan ekstrak kental daun kemiri. Selanjutnya ekstrak kental diuapkan di dalam lemari asam sehingga didapatkan ekstrak kering. Ekstrak kering yang didapat diuji aktivitas antibakteri dan juga difraksi dengan menggunakan pelarut heksana, etil asetat dan etanol. Masing-masing fraksi diuji aktivitas antibakterinya. Zona bening yang dihasilkan

dari uji antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun kemiri diukur dan data dianalisis menggunakan SPSS 24.

3.5.2 Alur Penelitian

Skema alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Skema Alur Penelitian

3.6 Bahan Dan Alat

3.6.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : serbuk daun kemiri, etanol 96% sebagai pelarut, heksana dan etil asetat untuk proses fraksinasi, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk media uji, media *Nutrient Agar* (NA) sebagai media pertanaman dan peremajaan bakteri. Bahan yang digunakan untuk skrining antara lain meliputi HCl, NaCl, pereaksi mayer, wagner, NH₄OH, kloroform, Dragendorff, Magnesium, uap amonia, H₂SO₄, anisaldehyd asam sulfat, FeCl₃, gelatin, plat KLT. Bahan yang digunakan sebagai bahan uji meliputi aquades steril, NaCl fisiologis, DMSO (Dimetil Sulfoksida) 10%, standart Mc Farland 0,5, bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Kontrol yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu cakram gentamisin dengan konsentrasi 10µg.

3.6.2 Alat

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

3.7 Ekstraksi Bahan

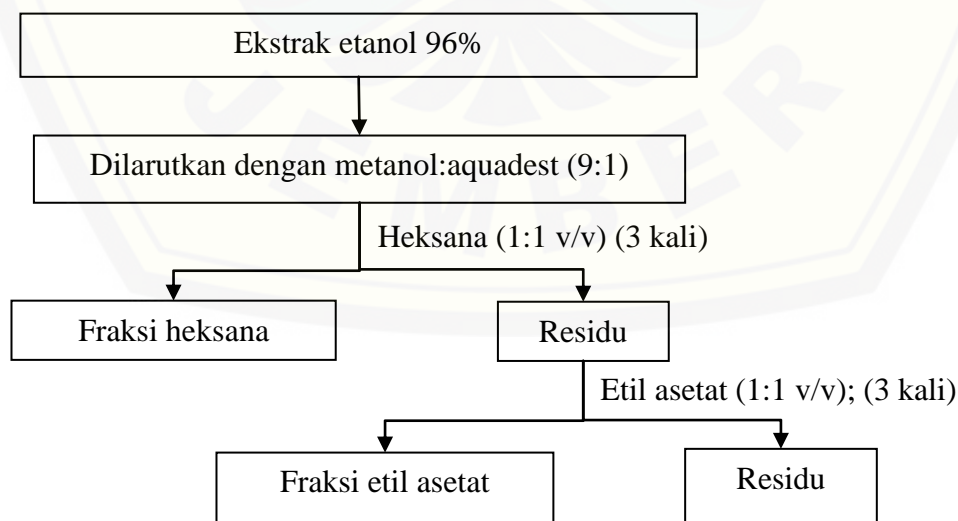
Serbuk kering daun kemiri di ekstraksi dengan metode ultasonik menggunakan etanol 96%. Serbuk kering ditimbang sebanyak 100 gram dilakukan ultrasonikasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 750 mL. Maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring melalui corong *Buchner* dan didapatkan filtrat. 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 350 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.

$$\text{Persen rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak kental(g)}}{\text{berat serbuk(g)}} \times 100\% \dots (3.1)$$

3.8 Fraksinasi Dengan Corong Pisah

Setelah didapatkan ekstrak kental, ekstrak difraksinasi untuk mendapatkan fraksi heksana, etil asetat dan residu dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Sebanyak 10 gram ekstrak kental dilarutkan dalam metanol: aquades (1:9). Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan heksana p.a (1:1), 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 penambahan heksana sampai lapisan heksana menjadi bening. Lapisan metanol-aquades kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat p.a (1:1) 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 kemiri (*Aleurites moluccana*) ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2 Alur fraksinasi ekstrak daun kemiri (*A. moluccana*)

3.8.1 Pembuatan Media Bakteri

a. *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media NA dilakukan dengan menimbang serbuk NA sebanyak 23 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades lalu dipanaskan sampai mendidih dan tepat larut (Balouiri dkk., 2016). Larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 5 mL. Media NA disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

b. *Media Mueller Hinton Agar* (MHA)

Pembuatan media MHA dilakukan dengan menimbang serbuk MHA sebanyak 38 gram dilarutkan dalam 1 liter aquades dan dipanaskan sampai mendidih hingga semuanya larut (Balouiri dkk., 2016). Larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 15 mL. Media kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.8.2 Peremajaan Bakteri

Biakan bakteri murni diremajakan pada media *Nutrient Agar* (NA) dalam tabung reaksi dengan cara menggoreskan pada media NA miring. Proses tersebut dilakukan secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api 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 20 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.

3.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diremajakan pada umur 20 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 (Lahuerta Zamora dan Perez-Gracia, 2012).

3.8.4 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji ekstrak dibuat dengan lima seri konsentrasi yaitu 200, 400, 600, 800, dan 1.000 µg/mL. Larutan uji fraksi dibuat dengan 5 seri konsentrasi yang sama yaitu 200, 400, 600, 800, dan 1.000 µg/mL. Larutan uji dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg dalam 1 mL. Kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi masing-masing ekstrak dan fraksi sebanyak 200 µL. Pelarut yang digunakan untuk masing-masing konsentrasi adalah pelarut DMSO 10%.

3.8.5 Sterilisasi

- a. Sterilisasi dengan pemijaran, yaitu sterilisasi dengan cara pembakaran alat-alat diatas lampu spiritus seperti jarum ose, spreader dan pinset.
- b. 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* (MHA), dan NaCl fisiologis.

3.9 Tahapan Pengujian

3.9.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun kemiri. Skrining fitokimia dilakukan dengan uji tabung atau uji warna dan uji KLT. Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, triterpen (Harbone,1998). Identifikasi dilakukan sebagai berikut

a. Uji alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,1 dilarutkan dalam 2mL asam klorida, dipanaskan 5 menit kemudian ditambahkan 0,1 gram NaCl dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 5mL. 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 5mL kloroform kemudian disaring. Filtrat diuapkan kemudian dilarutkan dalam metanol. Filtrat yang didapatkan ditotolkan ke plat silika gel yang kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi dragendorf. Adanya alkaloid dalam ekstrak ditunjukkan dengan timbulnya warna jingga pada plat silika gel.

b. Uji flavonoid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dikocok dengan menggunakan heksana berkali-kali sampai heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol kemudian dibagi menjadi 4 bagian, masing-masing disebut A, B, C, dan D. Larutan A digunakan sebagai blanko, larutan B ditambahkan HCl pa kemudian dipanaskan dan diamati perubahan warna yang terjadi jika terjadi perubahan warna menjadi merah terang atau ungu menunjukkan ada senyawa leukoantosianin (dibandingkan dengan blanko). Larutan C ditambahkan dengan HCl pa dan Mg. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah atau jingga. Larutan D digunakan untuk uji KLT dengan ditotolkan pada plat KLT. Plat KLT selanjutnya dipaparkan uap amonia, flavonoid positif jika terbentuk noda kuning setelah dipapar uap amonia.

c. Uji saponin, triterpenoid, dan steroid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dilarutkan dalam aquades pada tabung reaksi kemudian dikocok kuat-kuat kira-kira selama 30 detik. Uji buih positif mengandung saponin jika terbentuk buih stabil berbentuk seperti sarang lebah selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm diatas permukaan cairan.

Reaksi warna dilakukan dengan melarutkan ekstrak sebanyak 0,1 gram dalam 5 mL etanol kemudian dibagi menjadi 3 bagian yaitu A,B, dan C. Larutan A digunakan sebagai blanko, larutan B ditambahkan 3 tetes asam anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat, kemudian dikocok perlahan. Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya saponin steroid, warna merah ungu menunjukkan adanya triterpen steroid dan warna kuning muda menunjukkan adanya saponin jenuh. Larutan C ditambahkan 1-2 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Jika

terbentuk cincin berwarna merah saat penambahan H_2SO_4 menunjukkan adanya steroid tak jenuh.

Uji KLT dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan sapogenin steroid atau triterpenoid, dan terpenoid atau steroid bebas. Identifikasi sapogenin dilakukan dengan 0,1 gram sampel dilarutkan dengan HCl 2N, dididihkan dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin dinetralkan dengan amonia, kemudian diekstraksi dengan n-heksan sebanyak 3 kali, kemudian diuapkan dan selanjutnya ditotolkan pada pelat KLT. Adanya sapogenin ditunjukkan dengan warna merah ungu (ungu) dengan penampak noda anisaldehyda asam sulfat dan menunjukkan warna merah muda untuk pereaksi antimon klorida. Identifikasi terpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan menggunakan etanol, kemudian ditotolkan ke plat KLT yang selanjutnya disemprot dengan menggunakan pereaksi anisaldehyd asam sulfat. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu.

d. Uji polifenol dan tanin

Sebanyak 0,1 gram sampel ditambah aquades panas, diaduk kemudian ditunggu sampai temperature kamar, lalu ditambah 3-4 tetes NaCl 10%, diaduk dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian A, B, dan C. Larutan A digunakan sebagai blanko dan digunakan untuk uji KLT. Larutan A ditotolkan pada plat KLT kemudian di semprot dengan menggunakan $FeCl_3$ dan jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel, Larutan B ditambahkan larutan gelatin dan ditambah NaCl 10%, jika terjadi endapan menunjukkan adanya tanin. Larutan C ditambahkan larutan $FeCl_3$ dan diamati perubahan warna yang terjadi. Jika 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.

3.9.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram menggunakan *blank disk*. Stok bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dan *E. coli* ATCC 25922 dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% disiapkan lalu 100 μ L suspensi bakteri dituangkan pada permukaan media *Mueller Hinton* di cawan petri dan diratakan menggunakan spreader. Selanjutnya diletakkan *disk* yang telah dipreparasi sebelumnya dengan ditambahkan larutan uji sebanyak 10 μ L masing-masing konsentrasi. Kontrol negatif dan kontrol positif yang digunakan adalah larutan DMSO 10% dan antibiotik gentamisin 10 μ g. Masing-masing cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Aktivitas antibakteri diamati keesokan harinya berdasarkan diameter zona hambat yang ditandai dengan daerah bening yang terbentuk di sekeliling *disk*.

3.9.3 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan cara memegang cawan petri beberapa inci di atas benda dengan latar belakang berwarna hitam atau gelap (CLSI, 2017). Zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Cara pengukuran yaitu dengan membuat dua garis tegak lurus melalui titik pusat *blank disk* kemudian bentuk garis yang ketiga di antara kedua garis tegak lurus terhadap dua garis lurus tersebut. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pada tempat yang berbeda. Hasil pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi 3 untuk mendapatkan besarnya zona hambatan yang terbentuk (Darjono, 2011).

3.9.4 Analisis Data

Aktivitas antibakteri dari senyawa uji diketahui berdasarkan diameter zona hambat terhadap pertanaman bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Seluruh data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan software SPSS 22. Pertama-tama, data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Jika data terdistribusi secara normal dan homogen maka uji dilanjutkan dengan uji

one way ANOVA. Jika data yang terdistribusi tidak normal dan homogen maka dilakukan transformasi data hingga data yang diperoleh normal dan homogen. Apabila setelah dilakukan transformasi data yang diperoleh terdistribusi secara normal dan homogen lalu dilanjutkan dengan uji analisis *one way ANOVA*. Jika data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan homogen setelah dilakukan transformasi maka dilanjutkan dengan uji analisis statistik alternatif menggunakan *Kruskall Wallis*. Jika data yang diperoleh melalui uji *one way ANOVA* atau *Kruskall Wallis* telah signifikan, maka dilanjutkan analisis statistik dengan LSD (*Least Significant Difference*) atau *Mann-Whitney* untuk *Kruskall Wallis*. Perbedaan dianggap memiliki nilai signifikan apabila nilai $p < 0,05$ dengan taraf kepercayaan 95%.

BAB 5. KESIMPULAN

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 kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 6538 dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah residu, fraksi heksana, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat.
2. Ada perbedaan bermakna zona hambat antara ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat dan residu daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 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 kemiri (*A. moluccana*) dengan 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 kemiri (*A. moluccana*) dengan menggunakan metode yang lain
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun kemiri (*A. moluccana*) terhadap bakteri gram positif dan gram negatif lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Dalam Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- ATCC. 2019a. *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 6538™) <https://www.atcc.org/products/all/6538.aspx> [Diakses pada 27 April 2019].
- ATCC. 2019b. *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC® 25922™) <https://www.atcc.org/products/all/25922.aspx> [Diakses pada 27 April 2019].
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafour, 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.
- Cowan, Muphy M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, p. 564–582.
- Dai, J., dan Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis And Their Antioxidant And Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
- Dévéhat, F. L. Le, S. Tomasi, J. Boustie, dan D. Fontanel. 2002. Flavonols from *scurrulla ferruginea* danser (Ioranaceae). *Zeitschrift Fur Naturfoschung – Section C journal of Biosciences*. 57(11-12):1092-1096.
- Ganiswarna, S. G. 2008. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods; A Guide to Modern Techniques Of Plant Analysis*.
- Haryoto, Nisa, R. A Dan Munawaroh, Rima. 2013. *Aktivitas Larvasida Fraksi Polar Ekstrak Etanol Daun Inggu (Ruta Angustifolia L.) Terhadap Larva Nyamuk Anopheles Aconitus Dan Anopheles Maculatus Beserta Profil Kromatografinya*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor My, Oskoueian E. Flavonoid Analyses And Antimicrobial Activity Of Various Parts Of Phaleria Macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit. *Int J Mol Sci*. 2011;12: 3422-3431.
- 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.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 1995. *Medical Microbiology*. Edisi 20th. New York: Mc Graw Hill.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2007. *Medical Microbiology*. Edisi 24th. New York: Mc Graw Hill.
- Junaid Niazi, Vikas Gupta, Prithviraj Chakarborty, Pawan Kumar. 2010. Anti-Inflammatory and Antipyretic Activity of *Aleuritis moluccana* Leaves Vol.3 Issue 1. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* ISSN 0974-2441.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Traore, A. S. (2005). Antibacterial Activity Of Alkaloids From *Sida Acuta*. *African Journal Of Biotechnology*, 4(12), 195-200.
- Kasanah, Noer dan Mark T. Hamann. 2016. Development of antibiotics and the future of marine microorganisms to stem the tide of antibiotic resistance . *Curr Opin Investig Drugs* 5(8): 827–837.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan J. T. Anthony. 2009. *Basic And Clinical Pharmacology*. Edisi 11. San Fransisco: Mc Graw Hill.
- Katzung, B.G. Terjemahan A.W. Nugroho, Et Al. 2010. *Farmakologi Dasar Dan Klinik Edisi Ke-10*. Cetakan 2012. Jakarta: Egc
- Krisnawati, H., Maarit K., Markku K. 2011. Ekologi, Silvikultur dan Produktivitas *Aleurites moluccana* (L.) Willd. Bogor: Cifor
- Lay, B. W. dan Hastowo. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Press. Jakarta.
- Locher, C.P., M.T. Burch, H.F. Mower, J. Berestecky, H. Davis, B. Van Poel, A. Lasure, D.A. Vanden Berghe, dan A.J. Vlietinck. 1995. Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 49, 23-32.
- Mandal, S. C., V. Mandal, dan A. K. Das. 2015. *Essentials Of Botanical Extraction: Principles And Applications*. London: Elsevier Inc.
- Marvibaigi, M., N. Amini, E. Supriyanto, S. Jamil, F. Adibah, A. Majid, dan S. Khangholi. 2014. Total phenolic content , antioxidant and antibacterial

- properties of scurrula ferruginea extracts. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 5(70):65–72.
- MeyreSilva C., T. C. Moral, M. W. Biavatti, A. R. S. Santos, J. DalMagro, R. A. Yunes, V. Cechinel-Filho. 1998. Preliminary phytochemical and pharmacological studies of *Aleurites moluccana* leaves [L.] Willd. *Phytomedicine*, Vol. 5(2), pp. 109-113
- Mukhriani, Asrul Ismail, Haeria, Syamsuri Syakri, Nurfitra Fadiyah. 2018. Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri Fraksi Polar Dan Non Polar Kulit Batang Kemiri (*Aleurites Moluccana* L. Willd) Dengan Metode Bioautografi Kontak. *JF FIK UINAM* Vol.6 No.1
- Ningsih, Wahyu Lyana. 2017. Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Kemiri (*Aleurites Moluccana* L. Willd) Terhadap Sel Kanker Hela. Makasar : Universitas Islam Negeri Alaudin Press.
- Odugbemi, T. 2008. *A Textbook Of Medicinal Plants From Nigeria*. Yoba-Lagos, Nigeria: University of Lagos Press.
- Pedrosa R. C., C. MeyreSilva, V. CechinelFilho, J. C. Benassi, L. F. S. Oliveira, V. Zancanaro, J. Dal Magro4 and R. A. Yunes 2002. Hypolipidaemic Activity of Methanol Extract of *Aleurites moluccana*. *Wiley InterScience Phytother. Res.* 16, 765–768
- Pereira, J., J. Goncalves, V. Alves, dan J. S. Camara. 2013. Microextraction Using Packed Sorbent As An Effective And High-Through Put Sample Extraction Technique: Recent Applications And Future Trends. *Sample Preparation*. 1:38-53.
- 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*.
- Pramono, S. 1985. Pasca Panen Tanaman Obat Ditinjau Dari Kandungan Kimianya. *Prosiding Lokakarya Pembudidayaan Tanaman Obat*. 2:67-84
- Rusli, S. dan D. Darmawan. 1998. Pengaruh Cara Pengeringan Dan Type Pengeringan Terhadap Mutu Jahe Kering. *Bul Litro*, 3(2) : 80 – 83.
- Sholihah, M., U. Ahmad, dan I. W. Budiastira. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik Untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi Dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis. *JTEP Jurnal Keteknikan 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.

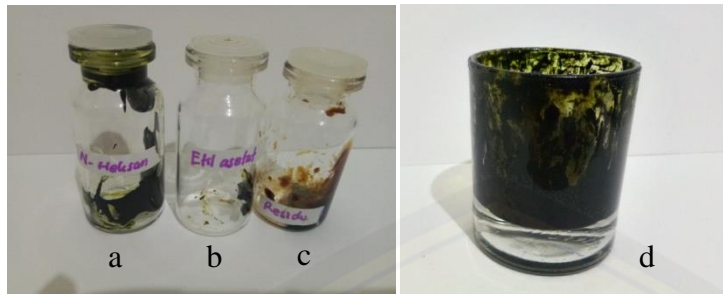
- Tanaya, Vivi, Rurini Retnowati, dan Suratmo. 2015. Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Katsuri. *Kimia Student Journal*, 1 (1):778-784
- Timotius, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*, Cetakan I. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana.
- Todar, K. 2008. Bacterial Pathogens of Humans. <http://textbookofbacteriology.net> [Diakses pada 22 Januari 2019].
- Todar, K. 2008a. Staphylococcus Aureus And Staphylococcal Disease. <http://textbookofbacteriology.net> [Diakses pada 22 Januari 2019].
- Todar, K. 2008b. Pathogenic E. Coli. www.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 2018*

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
<u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN</u> No: 05/PL17.3.1.02/LL/2019
Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Universitas Jember No: 187/UN25.13/LL/2019 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 NIM : 152210101095 Jur/Fak/PT : Fakultas Farmasi/ Universitas Jember
maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: <i>Kingdom: Plantae; Divisio: Spermatophyta; Sub Divisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Euphorbiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: Aleurites; Spesies: Aleurites moluccana, Willd</i>
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.
Jember, 31 Januari 2019 Kepala Laboratorium Tanaman  Lark Mastuti, MP NIP. 195808201987032001

Lampiran 4.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi



keterangan : (a) fraksi heksana
 (b) fraksi etil asetat
 (c) residu
 (d) ekstrak daun kemiri

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

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

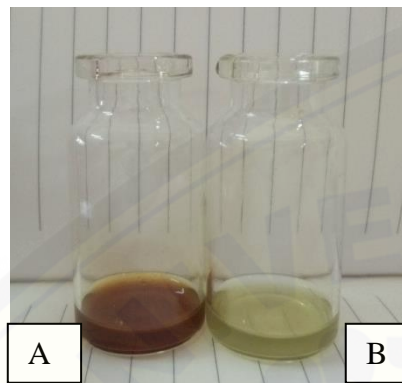
Perhitungan rendemen fraksi = $\frac{\text{bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$

Sampel	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
A	1,3525	27,0489
B	1,1660	23,3172
C	1,9451	38,9004
D	42,68	14,23

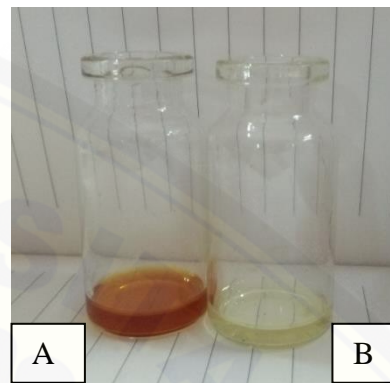
Lampiran 4.3 Skrining Fitokimia

1. Metode uji tabung dan reaksi warna
 - a. Uji Alkaloid

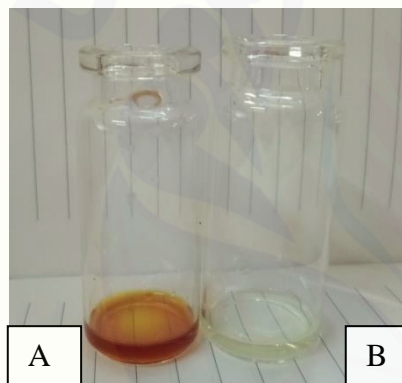
Ekstrak



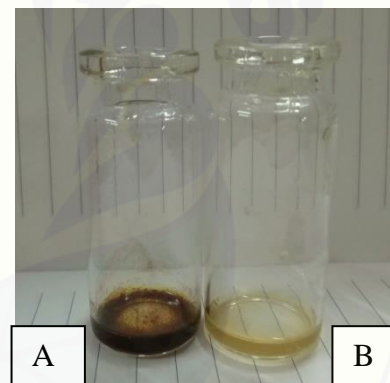
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu

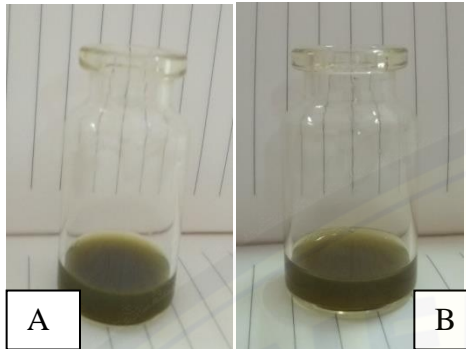


A : penambahan pereaksi wagner

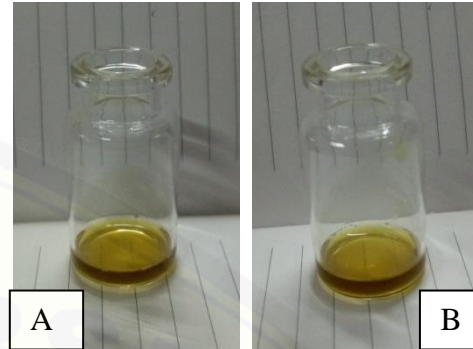
B : penambahan pereaksi mayer

b. Uji Flavonoid

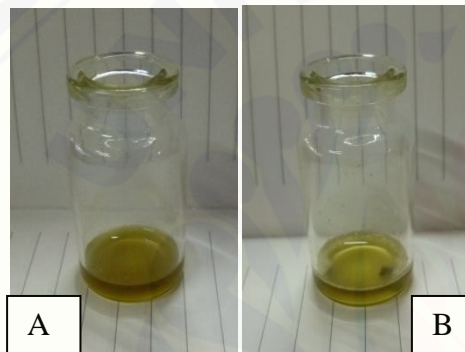
Ekstrak



Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu



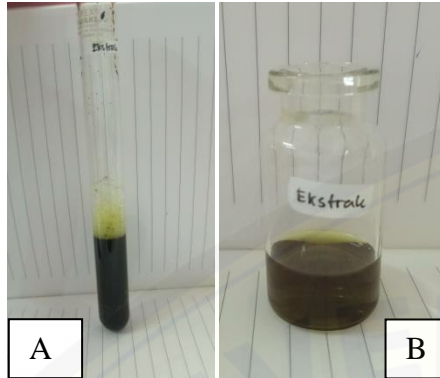
Keterangan:

A : penambahan HCl pekat

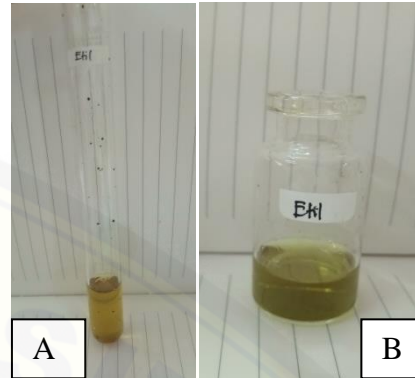
B : penambahan HCL pekat dan Magnesium

c. Uji Saponin

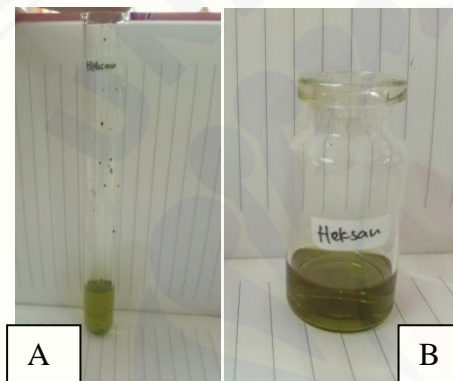
Ekstrak



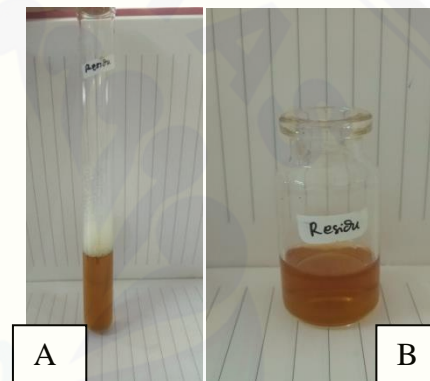
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu



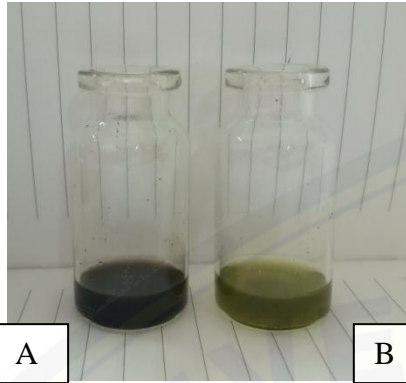
Keterangan:

A : uji buih

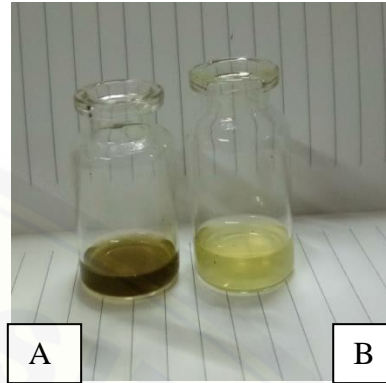
B : reaksi warna *Liebermann-burchard*

d. Uji Polifenol dan Tanin

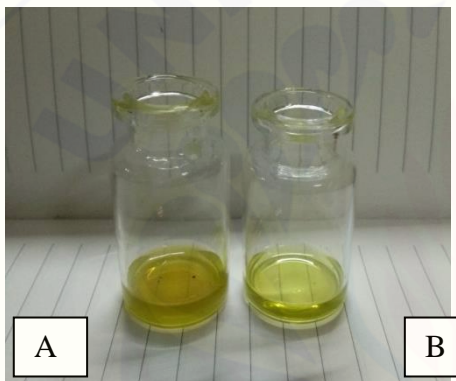
Ekstrak



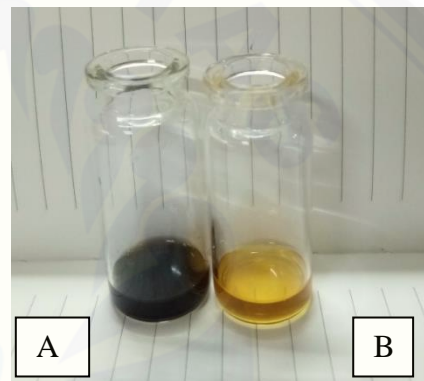
Fraksi etil asetat



Fraksi heksana



Residu



- A : penambahan FeCl_3
B : penambahan gelatin

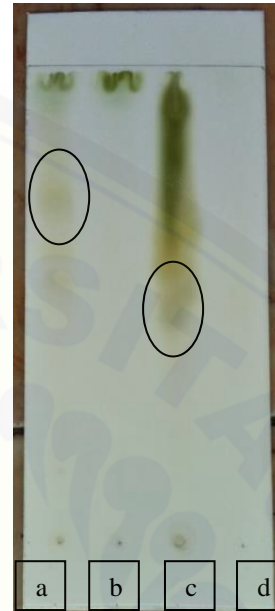
2. Metode KLT

a. Alkaloid



A : fraksi heksana
 B : fraksi etil asetat
 C : residu
 D : ekstrak etanol

b. Flavonoid



A : ekstrak etanol
 B : fraksi heksana
 C : fraksi etil asetat
 D : residu

c. Saponin



A : ekstrak etanol
 B : fraksi heksana
 C : fraksi etil asetat
 D : residu

d. Polifenol dan Tanin



A : ekstrak etanol
 B : fraksi heksana
 C : fraksi etil asetat
 D : residu

Lampiran 4.4 Pembuatan Larutan Uji

a. Pembuatan Larutan DMSO 10%

Larutan DMSO 10% dibuat dengan melarutkan 1 mL DMSO dengan 9 mL aquadest.

b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Kemiri

Penimbangan sampel = 10 mg

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi dalam DMSO 100\%} &= \frac{10\text{mg}}{1.000\mu\text{l}} \times 10^6 \\ &= 10.000 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi dalam DMSO 10\%} &= \frac{10\mu\text{l}}{100\mu\text{l}} \times 10^4 \\ &= 1.000 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

Pengenceran sampel dengan DMSO 10%

$$\begin{aligned}\text{a. Konsentrasi 1.000 ppm} &= \frac{10\mu\text{l}}{100\mu\text{l}} \times 10^4 \\ &= 1.000 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{b. Konsentrasi 800 ppm} &= \frac{160\mu\text{l}}{200\mu\text{l}} \times 10^3 \\ &= 800 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{c. Konsentrasi 600 ppm} &= \frac{120\mu\text{l}}{200\mu\text{l}} \times 10^3 \\ &= 600 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{d. Konsentrasi 400 ppm} &= \frac{80\mu\text{l}}{200\mu\text{l}} \times 10^3 \\ &= 400 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{e. Konsentrasi 200 ppm} &= \frac{40\mu\text{l}}{200\mu\text{l}} \times 10^3 \\ &= 200 \mu\text{g/mL}\end{aligned}$$

Lampiran 4.5 Hasil Pengujian Zona Hambat

- a. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, (L.) Willd.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm			
1	1	8,00	8,60	9,50	9,70	10,00	31,00	0,00	
	2	8,10	8,55	9,50	9,70	10,00	30,20	0,00	
	3	8,00	8,55	9,50	9,70	10,00	30,50	0,00	
2	1	8,15	8,60	9,55	9,65	10,05	30,60	0,00	
	2	8,10	8,60	9,55	9,65	10,10	30,60	0,00	
	3	8,15	8,40	9,60	9,65	10,10	30,40	0,00	
3	1	8,10	8,50	9,60	9,70	10,00	30,80	0,00	
	2	8,00	8,50	9,60	9,70	10,10	31,00	0,00	
	3	8,00	8,55	9,60	9,75	10,10	31,00	0,00	

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						K +	K -
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm			
1	8,03	8,57	9,50	9,70	10,00	30,57	0,00	
2	8,13	8,53	9,57	9,65	10,08	30,53	0,00	
3	8,03	8,52	9,60	9,71	10,07	30,93	0,00	
Rata-rata	8,06	8,54	9,56	9,69	10,05	30,67	0,00	
SD	0,06	0,03	0,05	0,03	0,04	0,22	0,00	
CV	0,74	0,35	0,52	0,31	0,40	0,72	0,00	

- b. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	0,00	7,45	8,40	8,60	9,40	27,70	0,00
	2	0,00	7,45	8,40	8,60	9,40	28,00	0,00
	3	0,00	7,45	8,40	8,60	9,40	28,00	0,00
2	1	0,00	7,40	8,45	8,65	9,00	27,90	0,00
	2	0,00	7,40	8,45	8,65	9,00	27,85	0,00
	3	0,00	7,45	8,45	8,65	9,00	27,90	0,00
3	1	0,00	7,40	8,45	8,60	9,45	27,95	0,00
	2	0,00	7,40	8,40	8,60	9,40	27,90	0,00
	3	0,00	7,40	8,40	8,60	9,40	28,00	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm	K +	K -
1	0,00	7,45	8,40	8,60	9,40	27,90	0,00
2	0,00	7,42	8,45	8,65	9,00	27,88	0,00
3	0,00	7,40	8,42	8,60	9,42	27,95	0,00
Rata-rata	0,00	7,42	8,42	8,62	9,27	27,91	0,00
SD	0,00	0,03	0,03	0,03	0,24	0,04	0,00
CV	0,00	0,40	0,36	0,35	2,58	0,14	0,00

c. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Heksana Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)						
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm	K +	K -
1	1	7,40	8,20	9,00	10,00	10,50	30,10	0,00
	2	7,40	8,20	9,00	10,00	10,50	30,10	0,00
	3	7,40	8,20	9,00	10,00	10,50	30,10	0,00
2	1	7,42	8,25	9,10	10,05	10,56	30,10	0,00
	2	7,42	8,25	9,10	10,05	10,55	30,12	0,00
	3	7,45	8,25	9,12	10,05	10,55	30,10	0,00
3	1	7,40	8,20	9,05	10,07	10,50	30,12	0,00
	2	7,40	8,20	9,05	10,07	10,50	30,12	0,00
	3	7,40	8,20	9,07	10,05	10,60	30,12	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm	K +	K -
1	7,40	8,20	9,00	10,00	10,50	30,10	0,00
2	7,43	8,25	9,11	10,05	10,55	30,11	0,00
3	7,40	8,20	9,06	10,06	10,53	30,12	0,00
Rata-rata	7,41	8,21	9,06	10,04	10,53	30,11	0,00
SD	0,02	0,03	0,06	0,03	0,03	0,01	0,00
CV	0,27	0,37	0,66	0,30	0,28	0,03	0,00

- d. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Heksana Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	0,00	7,80	8,55	9,25	10,00	27,30	0,00
	2	0,00	7,80	8,55	9,25	10,00	27,30	0,00
	3	0,00	7,80	8,55	9,25	10,00	27,30	0,00
2	1	0,00	7,80	8,60	9,20	10,00	27,33	0,00
	2	0,00	7,80	8,60	9,20	10,00	27,33	0,00
	3	0,00	7,82	8,56	9,22	10,02	27,33	0,00
3	1	0,00	7,80	8,60	9,20	10,02	27,30	0,00
	2	0,00	7,80	8,60	9,20	10,02	27,30	0,00
	3	0,00	7,84	8,60	9,20	10,02	27,30	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	0,00	7,80	8,55	9,25	10,00	27,30	0,00
2	0,00	7,81	8,59	9,21	10,01	27,33	0,00
3	0,00	7,81	8,60	9,20	10,02	27,30	0,00
Rata-rata	0,00	7,81	8,58	9,22	10,01	27,31	0,00
SD	0,00	0,01	0,03	0,03	0,01	0,02	0,00
CV	0,00	0,13	0,35	0,33	0,10	0,07	0,00

- e. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Etil asetat Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	7,50	8,00	8,55	9,00	10,00	30,20	0,00
	2	7,50	8,00	8,55	9,00	10,00	30,20	0,00
	3	7,50	8,00	8,55	9,00	10,00	30,20	0,00
2	1	7,52	8,00	8,55	9,00	10,02	30,20	0,00
	2	7,52	8,00	8,56	9,00	10,02	30,20	0,00
	3	7,52	8,00	8,56	9,00	10,02	30,20	0,00
3	1	7,50	8,00	8,56	9,02	10,02	30,20	0,00
	2	7,50	8,00	8,56	9,02	10,02	30,20	0,00
	3	7,50	8,00	8,56	9,02	10,02	30,20	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						K +	K -
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm			
1	7,50	8,00	8,55	9,00	10,00	30,20	0,00	
2	7,52	8,00	8,56	9,00	10,02	30,20	0,00	
3	7,50	8,00	8,56	9,02	10,02	30,20	0,00	
Rata-rata	7,51	8,00	8,56	9,00	10,01	30,20	0,00	
SD	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	
CV	0,13	0,00	0,12	0,11	0,10	0,00	0,00	

f. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Etil asetat Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	7,10	7,50	7,70	7,95	8,55	28,00	0,00
	2	7,10	7,50	7,70	7,95	8,55	28,00	0,00
	3	7,10	7,50	7,70	7,95	8,56	28,00	0,00
2	1	7,12	7,50	7,72	7,95	8,56	28,04	0,00
	2	7,12	7,50	7,72	7,95	8,55	28,04	0,00
	3	7,12	7,51	7,72	7,95	8,55	28,04	0,00
3	1	7,12	7,51	7,70	7,96	8,55	28,04	0,00
	2	7,12	7,51	7,70	7,96	8,55	28,04	0,00
	3	7,12	7,51	7,70	7,96	8,55	28,04	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	7,10	7,50	7,70	7,95	8,55	28,00	0,00
2	7,12	7,50	7,72	7,95	8,55	28,04	0,00
3	7,12	7,51	7,70	7,96	8,55	28,04	0,00
Rata-rata	7,11	7,50	7,71	7,95	8,55	28,03	0,00
SD	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	0,00
CV	0,14	0,13	0,13	0,13	0,00	0,07	0,00

- g. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Residu Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

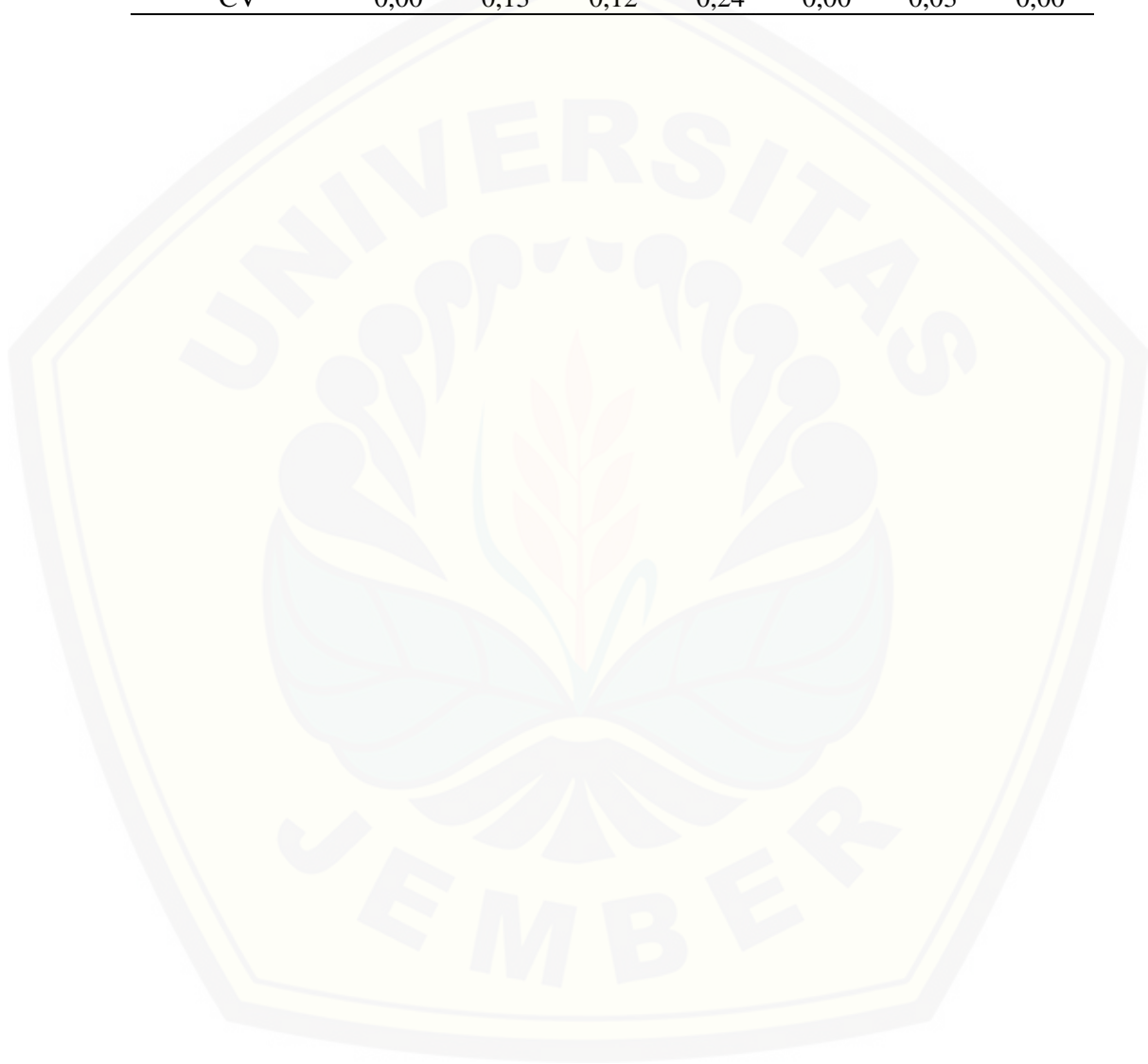
Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	7,80	8,80	9,70	11,00	11,35	29,60	0,00
	2	7,80	8,80	9,70	11,00	11,35	29,60	0,00
	3	7,80	8,80	9,70	11,00	11,35	29,60	0,00
2	1	7,84	8,82	9,71	11,00	11,34	29,67	0,00
	2	7,84	8,82	9,71	11,00	11,34	29,67	0,00
	3	7,84	8,82	9,71	11,00	11,34	29,67	0,00
3	1	7,82	8,81	9,70	11,00	11,34	29,60	0,00
	2	7,82	8,82	9,70	11,00	11,34	29,60	0,00
	3	7,82	8,82	9,70	11,00	11,34	29,60	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	7,80	8,80	9,70	11,00	11,35	29,60	0,00
2	7,84	8,82	9,71	11,00	11,34	29,67	0,00
3	7,82	8,82	9,70	11,00	11,35	29,60	0,00
Rata-rata	7,82	8,81	9,70	11,00	11,35	29,62	0,00
SD	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,04	0,00
CV	0,25	0,11	0,10	0,00	0,09	0,14	0,00

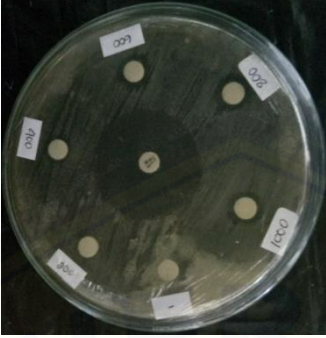

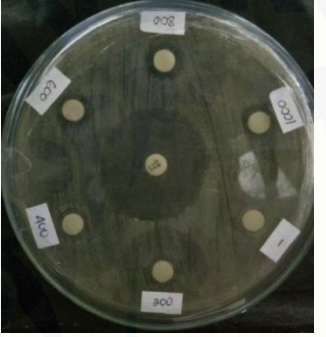
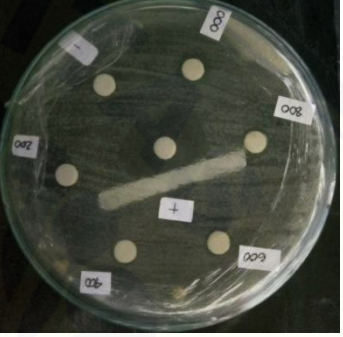
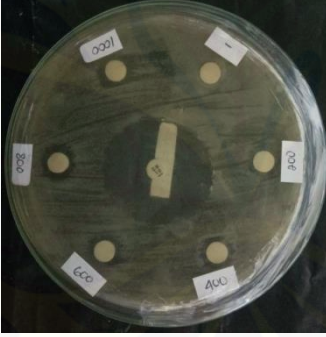
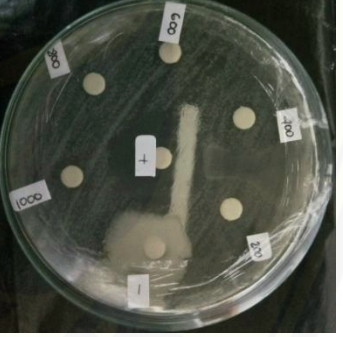
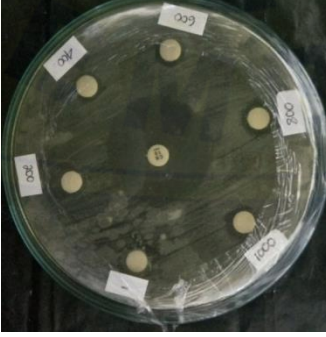
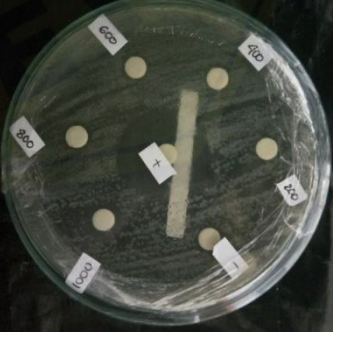
- h. Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Fraksi Residu Daun Kemiri (*Aleurites moluccana*, Willd) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Replikasi	Data	Diameter Zona Hambat (mm)					K +	K -
		200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm		
1	1	7,20	7,70	8,30	8,50	14,00	28,85	0,00
	2	7,20	7,70	8,30	8,50	14,00	28,85	0,00
	3	7,20	7,70	8,30	8,50	14,00	28,85	0,00
2	1	7,20	7,72	8,32	8,53	14,00	28,85	0,00
	2	7,20	7,72	8,32	8,53	14,00	28,85	0,00
	3	7,20	7,72	8,32	8,53	14,00	28,84	0,00
3	1	7,20	7,72	8,30	8,51	14,00	28,84	0,00
	2	7,20	7,72	8,30	8,51	14,00	28,84	0,00
	3	7,20	7,72	8,30	8,51	14,00	28,84	0,00

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)						
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm	K +	K -
1	7,20	7,70	8,30	8,50	14,00	28,85	0,00
2	7,20	7,72	8,32	8,53	14,00	28,85	0,00
3	7,20	7,72	8,30	8,51	14,00	28,84	0,00
Rata-rata	7,20	7,71	8,31	8,51	14,00	28,84	0,00
SD	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,00
CV	0,00	0,13	0,12	0,24	0,00	0,03	0,00



Lampiran 4.6 Dokumentasi Pengamatan Zona Hambat

No	S. aureus	E. coli
Ekstrak etanol		
Fraksi heksana		
Fraksi etil asetat		
Residu		

Lampiran 4.7 Analisis Hasil Statistik

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

		Tests of Normality ^{b,c}					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Konsentrasi	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter hambat	konsentrasi ekstrak 1.000 ppm	,175	3	.	1,000	3	1,000
	konsentrasi ekstrak 800 ppm	,364	3	.	,800	3	,114
	konsentrasi ekstrak 600 ppm	,362	3	.	,805	3	,127
	konsentrasi fraksi heksana 1.000 ppm	,369	3	.	,788	3	,086
	konsentrasi fraksi heksana 800 ppm	,345	3	.	,839	3	,212
	konsentrasi fraksi heksana 600 ppm	,367	3	.	,794	3	,100
	konsentrasi fraksi heksana 400 ppm	,381	3	.	,758	3	,019
	konsentrasi fraksi heksana 200 ppm	,307	3	.	,903	3	,395
	konsentrasi fraksi etil asetat 1.000 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 800 ppm	,381	3	.	,758	3	,019
	konsentrasi fraksi etil asetat 600 ppm	,379	3	.	,765	3	,033
	konsentrasi fraksi etil asetat 400 ppm	,380	3	.	,761	3	,024
	konsentrasi fraksi etil asetat 200 ppm	,352	3	.	,826	3	,177
	konsentrasi fraksi residu 1.000 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi residu 800 ppm	,379	3	.	,763	3	,030
	konsentrasi fraksi residu 600 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi residu 400 ppm	,383	3	.	,754	3	,009
	konsentrasi fraksi residu 200 ppm	,376	3	.	,771	3	,048

Test of Homogeneity of Variances

diameter hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,734	19	40	,000

4.7.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi Heksana, Fraksi Etil asetat, dan Residu terhadap *E coli*

Tests of Normality^{b,c,d,e,f}

	konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter hambat	konsentrasi ekstrak 1.000 ppm	,370	3	.	,786	3	,081
	konsentrasi ekstrak 800 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi ekstrak 600 ppm	,219	3	.	,987	3	,780
	konsentrasi ekstrak 400 ppm	,219	3	.	,987	3	,780
	konsentrasi fraksi heksana 1.000 ppm	,175	3	.	1,000	3	1,000
	konsentrasi fraksi heksana 800 ppm	,314	3	.	,893	3	,363
	konsentrasi fraksi heksana 600 ppm	,314	3	.	,893	3	,363
	konsentrasi fraksi heksana 400 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 800 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 600 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 400 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi etil asetat 200 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi residu 800 ppm	,253	3	.	,964	3	,637
	konsentrasi fraksi residu 600 ppm	,385	3	.	,750	3	,000
	konsentrasi fraksi residu 400 ppm	,385	3	.	,750	3	,000

Test of Homogeneity of Variances

diameter hambat				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
13,215	19	40	,000	

4.7.3 Uji Kruskal-Wallis

a. *S. aureus***Test Statistics^{a,b}**

diameter hambat	
Chi-Square	34,992
Df	19
Asymp. Sig.	,014

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
konsentrasib. *E. coli***Test Statistics^{a,b}**

diameter hambat	
Chi-Square	58,815
Df	19
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
konsentrasi4.7.4 Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri *S. aureus*

a. ekstrak etanol dengan fraksi heksana

Test Statistics^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,023	-1,993	-1,964	-1,964	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,046	,050	,050	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

b. ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat

Test Statistics^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
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	-2,087	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,046	,037	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

c. ekstrak etanol dengan residu

Test Statistics^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	2,500
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	8,500
Z	-2,023	-2,087	-1,993	-1,993	-,899
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,037	,046	,046	,369
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,400 ^b

d. fraksi heksana dengan fraksi etil asetat

Test Statistics^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-2,023	-1,993	-2,087	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,043	,046	,037	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

e. fraksi heksana dengan residu

Test Statistics^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,023	-2,121	-1,993	-1,993	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043	,034	,046	,046	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

f. fraksi etil asetat dengan residu

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-1,993	-2,121	-2,023	-2,121	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,034	,043	,034	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4.7.5 Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat sampel yang berbeda pada konsentrasi yang sama terhadap bakteri *E. coli*

a. ekstrak etanol dengan fraksi heksana

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	4,500	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	10,500	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	,000	-1,993	-1,964	-1,993	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000	,046	,050	,046	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

b. ekstrak etanol dengan fraksi etil asetat

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,121	-1,993	-1,993	-2,023	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,046	,046	,043	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

c. ekstrak etanol dengan residu

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,236	-1,993	-1,993	-1,993	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,025	,046	,046	,046	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

d. fraksi heksana dengan fraksi etil asetat

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
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

e. fraksi heksana dengan residu

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
Mann-Whitney U	,000	,000	,000	,000	,000
Wilcoxon W	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,236	-2,023	-1,993	-1,964	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,025	,043	,046	,050	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

f. fraksi etil asetat dengan residu

Test Statistics ^a					
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	1.000 ppm
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	-2,023	-1,993	-2,236
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,043	,043	,046	,025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4.7.6 Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat sampel yang sama konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *S. aureus*

a. 200 ppm dengan 400 ppm

	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	-2,023	-1,993	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,043	,046	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

b. 200 ppm dengan 600 ppm

	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	-1,993	-1,993	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,046	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

c. 200 ppm dengan 800 ppm

	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	-1,993	-2,087	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,037	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

d. 200 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-1,993	-1,993	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,046	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

e. 400 ppm dengan 600 ppm

	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	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,043	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

f. 400 ppm dengan 800 ppm

	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	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,034	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

g. 400 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

h. 600 ppm dengan 800 ppm

	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	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,050	,034	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

i. 600 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-2,023	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,050	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

j. 800 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,050	,034	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

4.7.7 Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat sampel yang sama konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *E. coli*

a. 200 ppm dengan 400 ppm

	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	-2,121	-2,023	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,034	,043	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

b. 200 ppm dengan 600 ppm

	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	-2,087	-2,023	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,037	,043	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

c. 200 ppm dengan 800 ppm

	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	-2,087	-2,023	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034	,037	,043	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

d. 200 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-2,087	-2,121	-2,236
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037	,037	,034	,025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

e. 400 ppm dengan 600 ppm

	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	-2,023
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,043	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

f. 400 ppm dengan 800 ppm

	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	-1,993	-2,023	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,046	,043	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

g. 400 ppm dengan 1.000 ppm

	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	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050	,046	,034	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b	,100 ^b

h. 600 ppm dengan 800 ppm

	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

i. 600 ppm dengan 1.000 ppm

	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

j. 800 ppm dengan 1.000 ppm

	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

