



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KACAPIRING (*Gardenia augusta Merr.*) DAN FRAKSINYA
TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

Oleh:

Mohammad Thahir

NIM 152210101135

**BAGIAN BIOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KACAPIRING
(*Gardenia augusta Merr.*) DAN FRAKSINYA TERHADAP *Salmonella typhi***

SKRIPSI

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

Oleh:

Mohammad Thahir

NIM 152210101135

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat, taufik dan hidayahNya kepada hambaNya yang selalu berjuang dalam kebaikan;
2. Ayahanda Abdullah Kherid dan ibunda Fahrunnisyah Syahab, satu-satunya subjek representasi Ridho Allah SWT di dunia yang telah berjuang memberikan dukungan moril maupun materil kepada penulis.
3. Guru-guru penulis sejak Taman Kanak-Kanak (TK), Sekolah Dasar (SD), hingga Sekolah Menengah Atas (SMA), guru spiritual, dosen, laboran dan seluruh civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan pendidikan kepada penulis selama menempuh pendidikan Strata Satu ilmu farmasi.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Yakinkan dengan Iman, Usahakan dengan Amal, Sampaikan dengan Ilmu”
Yakusa

“ WAA ILAA RABBIKA FARGHAB”

dan hanya kepada Tuhanmulah kamu berharap
(QS. Al-Insyirah : 8)

“FA IN TAWALLAU FA QUL HASBIYALLAHU LAA ILAA HA ILLA HUW,
ALAIHI TAWAKKALTU WA HUWA RABBUL ARSYIL ADZIIM”

jika mereka berpaling (dari keimanan) maka katakanlah: “ Cukuplah Allah bagiku, Tiada Tuhan Selain Dia, hanya kepada-Nya aku bertawakkal dan Dia adalah Tuhan yang memiliki ‘Arsy yang agung
(QS. At-Taubah : 129)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mohammad Thahir

NIM : 152210101135

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul ” Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan Fraksinya Terhadap *Salmonella typhi*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah penulis sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Penulis 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, 26 September 2019

Yang menyatakan,

Mohammad Thahir

NIM. 152210101135

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KACAPIRING
(*Gardenia augusta Merr.*) DAN FRAKSINYA TERHADAP *Salmonella typhi***

Oleh:

Mohammad Thahir

NIM 152210101135

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dewi Dianasari S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Nuri, S.Si.,Apt.,M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “ Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan fraksinya Terhadap *Salmonella typhi* ” karya Mohammad Thahir telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 26 September 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Dewi Dianasari S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Nuri, S.Si.,Apt.,M.Si.

NIP 198712082014042002

NIP 196904122001121001

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II



Indah Yulia Ningsih S.Farm.,M.Farm.,Apt. Endah Puspitasari S.Farm.,M.Sc.,Apt.

NIP 198407122008122002

NIP 198107232006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

NIP 196902011994031002

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan Fraksinya Terhadap *Salmonella typhi*: Mohammad Thahir: 152210101135; 2019; 69 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah besar baik di Indonesia maupun di dunia. Pada tahun 2010 terdapat kematian berjumlah 15 juta dan dua pertiga dari data tersebut disebabkan oleh bakteri dan virus. Infeksi perlu mendapat perhatian khusus dalam upaya penanganan dan pencegahan terutama pada penyakit tifoid. Infeksi tifoid disebabkan oleh bakteri melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella typhi* (*S. typhi*).

Saat ini pengobatan yang dilakukan umumnya menggunakan obat-obatan antibiotik. Penggunaan antibiotik banyak ditemukan terjadinya kasus resistensi bakteri dan efek samping serta reaksi yang tidak diinginkan seperti hipersensitivitas, gangguan saluran cerna, diare, dan lain-lain. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain melalui penemuan inovasi antibakteri baru yang diharapkan lebih efektif dan aman dalam pengobatan.

Tumbuhan memiliki fungsi sebagai agen antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder. *Gardenia* merupakan salah satu tumbuhan yang pernah diteliti dan diduga memiliki aktivitas antibakteri. Kandungan senyawa pada *Gardenia* yang diduga memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa golongan saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan fenolik.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi* pada ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode partisi cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol-air. Metode yang digunakan pada uji antibakteri adalah difusi cakram dengan kloramfenikol cakram sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi larutan uji yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan fraksinya adalah 20%, 25%, 30%, dan 40%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel uji daun kacapiring pada sampel ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat semua konsentrasi dan fraksi etanol-air konsentrasi 20% dan 25% memiliki diameter zona hambat sebesar 0,000. Pada sampel fraksi etanol-air konsentrasi 30%, dan 40% memiliki diameter zona hambat masing-masing $7.564 \pm 0,081$ mm dan $8.529 \pm 0,081$ mm.

Hasil analisis data statistik dari *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa sampel ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat semua konsentrasi dan fraksi etanol-air konsentrasi 20% dan 25% tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak memiliki perbedaan signifikansi terhadap kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada sampel fraksi etanol-air konsentrasi 30% dan 40% menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol negatif sehingga dengan adanya perbedaan signifikansi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S.typhi*. Namun, hasil statistik sampel fraksi etanol-air konsentrasi 30% terhadap 40% tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan sehingga hasil tersebut dianggap memiliki nilai aktivitas penghambatan yang sama terhadap pertumbuhan *S.typhi*.

PRAKATA

Puji Syukur *Alhamdulillah* penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala karunia, pikiran, kesehatan, rahmat, taufik, serta hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan tugas akhir skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan Fraksinya Terhadap *salmonella typhi*”

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm.,Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Diana Holidah, SF .,M.Farm., Apt. dan bapak Ari Satia Nugraha, S.F., G.Dipsc., M.Sc., Ph.D., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi motivasi semangat belajar kepada penulis selama menempuh pendidikan ilmu farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Dewi Dianasari S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan bapak Nuri, S.Si.,Apt.,M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluankan waktu, tenaga, dan fikiran serta perhatiannya untuk membantu penulis selama penyusunan skripsi ini;
4. Ibu Indah Yulia Ningsih S.Farm.,M.Farm.,Apt. Selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu Endah Puspitasari S.Farm.,M.Sc.,Apt. Selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan koreksi, pengarahan, dan saran, serta evaluasi kepada penulis demi terwujudnya kesempurnaan skripsi ini;
5. Segenap jajaran dekanat, dosen dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memfasilitasi dan memberikan dedikasi kepada penulis selama menempuh pendidikan ilmu farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Pada teknisi laboratorium Bu Widi, Mbak Parkha, Mbak Dinik, Mbak Indri, Mbak Titin, dan Bu Itus, yang membantu memfasilitasi dan pengarahan kepada penulis selama menyelesaikan penelitian ini;

7. Segenap Guru sejak menempuh pendidikan di SDN Ambunten Timur I, SMPN 1 Ambunten, dan SMAN 1 Ambunten. Terima kasih atas segala ilmu dan dedikasinya yang telah diajarkan kepada penulis;
8. Keluarga besar Ayahanda Abdullah Kherid, Ibunda Fahrunnisyah shahab, Bang Nizar, Bang Mahdi, Bang Husein, Aliya, Fatimah, Nenek Aminun, Hale Umar, Hale Salim, Hale Dul, Hale bidin, Amma Ning, dan Amma Hindun. Terima kasih atas doa, nasihat, dan dukungan kepada penulis. Semoga ini mewujudkan penulis menjadi insan tauladan yang dirahmati dan diridhoi Allah SWT;
9. Tim penelitian “Gardenia Squad” Wayan dan Azizah yang saling berjuang, memberi semangat, dukungan, kerja sama, doa, suka dan duka selama penyusunan dan penelitian ini;
10. Segenap senior KAHMI yang penulis kagumi Prof. Bambang, Cak Edi, dr. Heru, dr Cicih, Bu Dewi, Pak Choi, drg. Husein Assegaf, drg. Syaifuddin Ghozali, drg. Munifah, Mas Faris, Mas Ipul, Mas hikam, Bang Nizar, dll;
11. Keluarga HMI Cabang Jember Komisariat Kesehatan Mbak Riza, Mbak Nia, Mas Dani, Mbak Inge, Arif, Fikri, Sidqi, Zum, Diah, Azizah, Doni, dan lain-lain tanpa mengurangi rasa hormat dan cinta untuk disebutkan satu persatu. Semangat kalian adalah suatu hal yang berharga untuk sebuah pengabdian;
12. Keluarga besar BPM Universitas Jember Enha, Keke, Fauzi, Taufik, Brian, Nancy, Garin, Aisy, Sidqi, Herry, dll yang telah berjuang bersama mengawal aspirasi dan kebutuhan mahasiswa Universitas Jember.
13. Keluarga besar “Bin Ali Jember” Bang Adok, Ali Hadi, Sani, Yiyi, dan Sida. Terima kasih atas support baik secara moril maupun materil, suka dan duka hidup dan berjuang bersama dalam menempuh pendidikan sarjana di UNEJ.
14. Teman-teman angkatan seperjuangan angkatan 2015 “LIBITUM” yang telah berjuang bersama demi terwujudnya gelar Sarjana Farmasi (S.Farm).
15. Sahabat “Squad Dolor Selawase” Huda, Syarif, Sidqi, Andre, Artha, Daris, Egi, dan Wayan, Ifan, dan Parlin. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan, semangat, doa, yang diberikan sejak masuk kuliah hingga saat ini. semoga kalian menjadi farmasis hebat yang diharapkan oleh masyarakat.

16. Seluruh civitas akademika Universitas Jember dan semua pihak terkait yang tidak bisa disebutkan satu per satu. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas fasilitas baik sarana maupun prasarana yang diberikan kepada penulis untuk menunjang kegiatan dan aktivitas penulis di kampus Universitas Jember .

Penulis juga menerima segala koreksi, saran dan kritik yang membangun dari semua pihak untuk mewujudkan kesempurnaan penyusunan skripsi ini. harapan penulis semoga skripsi ini menjadi bermanfaat bagi pembaca

Jember, 26 September 2019

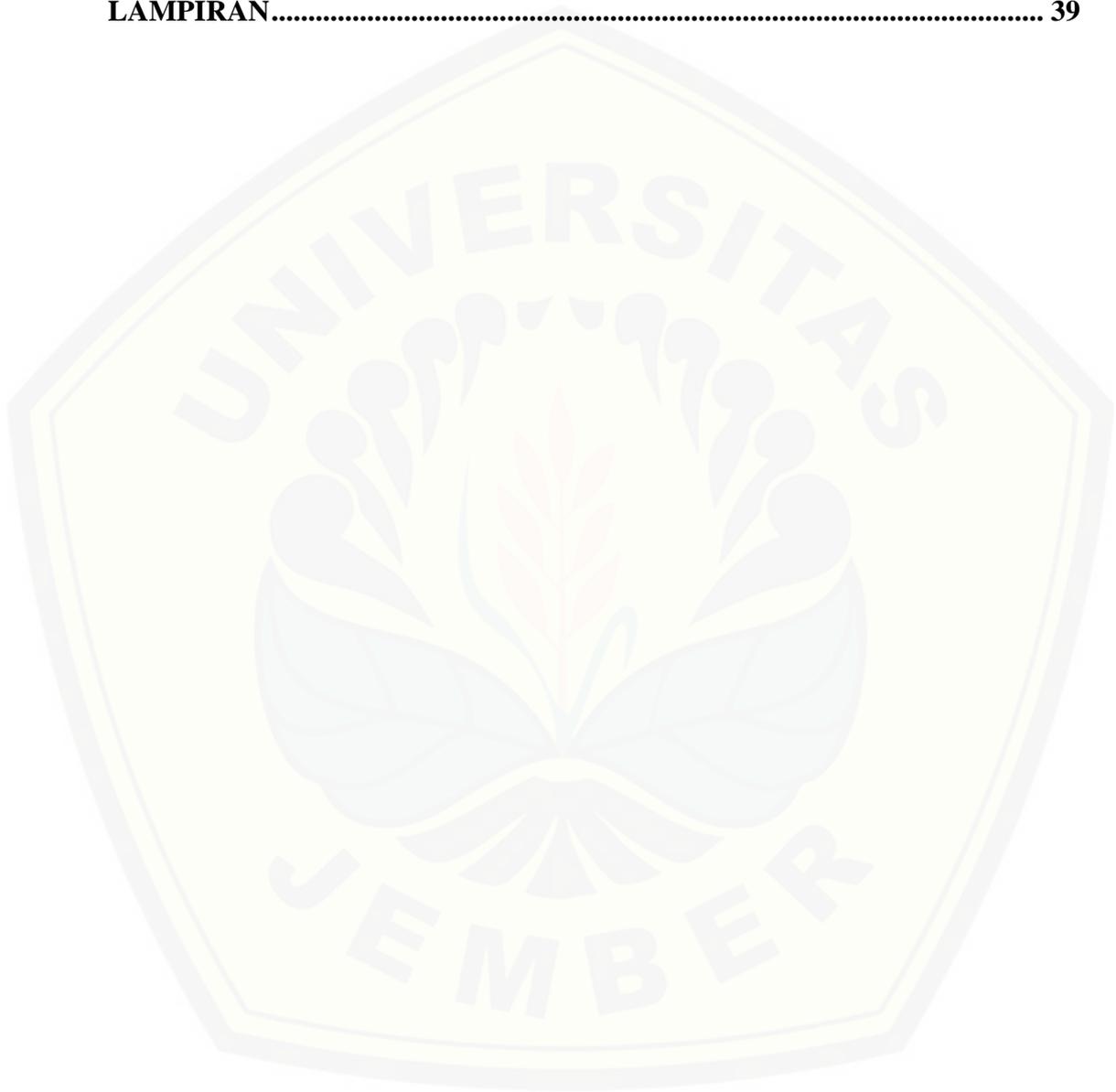
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTO	iv
MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 LatarBelakang.	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Infeksi Bakteri.....	5
2.2 Tinjauan <i>Salmonella typhi</i>	5
2.2.1 Klasifikasi	5
2.2.2 Deskripsi dan Morfologi <i>S. typhi</i>	5
2.3 Tinjauan <i>Gardenia augusta</i>.....	7
2.3.1 Klasifikasi	7
2.3.2 Sinonim dan Nama Daerah.....	7
2.3.3 Habitat	7
2.3.4 Morfologi	7
2.3.5 Khasiat	8
2.3.6 Kandungan Kimia	8

2.3.7	Penelitian antibakteri <i>Gardenia</i>	9
2.4	Tinjauan Umum Antibakteri.....	9
2.5	Tinjauan Metode Uji Antibakteri	10
2.6.1	Metode Difusi.	10
2.6.2	Metode Dilusi	11
2.6	Tinjauan Ekstraksi.....	12
2.7	Tinjauan Fraksinasi	13
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	15
3.1	Jenis Penelitian	15
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.3	Rancangan Penelitian.....	15
3.4	Alat dan Bahan.	16
3.4.1	Alat.	16
3.4.2	Bahan	16
3.5	Variabel Penelitian.	16
3.5.1	Variabel Bebas.	16
3.5.2	Variabel Terikat.....	17
3.5.3	Variabel Terkendali.....	17
3.6	Definisi Operasional	17
3.7	Prosedur Penelitian	18
3.7.1	Identifikasi Tanaman	18
3.7.2	Pembuatan Simplisia	18
3.7.3	Pembuatan Ekstrak	18
3.7.4	Fraksinasi Ekstrak.....	18
3.7.5	Uji Aktivitas Antibakteri	19
3.8	Analisis Data..	21
3.9	Skema Penelitian	23
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1	Identifikasi Tanaman	24
4.2	Pembuatan Simplisia.....	24
4.3	Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Kacapiring <i>G. augusta</i>	24
4.4	Pengujian Antibakteri.....	26

BAB 5. PENUTUP	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Rendemen ekstrak etanol dan fraksi daun kacapiring <i>G. augusta</i>	25
4.3 Hasil pengukuran zona hambat dan perbedaan signifikansi	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bentuk <i>S. Typhi</i>	6
2.2 Daun kacapiring <i>G. augusta</i>	8
2.3 Uji antibakteri metode difusi	10
2.4 Uji antibakteri metode dilusi	11
3.1 Rancangan penelitian	15
3.2 Skema penelitian	23
4.1 Hasil pengamatan uji antibakteri ekstrak	27
4.2 Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi heksana	27
4.3 Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi etil asetat	28
4.4 Hasil pengamatan uji antibakteri fraksi etanol-air.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Determinasi tanaman kacapiring <i>G. augusta</i>	42
B. Hasil rendemen ekstraksi dan fraksinasi	43
C. Perhitungan pembuatan media agar uji dan larutan uji	44
D. Hasil uji antibakteri semua kelompok perlakuan	47
D.1 Gambar hasil uji antibakteri ekstrak	47
D.2 Gambar hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan	48
D.3 Gambar hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat	49
D.4 Gambar hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etanol-air.....	50
D.1 Tabel pengukuran diameter zona hambat semua sampel uji	51
D.2 Tabel pengukuran diameter zona hambat ekstrak.....	52
D.3 Tabel pengukuran diameter zona hambat fraksi n-heksana	52
D.4 Tabel pengukuran diameter zona hambat fraksi etil asetat	53
D.5 Tabel pengukuran diameter zona hambat fraksi etanol-air.....	53
E. Analisis data statistik uji normalitas dan homogenitas	54
E. Analisis data statistik uji <i>Kruskal-Wallis</i> dan <i>Mann-Whitney</i>	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan salah satu penyebab kematian (*mortality*) di dunia dengan jumlah kematian sebanyak 15 juta pada tahun 2010 dan dua pertiga dari data kematian ini disebabkan oleh bakteri dan virus (Dye, 2015). Infeksi merupakan suatu gangguan penyakit yang disebabkan oleh adanya bakteri, parasit, virus, mikroba dan patogen dari luar yang menginvasi ke dalam tubuh dan menyebabkan terjadinya infeksi (Darmadi, 2008).

Infeksi perlu mendapat perhatian khusus dalam upaya penanganan dan pencegahan terutama pada penyakit tifoid. *World Health Organization* (WHO) secara global memperkirakan gangguan tifoid mencapai 11-20 juta kasus setiap tahun, dengan menghasilkan sekitar 128.000-161.000 kematian setiap tahun (WHO, 2018). Indonesia termasuk salah satu negara yang sering dijumpai kasus infeksi tifoid seperti halnya di Jakarta terdapat 182 kasus setiap hari. Sebanyak 64% infeksi demam tifoid terjadi pada penderita berusia 3-19 tahun (*Indonesia's Favorite Disease*, 2016). Kondisi ini menunjukkan infeksi tifoid masih memiliki angka kesakitan dan kematian cukup tinggi baik secara nasional maupun internasional.

Infeksi tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* (*S. typhi*) melalui makanan atau minuman yang masuk ke dalam tubuh (Levine dkk., 2011). Antibakteri merupakan suatu agen atau zat yang berfungsi untuk menghambat proses pertumbuhan dan poliferasi bakteri serta dapat membunuh suatu sel bakteri tertentu (Webb dkk., 2015).

Saat ini pengobatan antibakteri umumnya dilakukan dengan pemberian obat-obatan antibiotik seperti Amoksisilin, Ampisilin, Kloramfenikol dan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan banyak terjadinya kasus resistensi bakteri (Sandhori, 2018), dan timbulnya efek samping seperti gangguan saluran cerna, diare, ansietas, insomnia, anemia, depresi, sakit kepala dan efek merugikan lainnya (Charles dkk., 2009). Oleh karena itu, untuk

mengurangi resistensi dan efek samping yang merugikan, maka diperlukan alternatif lain melalui penemuan inovasi antibakteri baru yang diharapkan lebih efektif dalam pengobatan serta dan lebih aman dalam penggunaan.

Tumbuhan memiliki fungsi sebagai agen antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder (Mawan dkk., 2018). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa senyawa aktif tumbuhan memiliki fungsi sebagai agen antibakteri, salah satunya pada tumbuhan dari genus *Gardenia*. Chowdhury dkk. (2014), dalam penelitiannya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol daun *G. coronaria* terhadap *Streptococcus agalactiae* dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi 500 µg/mL dengan diameter zona hambat masing-masing 16 mm. Njunga dkk. (2014), pada penelitiannya membuktikan bahwa ekstrak metanol kulit batang *G. aqualla* 50 mg/mL memiliki zona hambat 35 mm terhadap *S. typhi*. Pada penelitian Fang dkk. (2017), ekstrak pigmen kuning dari buah *G. jasminoides* 30 µg/mL memiliki aktivitas antibakteri terhadap spesies *Proteus* dan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat masing-masing 19,3 mm dan 17,4 mm. Hasil penelitian Kumar dkk. (2017), menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun *G. gummifera* 1500 µg/mL terhadap bakteri *S. typhi* dengan diameter zona hambat 12,33 mm. Berdasarkan beberapa hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa tumbuhan dari genus *Gardenia* memiliki potensi sebagai agen antibakteri.

Potensi antibakteri berasal dari senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh genus *Gardenia*. Daun kacapiring (*G. augusta*) mengandung beberapa golongan senyawa, yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, polifenol, dan terpenoid (Hasyim, 2019), dan minyak atsiri (Dalimartha, 2003). Kesavan (2018), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa senyawa saponin, flavonoid, dan tanin pada *G. Jasminoides* memiliki aktivitas antibakteri. Kumar (2017) telah melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun dan kulit batang *G. gummifera*. Ekstrak etanol daun *G. gummifera* mengandung senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid, glikosida, tanin dan saponin. Sedangkan pada ekstrak kulit batang *G. gummifera* memiliki kandungan senyawa golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, polifenol. Senyawa yang

diduga berpotensi sebagai agen antibakteri baik pada ekstrak daun maupun kulit batang *G. gummifera* adalah senyawa golongan alkaloid dan fenolik. Ekstrak kulit batang *Gardenia aqualla* memiliki senyawa golongan antrakuinon, triterpen, steroid, saponin, tanin, flavonoid, dan glikosida kardioaktif. Senyawa yang diduga aktif sebagai agen antibakteri adalah saponin, tanin, dan flavonoid (Njinga dkk., 2014).

Tanaman *Gardenia coronaria*, *Gardenia aqualla* dan *Gardenia gummifera* memiliki hubungan kekerabatan dengan *Gardenia augusta*. Berdasarkan prinsip taksonomi, *Gardenia augusta* dapat diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hingga saat ini belum ditemukan data penelitian terkait uji aktivitas antibakteri dari *Gardenia augusta* baik pada ekstrak maupun fraksinya terhadap *S. typhi*. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring *G. augusta* dan fraksinya terhadap *S. typhi*.

Penelitian ini diawali dengan proses ekstraksi kemudian dilakukan uji antibakteri untuk mengetahui aktivitasnya dan dilanjutkan fraksinasi dan pengujian aktivitas antibakteri pada setiap fraksi untuk mengetahui fraksi mana yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Aktivitas antibakteri dapat diamati berdasarkan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *S. typhi*. Fraksi yang digunakan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air. Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai potensi daun kacapiring sebagai agen antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang dapat dirumuskan pada penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*?
2. Manakah diantara sampel ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air pada daun kacapiring yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *S. typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang dilakukan pada penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi*
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri tertinggi terhadap pertumbuhan *S. typhi* diantara ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air pada daun kacapiring.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dan diharapkan pada penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi terkait sumber antibakteri baru dan menjadikan saran atau rekomendasi referensi jika akan dilakukan penelitian lebih lanjut yang berhubungan dengan aktivitas antibakteri ekstrak kacapiring.
2. Memberikan informasi mengenai potensi antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Infeksi Bakteri

Menurut kamus kedokteran Dorland's (2011), infeksi bakteri merupakan invasi dari kolonisasi bakteri patogen maupun non patogen yang merugikan pada sel inang dan mengakibatkan terjadinya cedera seluler melalui metabolisme yang kompetitif, replikasi intraseluler, dan respon antigen-antibodi. Infeksi bakteri dapat terjadi secara lokal maupun sistemik (menyebar melalui sistem limfatik atau aliran darah) dengan kondisi akut, subakut, atau kronis (Natsir, 2015). Bakteri yang menginfeksi selanjutnya melepaskan molekul DNA untuk melakukan pembelahan biner (membagi menjadi dua sel) dan melepaskan toksin (racun) yang menekan sistem pertahanan tubuh (Drexler, 2011).

2.2 Tinjauan *Salmonella typhi*

2.2.1 Klasifikasi

Menurut Jaroni (2014), klasifikasi *S. typhi* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaprotobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

2.2.2 Deskripsi dan Morfologi *S. typhi*

Bakteri *S. typhi* merupakan salah satu bakteri patogen gram negatif famili Enterobacteriaceae yang menginfeksi usus manusia maupun hewan (Brooks dkk., 2006). Bakteri *S. typhi* tidak berspora, berbentuk batang, berdiameter 0,5-0,8 mikron dan panjang mencapai 1–3 mikron. Bakteri *S. typhi* dapat tumbuh pada suasana anaerob fakultatif, mampu bertahan hidup dalam air dalam waktu lama

(Brooks dkk., 2006), serta dapat tumbuh pada media dengan suasana pH 7,2 dan pada suhu optimum 37°C (Misnadiarly dan Jayaningrat, 2014). Bentuk *S. typhi* dapat ditunjukkan pada gambar 2.1



Gambar 2.1 *S. typhi* menggunakan SEM (Sumber: Kunkel, 2019)

Membran sel bakteri *S. typhi* memiliki antigen O yang bersifat termostabil, serta antigen H dan K yang bersifat termolabil pada suhu tinggi $\geq 60^{\circ}\text{C}$. Antigen O pada *S. typhi* tersusun atas polisakarida endotoksin yang terletak pada dinding selnya. Antigen O bersifat hidrofilik, tahan terhadap alkohol, dan kondisi asam. Antigen H merupakan antigen flagel terletak pada flagella dan fimbria yang melekat pada sitoplasma (Misnadiarly dan Jayaningrat, 2014). Antigen K disebut juga antigen Vi yang khusus hanya dimiliki oleh *S. typhi*. Antigen K merupakan polimer polisakarida yang bersifat asam yang dapat melindungi dari fagositosis (Brooks dkk., 2013).

2.3 Tinjauan *Gardenia augusta*

2.3.1 Klasifikasi

Menurut Fatmawati (2017), klasifikasi *G. augusta* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rubiales
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Gardenia</i>
Spesies	: <i>Gardenia augusta</i>

2.3.2 Sinonim dan Nama Daerah

Tumbuhan *G. augusta* memiliki sinonim *G. florida*, *G. jasminoides* Ellis, *G. grandiflora* Sieb, *G. radicans* Thumb, *G. pictorum* Hassk., dan *Varneria augusta* L. *Gardenia augusta* memiliki sejumlah nama daerah yaitu Raja Putih, (Aceh, Sumatera) Kacapiring, Peciring, Ceplok Piring, Cepiring (Jawa), Kacapiring, Jempiring, Sanklapa (Bali)(Dalimartha, 2003).

2.3.3 Habitat

Tumbuhan *G. augusta* merupakan tumbuhan yang berasal dari Cina dan Jepang yang menyebar hingga ke Asia Tenggara, termasuk ke Indonesia. Di Indonesia, tumbuhan ini dapat ditemukan pada pekarangan di daerah dataran tinggi dengan ketinggian 400 hingga 3000 mdpl di wilayah Sumatera, Jawa, Maluku, dan Bali (Dalimartha, 2003).

2.3.4 Morfologi

G. augusta dapat tumbuh hingga 1-2 m, batang bulat berkayu berwarna hijau kecoklatan. Daun tunggal berhadapan atau berkarang tiga, tekstur tebal, bertangkai pendek, berbentuk elips, pangkal dan ujung daun meruncing, tepi daun rata, permukaan bagian atas mengkilap, panjang daun 4,5 – 13 cm dan lebar daun 2-5 cm, dan daun berwarna hijau tua. Bunga tunggal, tangkai bunga pendek, berbentuk terompet, dan berwarna putih. Buah berbentuk bulat telur, kulit buah tipis, mengandung pigmen kuning, dan memiliki biji banyak (Dalimartha, 2003).



Gambar 2.2 Daun kacapiring (*G. augusta*) (Sumber: Dokumentasi pribadi)

2.3.5 Khasiat

Bunga digunakan sebagai penambah rasa pada daun teh di negara Cina. Buah kacapiring dapat dikonsumsi dan digunakan sebagai pewarna kuning pada makanan (Dalimartha, 2003). Daun digunakan sebagai terapi pengobatan sariawan, demam, sesak nafas, dan hipertensi (Depkes RI, 2017). Buah digunakan untuk meningkatkan fungsi hati, membuang racun berlebih, dan bersifat sedatif, dapat melancarkan aliran empedu ke usus, sebagai antiradang, antibiotik, pereda demam (antipiretik), dapat meluruhkan dahak, meluruhkan urin (diuretik), dan menghancurkan bekuan darah (antiplatelet). Akar dan bunga digunakan untuk peluruh menstruasi, bunga digunakan sebagai hemostatis, penenenang atau sedatif, dan peluruh urin (Dalimartha, 2003).

2.3.6 Kandungan Kimia

Tanaman *G. augusta* memiliki beberapa kandungan senyawa kimia yaitu, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan fenol (Hasyim, 2019), minyak atsiri (Dalimartha, 2003), dan beberapa golongan senyawa tertentu yang termasuk dalam glikosida (Martins dan Nunez, 2015).

Senyawa yang pernah diisolasi diantaranya terdapat pada buah tanaman kacapiring yang mengandung senyawa gardenin ($C_{14}H_{12}O_6$) atau ($C_{23}H_{30}O_{10}$), gardenosid, geniposid (genipin -1- glukosid), genipin - 1 - β - gentiobiosid,

gardosid (8,10-dehidrologanin), scandosid metil ester, glikosid, β -sitosterol, α -mannitol, nonakosan, krosetin, krosin ($C_{44}H_{64}O_{24}$), klorogenin, tanin, dan dekstros. Gardenin merupakan kristal berwarna kuning emas, larut dalam alkohol dan kloroform. Kulit buah mengandung *ursolic acid* (Dalimartha,2003).

2.3.7 Penelitian antibakteri *Gardenia*

Ekstrak etanol kulit batang dan daun *G. gummifera* (1500 μ g/mL) telah diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi agar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Zona hambat terhadap *S. typhi* dari ekstrak kulit batang *G. gummifera* sebesar $12,67 \pm 0,33$ mm, sedangkan ekstrak daunnya sebesar $12,33 \pm 0,33$ mm. Zona hambat terhadap *S. aureus* dari ekstrak kulit batang *G. gummifera* sebesar sebesar $12,33 \pm 0,33$ mm, sedangkan ekstrak daunnya sebesar $12,83 \pm 0,60$ mm (Kumar dkk., 2017). Ekstrak methanol daun *G.coronaria* memiliki zona hambat terhadap *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, dan *Proteus mirabil* sebesar 10 sampai 16 mm (Chowdhury dkk., 2014). Ekstrak metanol kulit batang *G. aqualla* (50 mg/mL) memiliki zona hambat terhadap *S. typhi* sebesar 35 mm (Njinga dan Sule, 2014). Ekstrak pigmen kuning dari buah *G. jasminoides* (30 μ g/mL) menghambat spesies *Proteus* dan *Bacillus subtilis* masing- masing 19,3 mm dan 17,4 mm (Fang dkk., 2017).

2.4 Tinjauan Umum Antibakteri

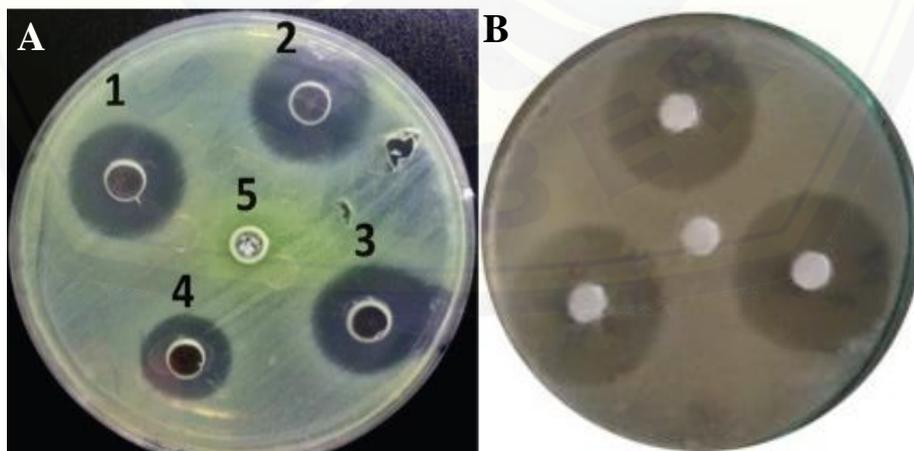
Antibakteri merupakan suatu agen atau yang berfungsi untuk menghambat proses pertumbuhan dan poliferasi, serta dapat membunuh bakteri. (Webb dkk., 2015). Antibakteri terbagi menjadi dua tipe, yaitu bakterisida dan bakteriostatik. Bakterisida merupakan antibakteri yang dapat membunuh bakteri, sedangkan bakteriostatik adalah antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme antibakteri secara umum dapat dikelompokkan menjadi empat bagian yaitu dengan menghambat fungsi membran, menghambat sintesis protein, menghambat dinding sel, dan menghambat sintesis asam nukleat (Ullah dan Ali, 2017).

2.5 Tinjauan Metode Uji Antibakteri

Pengujian antibakteri dapat dilakukan menggunakan beberapa metode, yaitu metode difusi, dilusi, dan autobiografi (Balouiri dkk., 2016).

2.6.1 Metode Difusi

Metode difusi dapat dilakukan menggunakan dua teknik perlakuan, yaitu metode sumuran dan cakram. Metode sumuran merupakan metode dimana bakteri uji diinokulasikan secara merata pada media uji, lubang sumuran dibuat dengan diameter 6-8 mm. Larutan uji dimasukkan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat pada media uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil pengujian diamati melalui pengukuran diameter zona bening di sekitar lubang sumuran kemudian dikurangi lubang sumuran. Pada metode cakram, dengan proses yang sama bakteri uji diinokulasikan secara merata pada media agar uji. Larutan uji diteteskan pada cakram kemudian cakram diletakkan pada media uji yang telah terisi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil pengujian dapat diamati melalui pengukuran diameter zona bening pada sisi-sisi yang berbeda disekitar cakram. Prinsip metode difusi adalah larutan uji yang digunakan akan berdifusi ke dalam media uji sehingga akan menghambat pertumbuhan bakteri. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan cara mengukur zona bening di sekitar cakram menggunakan jangka sorong (Balouiri dkk., 2016).



Gambar 2.3 Uji antibakteri. A (metode difusi sumuran), B (metode difusi cakram)
Sumber: (Balouiri dkk., 2016) dan (Al-malkey dkk., 2017).

2.6.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri *in vitro* secara kualitatif terhadap bakteri dan jamur (Balouiri dkk., 2016). Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu Metode Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*) dan Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*). Prinsip dari kedua metode tersebut adalah sama, yang membedakan hanya pada media yang digunakan (Pratiwi, 2008). Metode dilusi cair terbagi menjadi dua, yaitu mikrodilusi dan makrodilusi (Balouiri dkk., 2016). Prinsip perlakuan makrodilusi dan mikrodilusi adalah hampir sama, yang membedakan adalah terletak pada volume dimana pada makrodilusi menggunakan lebih dari 1 mL, sedangkan pada mikrodilusi volume yang digunakan adalah 0,01-0,05 mL (Soleha, 2015). Proses yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan melakukan pengenceran larutan uji antibakteri secara bertingkat. Larutan uji pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimal). Nilai konsentrasi ini didefinisikan sebagai konsentrasi antibakteri uji terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Hasibuan, 2016). Pada metode dilusi padat setiap konsentrasi uji dicampur dengan media agar sebelum media menjadi padat. setelah media menjadi padat selanjutnya bakteri uji diinokulum ke dalam media yang telah berisi campuran antibakteri uji selanjutnya diinkubasi untuk melihat aktivitas pertumbuhan bakteri (Balouiri dkk., 2016).



Gambar 2.4 Uji antibakteri metode mikrodilusi (Sumber: Balouiri dkk., 2016).

2.6 Tinjauan Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia menggunakan pelarut yang sesuai dengan hasil akhir berupa sediaan kental. Senyawa aktif yang terkandung pada simplisia dapat dikelompokkan menjadi beberapa golongan senyawa, yaitu fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, terpenoid, dan lain-lain. Sehingga dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung pada simplisia akan mempermudah dalam pemilihan pelarut (Depkes RI, 2000). Metode Ekstraksi secara umum dilakukan dengan dua cara, yaitu:

1. Cara Dingin

1.1. Maserasi

Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang sesuai dan dilakukan pengadukan beberapa kali pada suhu kamar selama ≥ 24 jam. Remaserasi merupakan maserasi berulang melalui penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama (Depkes RI, 2000).

1.2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dan dilakukan pada suhu kamar. Proses yang dilakukan meliputi beberapa tahapan yaitu pengembangan bahan, maserasi antara, dan perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak) secara terus menerus hingga diperoleh ekstrak (perkolat) (Depkes RI, 2000).

2. Cara Panas

2.1. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama hingga 3-5 kali sehingga proses ekstraksi mencapai sempurna (Depkes RI, 2000).

2.2. Soxhlet

Soxhlet merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi

ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000).

2.3. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi maserasi kinetik dengan pengadukan secara terus menerus (kontinu). Secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

2.4. Infus

Infus merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut alir pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

2.5. Dekok

Dekok merupakan metode ekstraksi infus dengan waktu yang relatif lebih lama dan temperatur ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

2.7 Tinjauan Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan suatu senyawa organik dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pemisahan ini didasari oleh tingkat kelarutan senyawa-senyawa. Pelarut yang digunakan umumnya menggunakan pelarut air dan pelarut organik seperti etanol, metanol, etil asetat, diklorometana dan n-heksana (Rizkiana, 2018).

Metode fraksinasi terbagi menjadi dua macam, yaitu metode ekstraksi padat-cair dan metode ekstraksi cair-cair (Sarker dkk., 2008). Prinsip penggunaan fraksinasi padat-cair adalah keseimbangan antara fase padat dan fase cair dengan menggunakan kromatografi kolom. Fraksinasi padat cair terdiri dari dua komponen yaitu fase gerak yang terdiri dari pelarut dan fase diam yang terdiri dari silika gel. Fase gerak dibiarkan mengalir melalui kolom. Senyawa yang terlarut mengalir melalui kolom dengan laju berbeda sehingga terjadi interaksi antara senyawa terlarut, fase diam dan fase gerak (Rizkiana, 2018).

Fraksinasi cair-cair merupakan metode pemisahan yang didasari oleh perbedaan kelarutan dari komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Penggunaan fraksinasi cair-cair dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak yang ingin difraksi dilarutkan ke dalam suatu pelarut yang terdiri dari dua pelarut yang tidak saling campur. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian dihomogenkan dan didiamkan. Solut atau senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasanya masing-masing yang akan membentuk dua lapisan berbeda, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah (Rizkiana, 2018). Fraksinasi metode partisi cair-cair dipilih untuk menentukan skrining awal ekstrak daun kacapiring pada pelarut polar, semi polar dan nonpolar sehingga mampu mengetahui aktivitas antibakteri pada fraksi

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

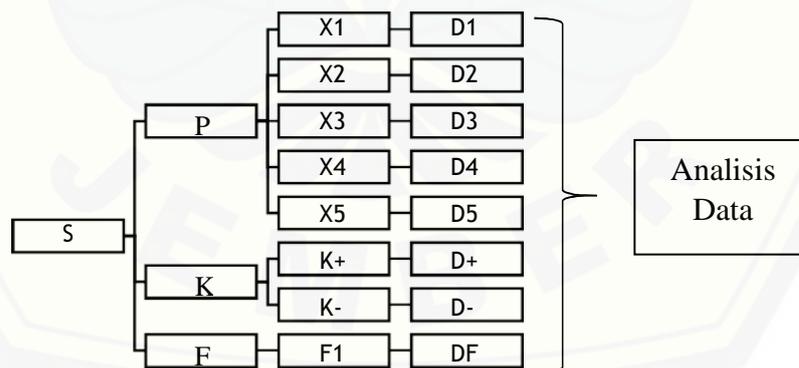
Jenis penelitian ini menggunakan rancangan *True Eksperimental Laboratories*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya terhadap *S. typhi*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan April 2019 sampai bulan Agustus 2019.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The post test only control group design*. Pada penelitian ini akan diukur pengaruh perlakuan pada kelompok percobaan dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Rancangan penelitian dapat ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan

- | | | | |
|-------|----------------------------------|-------|---------------------------------|
| S | = Sampel | K+ | = Kontrol positif Kloramfenikol |
| P | = Kelompok perlakuan | K- | = Kontrol negatif DMSO 10% |
| K | = Kelompok Kontrol | D1-D4 | = Hasil data larutan uji |
| X1-X4 | = Konsentrasi uji berturut-turut | D+ | = Hasil kontrol positif |
| F | = Fraksi | D- | = Hasil kontrol negative |
| F1 | = pengujian fraksi | DF | = Hasil data fraksi |

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Sartorius CP224S), oven (Mettler), *Rotary evaporator* (Heidolph), seperangkat alat gelas, corong pisah, spatula logam, pinset, tabung reaksi, pipet volum, pipet tetes, plat tetes, *Cotton bud*, rak tabung, jangka sorong, mikropipet 10-1-100 μ l (Socorex), mikropipet 100-1000 μ l (Eppendorf), jarum ose, bunsen, *hotplate*, *microtip*, *microtube*, vortex (Labnet), *aluminium foil* (Klin-pak), kertas saring, autoklaf (ALP), *laminar air flow* (Thermo SCIENTIFIC 13000 SERIES A2) dan inkubator (Clifton).

3.4.2 Bahan

Tanaman pada penelitian ini yang digunakan adalah daun *Gardenia augusta* yang diambil secara acak di Kecamatan Umbulsari Kabupaten Jember. Media pertumbuhan dan media uji yang digunakan adalah Natrium Agar (NA) dan *Mueller Hinton* Agar (MHA). Bakteri uji yang digunakan *Salmonella thypi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% untuk ekstraksi maserasi dan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol-air untuk fraksinasi.

Bahan kimia yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah NaCl fisiologis steril 0.9%, aquades steril, dan Dimetil Sulfoksida 10% (DMSO) sebagai pelarut dan kontrol negatif serta cakram kloramfenikol sebagai kontrol positif.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini variabel bebas yang ditentukan adalah uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya terhadap bakteri *S. thypi* konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40%. Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah diameter zona hambat dari hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kacapiring dan fraksinya terhadap *S. typhi*.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol yang ditetapkan adalah ekstrak etanol daun kacapiring metode maserasi menggunakan etanol 96%, fraksinasi metode cair-cair, uji antibakteri metode difusi cakram, *Mueller Hinton Agar* sebagai media uji, prosedur penelitian, dan pengukuran diameter zona hambat untuk uji antibakteri.

3.6 Definisi Operasional

- A. Daun kacapiring yang digunakan pada penelitian ini diambil di Kecamatan Umbulsari, Kabupaten Jember, Jawa Timur pada bulan April 2019.
- B. Ekstrak etanol daun kacapiring melalui proses ekstraksi maserasi menggunakan etanol 96%. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- C. Cakram Kloramfenikol 30 µg sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif pada penelitian ini.
- D. Fraksi yang digunakan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air. Fraksi diperoleh dari ekstrak etanol yang dilarutkan dengan etanol-air dan dipartisi menggunakan n-heksana, dan etil asetat.
- E. Daya hambat adalah kemampuan ekstrak dan fraksi dalam menghambat pertumbuhan *S. typhi*. Daya hambat dinyatakan sebagai diameter zona hambat yang diukur berdasarkan adanya zona bening disekitar cakram menggunakan jangka sorong.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Identifikasi Tanaman

Tumbuhan *G. augusta* diambil di Kecamatan Umbulsari Kabupaten Jember dan dilakukan determinasi di Laboratorium Tanaman Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember untuk membuktikan bahwa pengambilan tanaman yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah valid.

3.7.2 Pembuatan Simplisia

Daun segar *G. augusta* diambil secara acak kemudian disortir untuk memisahkan bagian daun yang rusak. Selanjutnya, daun dicuci untuk menghilangkan pengotor kemudian daun diperkecil untuk memudahkan proses pengeringan dan penggilingan. Daun dikeringkan secara alami pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari secara langsung hingga didapatkan simplisia *G. augusta*. Daun simplisia *G. augusta* kemudian disortasi kering dan dilanjutkan dengan penggilingan untuk memperoleh serbuk simplisia.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak

Simplisia serbuk ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dimasukkan ke maserator dan ditambahkan etanol 96% 2000 mL (1:10) untuk dilakukan ekstraksi maserasi dan dilakukan pengadukan setiap 24 jam. Maserat kemudian disaring menggunakan *corong buchner* untuk memisahkan residu. Filtrat yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan senyawa kimia yang melekat pada pelarut. Residu yang tersisa selanjutnya dilakukan maserasi kembali menggunakan pelarut yang tersisa hasil pemekatan. Hasil dari maserasi berulang selanjutnya dilakukan penyaringan, penguapan dan pengeringan hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya.

3.7.4 Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan fraksinasi menggunakan etanol-air, n-heksana dan etil asetat. Proses ini bertujuan untuk memperoleh fraksi n-heksana, etil asetat dan fraksi etanol-air melalui metode partisi cair-cair. Sebanyak 4,8 gram ekstrak kental dilarutkan dalam 8 mL etanol dan 72 mL aquades. Larutan selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan 80

mL n-heksana kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua fase larutan yang terpisah (etanol-air berada bagian bawah dan heksana pada bagian atas). Fraksi n-heksana kemudian ditampung dan diuapkan hingga terbentuk fraksi kental. Selanjutnya dengan proses yang sama fraksi etanol-air dipartisi kembali menggunakan etil asetat. Fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air kemudian ditampung dan diuapkan hingga masing-masing terbentuk fraksi kental. Hasil semua fraksi selanjutnya ditimbang dan dihitung rendemennya (Rizkiana, 2018)

3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri

A. Sterilisasi Alat

Peralatan yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilisasi dengan cara dicuci menggunakan air suling, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas coklat kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama ± 15 menit. Kawat ose disterilisasi menggunakan pemijaran dan alat-alat yang tidak tahan pemanasan disterilisasi menggunakan alkohol.

B. Pembuatan Media

1. Nutrien Agar (Na)

Media Na digunakan untuk pembiakan bakteri, serbuk Na ditimbang 0,69 g kemudian dilarutkan dengan akuades 30 mL dalam erlenmeyer 50 mL dan dipanaskan hingga homogen dan larut sempurna. Selanjutnya media Na 5 mL dituang ke dalam 5 tabung reaksi dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan selama ± 15 menit. Setelah itu media Na steril dimasukkan ke dalam lemari pendingin dengan posisi miring 45°C hingga terbentuk media agar miring.

2. *Mueller Hinton Agar*

Media MHA ditimbang sebanyak 20,9 g kemudian dilarutkan dengan aquadest 550 mL dan dipanaskan hingga homogen dan larut sempurna. Media MHA sebanyak 15 ml selanjutnya dituang ke dalam 36 tabung reaksi dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama ± 15 menit. Kemudian media MHA steril dimasukkan ke dalam lemari pendingin hingga terbentuk media agar padat.

C. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara membiakkan bakteri pada media Na dengan mengambil koloni bakteri murni kemudian digoreskan pada media NA menggunakan jarum ose dalam tabung reaksi. Proses tersebut dilakukan secara aseptis dibawah LAF dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

D. Pembuatan Suspensi Bakteri

Larutan NaCl 0,9% 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian hasil biakan bakteri diinokulasi menggunakan kawat ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah terisi larutan NaCl 0,9% secara aseptis dan divortex hingga suspensi homogen. Suspensi bakteri selanjutnya diukur adsorbansi menggunakan spektrofotometri hingga setara dengan Mc Farland 0,5 yaitu antara 0,08-0,13 (3×10^8 CFU/mL). Jika suspensi bakteri telah memenuhi rentang adsorbansi sesuai standar Mc Farland maka suspensi bakteri siap digunakan untuk pengujian antibakteri.

E. Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% dibuat dengan cara memipet 1 ml DMSO 100% kemudian ditambah aquadest 9 ml dan divortex hingga homogen. Kontrol positif yang digunakan adalah cakram Kloramfenikol 30 µg.

F. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dari ekstrak dibuat dengan 4 konsentrasi, yaitu 20%, 25%, 30%, dan 40%. Pembuatan larutan uji ekstrak dilakukan dengan cara membuat larutan induk yaitu menimbang ekstrak 0,4 g kemudian dilarutkan dengan 1 mL DMSO 10 % untuk mendapatkan konsentrasi 40%. Larutan uji 40% selanjutnya diencerkan hingga mendapatkan konsentrasi 30%, 25% dan 20%. Pembuatan larutan uji pada fraksi menggunakan konsentrasi yang sama yaitu 20%, 25%, 30%, dan 40%. Pembuatan larutan uji pada fraksi dilakukan dengan proses yang sama dengan pembuatan larutan uji ekstrak.

G. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kaca piring dan fraksi. Proses pengujian ekstrak diawali dengan membuat larutan uji konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40%. Selanjutnya larutan uji dan DMSO 10% sebanyak 20 μL diteteskan ke dalam cakram steril yang tersedia dan didiamkan selama 18-24 jam. Suspensi bakteri yang telah dibuat sebelumnya dituang 50 μL ke dalam cawan petri yang telah terisi media padat MHA dan diratakan menggunakan *cotton bud*. Larutan uji ekstrak, kontrol negatif DMSO 10% yang telah diteteskan pada cakram dan kontrol positif cakram kloramfenikol selanjutnya diletakkan ke dalam petri yang telah terisi bakteri uji. Kemudian diinkubasi menggunakan suhu 37 °C selama 18 jam. Pengujian antibakteri pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air dilakukan dengan proses dan kondisi yang sama seperti pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak.

Aktivitas antibakteri dapat diamati berdasarkan pengukuran diameter zona hambatnya. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan alat ukur jangka sorong.

3.8 Analisis Data.

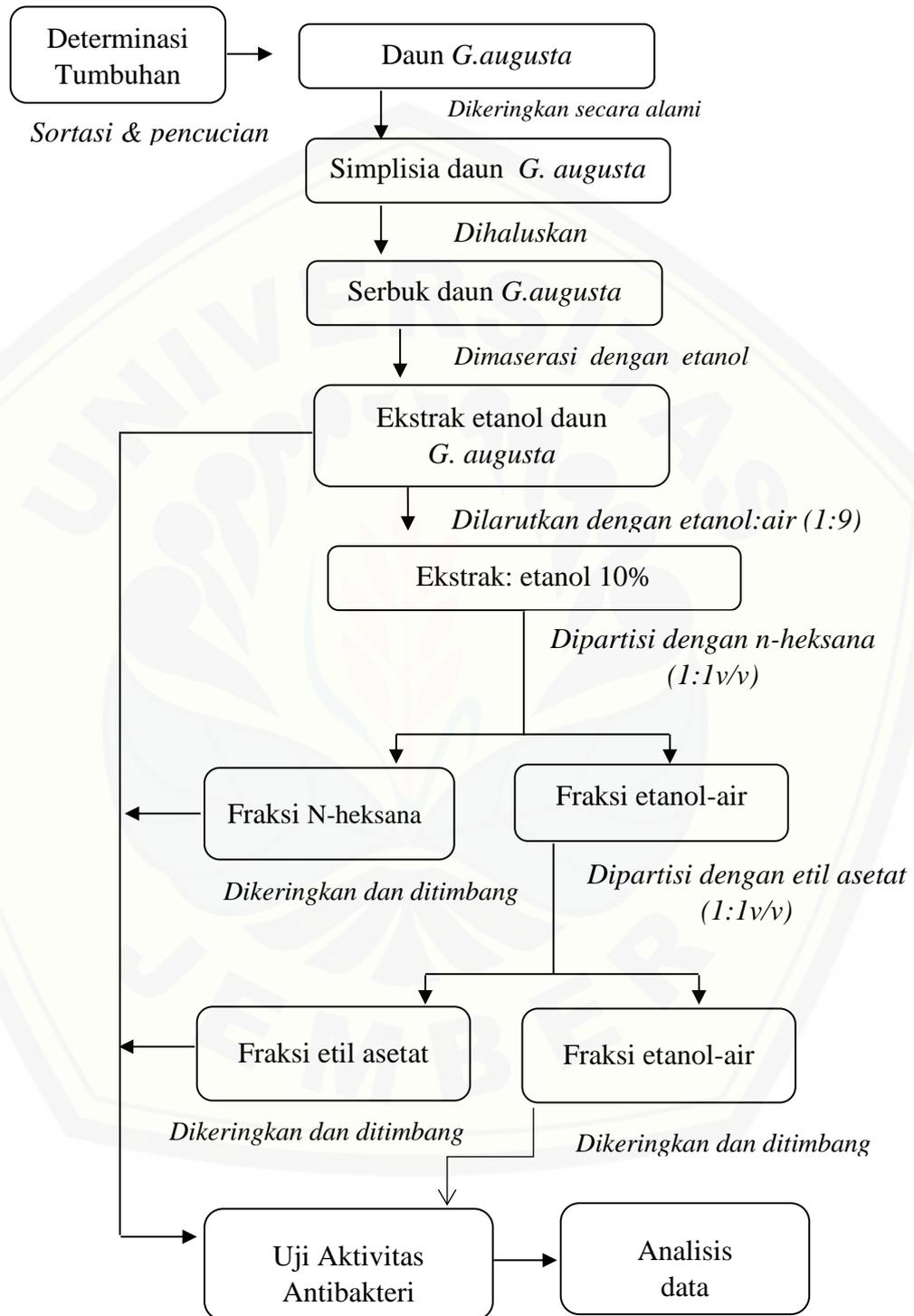
Hasil penelitian yang diperoleh dapat dianalisis secara statistik. Proses yang pertama dilakukan adalah uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah persebaran data dari hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah data dari hasil pengujian memiliki varian yang sama atau tidak. Data dapat dikatakan normal dan homogen jika nilai $p > 0,05$.

Hasil dari uji normalitas dan homogenitas dapat dilanjutkan pada uji *one way ANOVA* apabila telah memenuhi syarat signifikansi. Uji *one way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui apakah data dari kelompok uji terdapat memiliki perbedaan bermakna atau tidak. Kemudian dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui data kelompok mana saja yang memiliki perbedaan

bermakna. Hasil uji ANOVA dan LSD dapat dikatakan signifikan jika nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila dari hasil uji normalitas dan uji homogenitas tidak memenuhi persyaratan, maka perlu dilakukan transformasi data hingga data tersebut normal dan homogen dan dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji LSD. Jika transformasi data yang dihasilkan tetap tidak memenuhi syarat, maka dilakukan analisis statistik alternatif non parametrik.

Uji analisis non parametrik merupakan analisis data statistik yang tidak memperhatikan parameter tertentu. Uji analisis statistik yang digunakan adalah *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah pada kelompok uji memiliki perbedaan bermakna atau tidak. Selanjutnya dilakukan analisis uji *Mann-Whitney* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok uji mana yang memiliki perbedaan bermakna. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney* dapat dikatakan berbeda signifikan apabila nilai $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Sudjana, 2000).

3.9 Skema Penelitian



Gambar 3.2 Skema penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Sampel daun kacapiring *G. augusta* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi* pada fraksi etanol-air konsentrasi 30% dan 40%
2. Di antara sampel uji ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terdapat pada fraksi etanol-air yaitu pada konsentrasi 30% dan 40%. Namun diantara kedua konsentrasi tersebut tidak bisa ditentukan mana yang paling aktif karena secara statistik memiliki nilai aktivitas penghambatan yang hampir sama terhadap pertumbuhan bakteri *S.typhi*.

5.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait skrining fitokimia pada fraksi untuk memastikan senyawa yang terkandung pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol-air.
2. Perlu dilakukan penentuan konsentrasi uji yang lebih optimal dalam penelitian lebih lanjut untuk memastikan efektivitas penghambatan antibakteri dari daun *Gardenia augusta*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi-ali, A., M. Shafiei, F. Shaheraghi, A. Saboora, dan T. Ghazanfari. 2015. The Study Of Synergistic Effects of n-Butanolic *Cyclamen coum* Extract and Ciprofloxacin on Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation. *Biological Journal of Microorganism*. 3(12):25–32.
- Al-malkey, M. K., C. Ismeeal, J. Abo, S. W. Mohammed, dan H. J. Nayyef. 2017. Antimicrobial Effect of Probiotic *Lactobacillus spp.* on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Contemporary Medical Sciences*. 3(10):218–223.
- Arabski, M., Wegierek-Ciuk, G. Czerwonka, A. Lankoff, dan W. Kaca. 2012. Effects of Saponins Againsts Clinical *Escherichia coli* Strains and Eukaryotic Xell Line. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*. 1-6
- Azis Saifudin, P. D. A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, Dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Budi Utama.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibsouda. 2016. Methods For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., S. A. M. 2006. *Jawetz, Melnick & Adelbergs Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Edisi 2. Jakarta: Salemba Medika.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelbergs Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Edisi 26. USA: Mc Graw Hill Education.
- Charles F. Lacy, L. L. Armstrong, M. P. Goldman, dan L. L. Lance. 2009. *Drug Information Handbook*. Edisi 17. New york, USA: American Pharmacists Association.
- Chowdhury, A., S. Azam, M. A. Jainul, K. O. Faruq, dan A. Islam. 2014. Antibacterial Activities And In Vitro Anti-Inflammatory (Membrane Stability) Properties of Methanolic Extracts of *Gardenia coronaria* Leaves. *International Journal of Microbiology*. 2014:2.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Edisi 3. Jakarta: Puspa Swara.

- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika & Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- Denis Kunkel. 2019. *Salmonella typhi* Bacterium by Scannig Electron Micrograph. <https://www.sciencephoto.com/media/799392/view> [Diakses pada May 10, 2019].
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dorland's. 2011. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. Edisi 32. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.
- Drexler, M. 2011. *What You Need to Know About Infection Disease*. Washington (DC): National Academies Press (US).
- Dye, C. 2015. After 2015: Infectious Diseases In A New Era of Health and Development. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 369:20130426.
- Fang, S.-L., J. Guan, J.-B. Zhou, Y.-Q. Xie, dan X. Meng. 2017. Studies on Antibacterial Activity of *Gardenia yellow* Pigment. *Proceedings of the 7th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 50–55.
- Fatmawati, A. S. 2017. Pembuatan Jelly dengan Menggunakan Sari Daun Bunga Kacapiring (*Gardenia augusta* Merr). *Tugas Akhir*. Balikpapan: Program Diploma III Tata Boga Politeknik Negeri Balikpapan.
- Hasibuan, S. A. 2016. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Skripsi*. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Hasyim, S. N. A. 2019. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta* Merr.) Terhadap *Escherichia coli*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jaroni, D. 2014. *Salmonella: Salmonella Typhi*. Edisi 2. Elsevier. *Encyclopedia of Food Microbiology*.
- Jorgensen, J. H. dan M. J. Ferraro. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A

- Review Of General Principles And Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*. 49(11):1751.
- Karou, D., M. H. Dicko, J. Simpoire, dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols From Plant of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):823-828.
- Kesavan, K., J. Gnanasekaran, S. Gurunagarajan, dan A. A. John. 2018. Microscopic, Physicochemical and Phytochemical Analysis of *Gardenia jasminoides* (Ellis). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 10(1):101.
- Kumar, V., R. Mahmood, V. Krishna, dan B. Ravishankar. 2017. Evaluation of Antibacterial Activity From Stem Bark And Leaf Extracts Of *Gardenia gummifera* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(6):2027–2029.
- Levine, M. M., M. B. Szein, dan M. F. Pasett. 2011. *The Immunological Basis for Immunization Series Module 20: Salmonella Enterica Serovar Typhi (Typhoid) Vaccines*. 20. Geneva, Switzerland: Immunization, Vaccines and Biologicals.
- Martins, D. dan C. V. Nunez. 2015. Secondary Metabolites From Rubiaceae Species. *Molecules*. 20(7):13443–13444.
- Mawan, A. R., S. E. Indriwati, dan Suhadi. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherchia coli*. *Bioedukasi*. 4(1):64–68.
- Misnadiarly dan H. Jayaningrat. 2014. *Mikrobiologi Untuk Klinik Dan Laboratorium*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Mujeeb, F., P. Bajpai, dan N. Pathak. 2014. Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, And Determination Of Bioactive Components From Leaves Of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*. 1-11
- Natsir, A. R. 2015. Prevalensi Infeksi Oromaksilofasial Yang Disebabkan Oleh Infeksi Odontogenik Di RS. Ibnu Sina Dan RS. Sayang Rakyat Pada Tahun 2011-2015. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
- Njinga, N., M. Sule, U. Pateh, H. Hassan, M. Usman, A. Bilkisu, B. Danja, dan R. Ache. 2014. Phytochemical and Antimicrobial Activity of the Stem-Bark of

Gardenia aqualla stapf & hutch (Rubeacea). *Journal of Medicinal Plant Research*. 8(27):944.

Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.

Reynolds, J. E. F. 1996. *Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition*. Edisi 31. London: The Royal Pharmaceutical Society Press.

Depkes RI. K. 2017. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid II*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI.

Rizkiana, L. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Benalu (*Scurrula Ferruginea* (Jack.) Dans.) Apel Manalagi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Sandhori, F. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Staphylococcus aureus* Dari Ekstrak Etanol Dan Faksi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum). Jember. *Skripsi*: Fakultas Framasi Universitas Jember.

Sarker, S. D., Z. Latif, dan A. I. Gray. 2008. *Natural Product Isolation*. Edisi II. New Jersey, USA: Humana Press.

Soleha, T. U. 2015. Susceptibility Test Of Antimicroba. *Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik*. 2.

Ullah, H. dan S. Ali. 2017. Classification of Antibacterial Agents and Their Functions. *Journal Intech Open Mind*. 2–16.

Webb, H. K., R. J. Crawford, dan E. P. Ivanova. 2015. *Antibacterial Surfaces*. New York Dordrecht London: Springer International Publishing.

Weinstein MP, Patel JB, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK, Galas MF, G. H. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *CLSI, Supplement M100*. 1–25.

Vaxcorp Indonesia. 2016. <https://www.vaxcorpindo.com/typhoid-fever-indonesia-favorite-disease/> [Diakses pada April 28, 2019].

World Health Organization. 2018. WHO | Typhoid. <https://www.who.int/immunization/diseases/typhoid/en/> [Diakses pada April

LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 10/PL17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Universitas Jember No: 901/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 : Mohammad Thahir; I Wayan Seniarta; Siti Nur Azizah Hasyim
NIM : 152210101135; 152210101118; 152210101127
Jur/Fak/PT : Fakultas Farmasi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Gardenia; Spesies: Gardenia augusta, Merr.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 11 April 2019
Ks. Laboratorium Tanaman

Lilik Mastuti, MP
NIP. 195808201987032001

Lampiran B. Hasil Rendemen Ekstraksi dan Fraksinasi



Gambar B.1 Ekstrak daun kacapiring (A) dan hasil fraksinasi ekstrak daun kacapiring (B)

Perhitungan rendemen Ekstrak:

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ \text{Rendemen ekstrak} &= \frac{40,05 \text{ g}}{200,05 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 20,05 \% \end{aligned}$$

Perhitungan rendemen fraksi

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

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi n-heksan} &= \frac{0,836 \text{ g}}{4,802 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 17,409 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen Fraksi EA} &= \frac{0,297 \text{ g}}{4,802 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,184 \% \end{aligned}$$

$$\text{Rendemen fraksi etanol-air} = \frac{3,147 \text{ g}}{4,802 \text{ g}} \times 100\% = 65,535 \%$$

Lampiran C. Perhitungan Pembuatan Media Agar uji dan Larutan Uji Untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri

Perhitungan Pembuatan Media Nutrien Agar miring (Na)

Nutrien Agar = 1 tabung 5 mL (dibuat 5 tabung)

5 x 5 tabung = 25 mL (5 tabung)

23 g = 1000 mL

X g = 30 mL

X g = $\frac{30 \text{ mL} \times 23 \text{ g}}{1000}$

X = 0,69 g

perhitungan Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

MHA = 1 tabung 15 mL (dibuat 36 tabung)

15 x 36 tabung = 540 mL (36 tabung)

38 g = 1000 mL

X g = 550 mL

X g = $\frac{550 \text{ mL} \times 38 \text{ g}}{1000}$

x = 20,9 g

1. Pembuatan Larutan DMSO 10%

Larutan DMSO dibuat dengan cara memipet sebanyak 1 mL larutan DMSO 100% kemudian diencerkan dengan akuades steril sebanyak 9 mL.

2. Pembuatan Larutan Uji

A. Ekstrak Daun Kacapiring *G. augusta*

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 40\%} &= \frac{0,4027 \text{ g}}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 40,27\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 30\%} &= \frac{0,75 \text{ mL}}{0,25 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 40,27\% \\ &= 30,20\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 25\%} &= \frac{0,83 \text{ mL}}{0,17 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 30,20\% \\ &= 25,066\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 20\%} &= \frac{0,80 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 25,08\% \\ &= 20,064\%\end{aligned}$$

B. Fraksi n-heksan Daun Kacapiring (*G. augusta*)

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 40\%} &= \frac{0,403 \text{ g}}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 40,3\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 30\%} &= \frac{0,75 \text{ mL}}{0,25 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 40\% \\ &= 30,225\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 25\%} &= \frac{0,83 \text{ mL}}{0,17 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 30,225\% \\ &= 25,086\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 20\%} &= \frac{0,80 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 25,08\% \\ &= 20,068\%\end{aligned}$$

C. Fraksi EA Daun Kacapiring (*G. augusta*)

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 40\%} &= \frac{0,404 \text{ g}}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 40,4\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 30\%} &= \frac{0,75 \text{ mL}}{0,25 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 40,4\% \\ &= 30,3\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 25\%} &= \frac{0,83 \text{ mL}}{0,17 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 30,3\% \\ &= 25,15\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 20\%} &= \frac{0,80 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 25,15\% \\ &= 20,12\%\end{aligned}$$

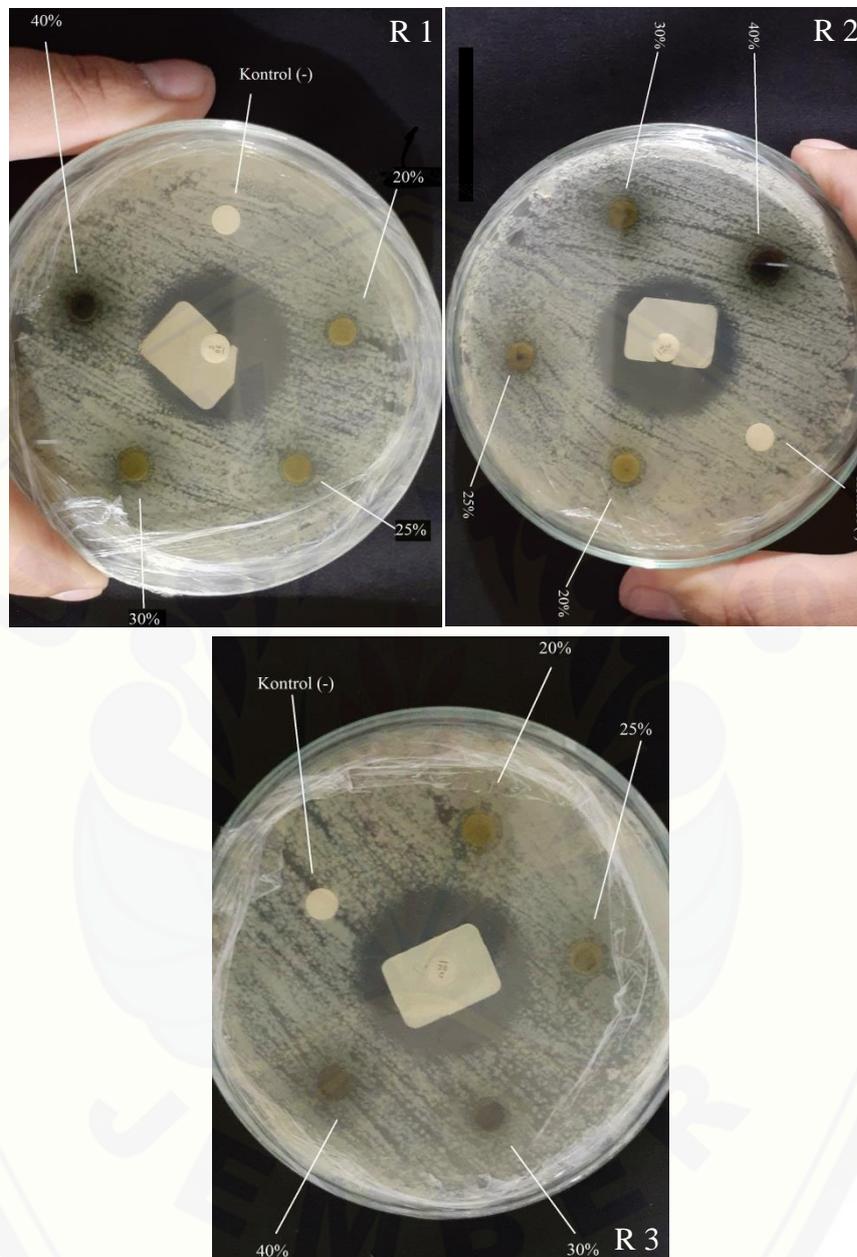
Fraksi etanol-air Daun Kacapiring (*G. augusta*)

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 40\%} &= \frac{0,4047 \text{ g}}{1 \text{ mL}} \times 100\% \\ &= 40,47\%\end{aligned}$$

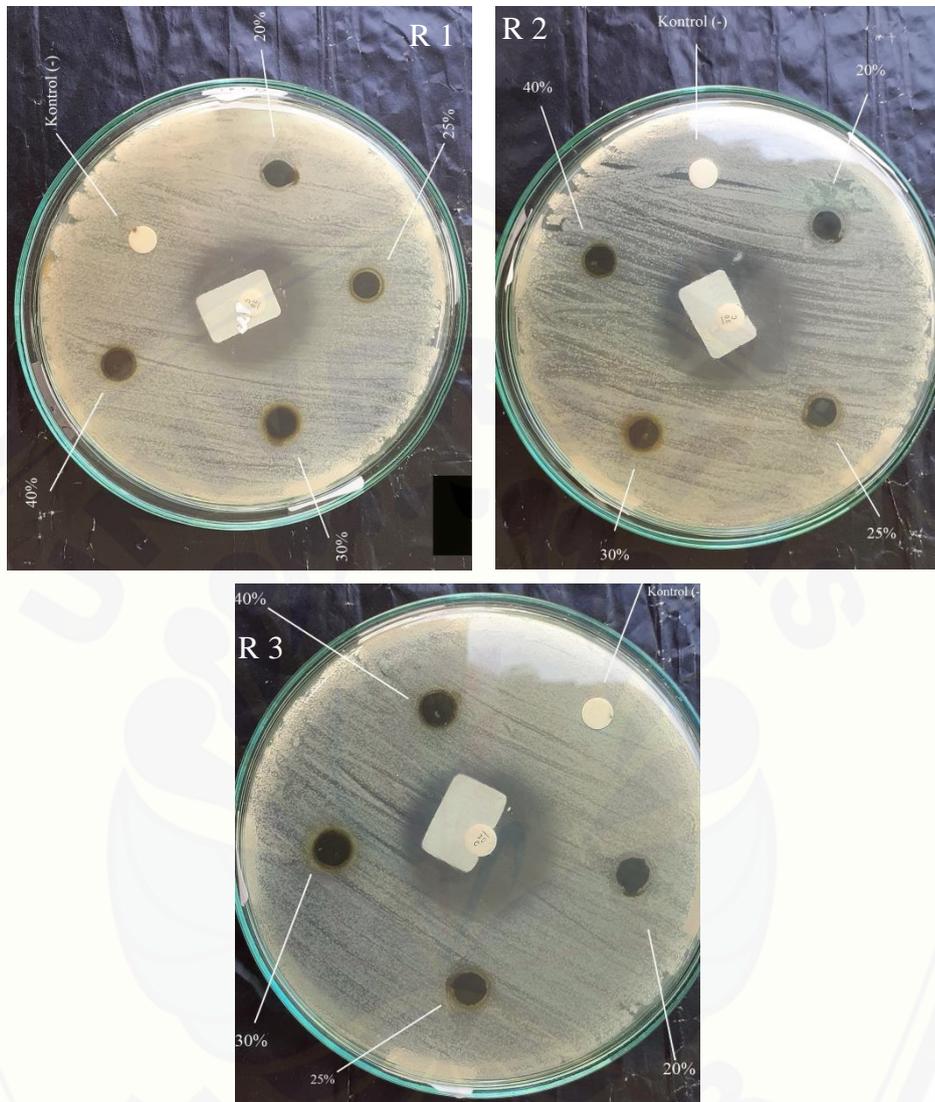
$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 30\%} &= \frac{0,75 \text{ mL}}{0,25 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 40,47\% \\ &= 30,35\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 25\%} &= \frac{0,83 \text{ mL}}{0,17 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 30,35\% \\ &= 25,35\%\end{aligned}$$

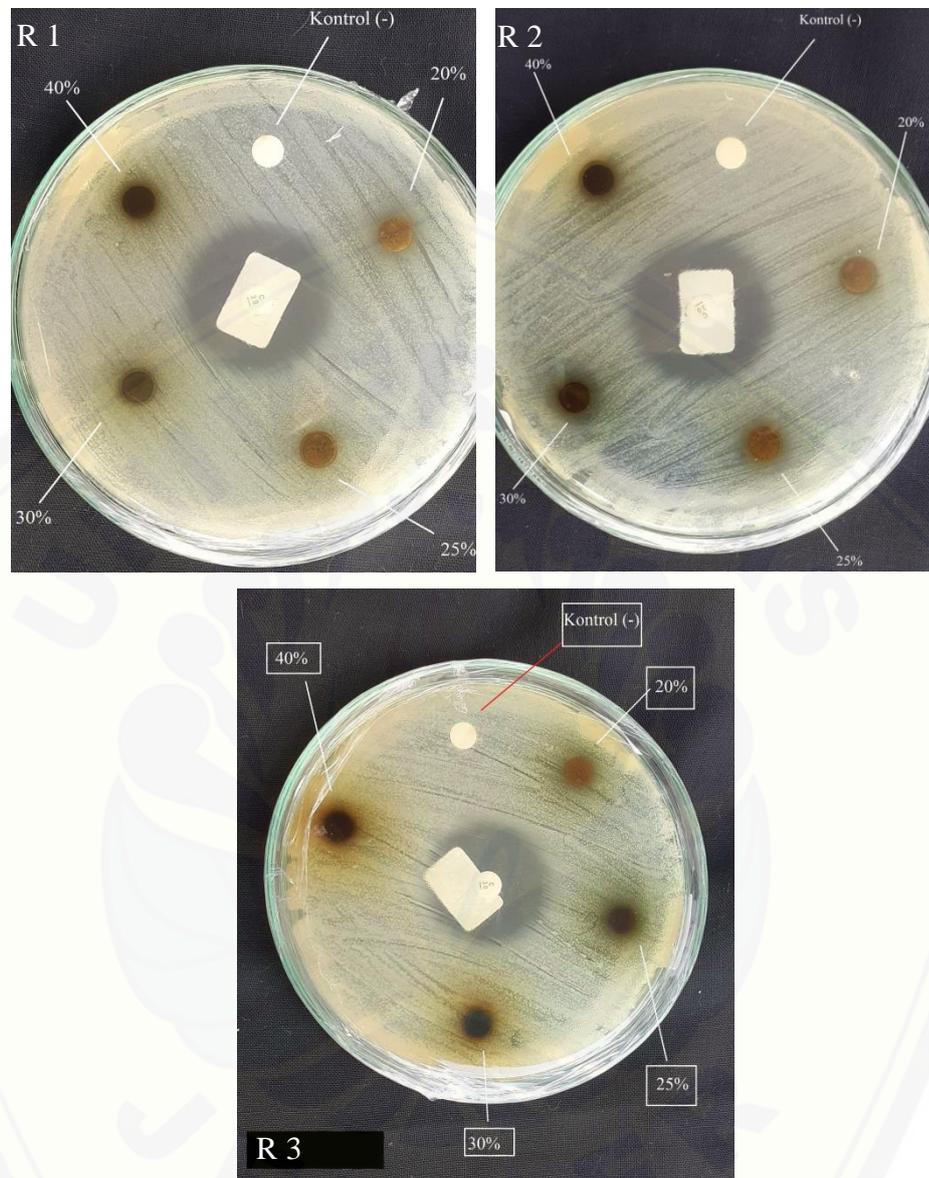
$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi 20\%} &= \frac{0,80 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL (ad 1 mL)}} \times 25,08\% \\ &= 20,28\%\end{aligned}$$

Lampiran D. Hasil Uji Antibakteri Semua Kelompok Perlakuan.

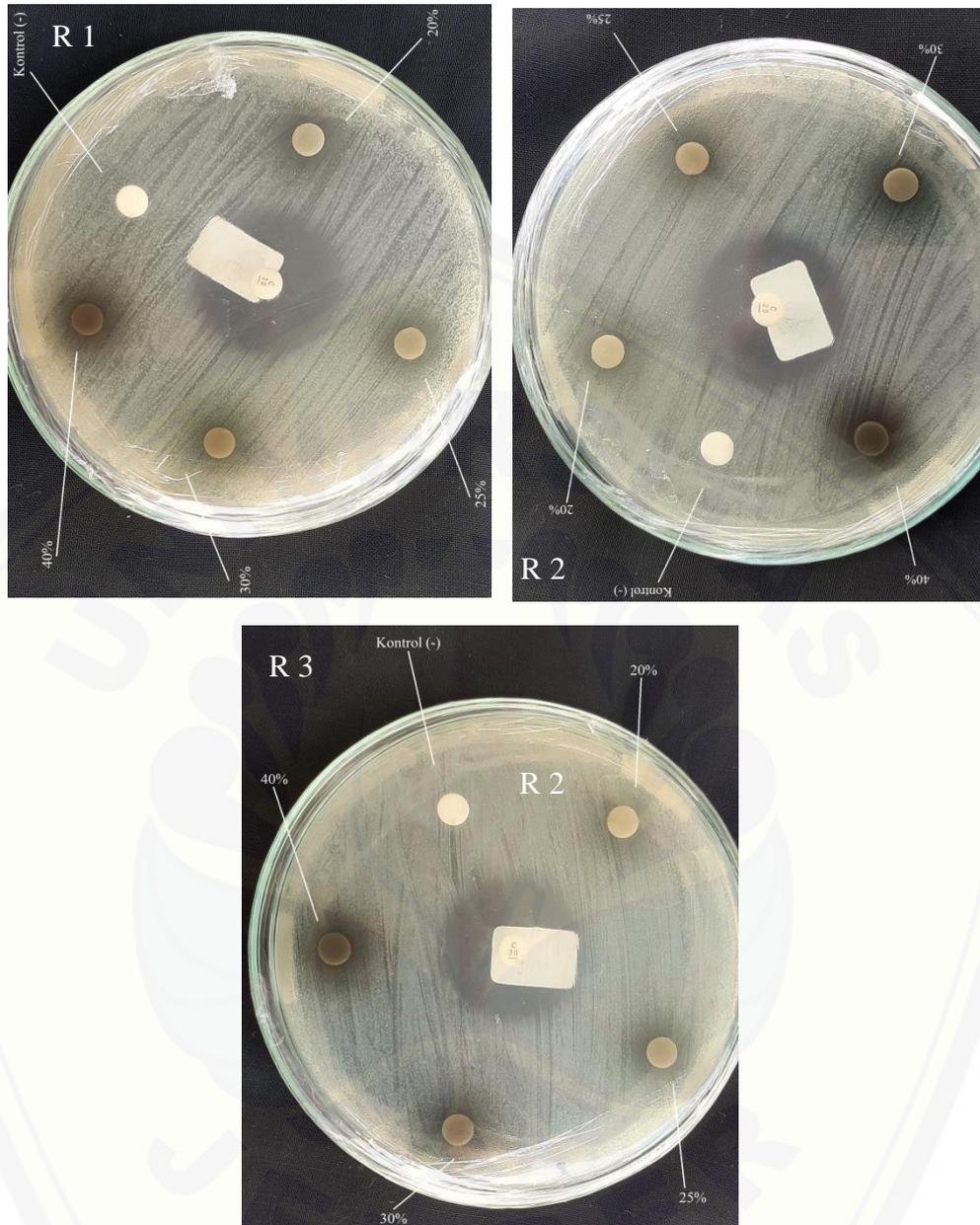
Gambar D.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak daun kacapiring (*G. augusta*) konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40% terhadap bakteri *S. typhi*



Gambar D.2 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan daun Kacapiring (*G. augusta*) konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40% terhadap bakteri *S. typhi*



Gambar D.3 Hasil uji aktivitas antibakteri Fraksi EA daun Kacapiring (*G. augusta*) konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40% terhadap bakteri *S. typhi*



Gambar D.4 Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etanol-air daun Kacaping (*G. augusta*) konsentrasi 20%, 25%, 30%, dan 40% terhadap bakteri *S. typhi*

Tabel D.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak, fraksi n-heksana, Fraksi EA, dan fraksi etanol-air pada daun kacapiring (*G.augusta*) konsentrasi 20%, 25%, 30%, 40% terhadap bakteri *S. typhi*

Kelompok	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat ekstrak etanol daun <i>G. augusta</i> terhadap <i>S. typhi</i> (mm)					SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata			
Ekstrak	20.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	25.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	30.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	40.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Fraksi n-heksan	20.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	25.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	30.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	40.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Fraksi etil asetat	20.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	25.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	30.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	40.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Fraksi etanol-air	20.000	0,000	0,000	0,000	0,000	0.000	0.000	
	25.000	0,000	0,000	0,000	0,000	0.000	0.000	
	30.000	7.412	7.516	7.611	7.564	0.081	0.011	
	40.000	8.181	8.316	8.201	8.259	0.073	0.000	
Kontrol (+)	Ekstrak	30.216	29.987	30.157	30.120	0.097	0.003	
	Fraksi n-heksan	29.691	29.475	29.566	29.577	0.089	0.003	

	Fraksi etil asetat	29.174	29.384	29.259	29.272	0.086	0.003
	Fraksi etanol-air	29.259	29.200	29.118	29.192	0.058	0.002
Kontrol (-)		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Lampiran E. Analisis Data Statistik

1. Uji normalitas dan homogenitas sampel ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi EA, dan fraksi etanol-air dari daun Kacapiring *G. augusta* 20%, 25%, 30%, 40%

Tests of Normality^{b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n,o,p,q,r,s}

Uji_aktivitas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Daya_hambat Air 30%	.179	3	.	.999	3	.950
Air 40%	.335	3	.	.858	3	.263
kontrol positif ekstrak	.289	3	.	.927	3	.479
kontrol positif heksan	.208	3	.	.992	3	.827
kontrol positif EA	.217	3	.	.988	3	.791
kontrol positif etanol-air	.210	3	.	.991	3	.821

Test of Homogeneity of Variances

Daya_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.160	23	48	.000

2. Uji *Kruskal-Wallis* sampel ekstrak, fraksi heksan, Fraksi EA, dan fraksi etanol-air dari daun Kacapiring *G. augusta* 20%, 25%, 30%, 40%

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

	Daya_hambat
Chi-Square	70.912
df	23
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Uji_aktivitas

3. Hasil analisis data uji Mann-Whitney ekstrak dan fraksi daun daun kacapiring konsentrasi 20%, 25%, 30%, 40% terhadap bakteri *S. typhi*

Tabel E.1 Hasil analisis uji Mann-Whitney ekstrak etanol terhadap semua sampel pada konsentrasi dan kelompok kontrol

Signifikansi ($p < 0,05$)	Ekstrak 20%	Ekstrak 25%	Ekstrak 30%	Ekstrak 40%
Ekstrak 20%		1,000	1,000	1,000
Ekstrak 25%	1,000		1,000	1,000
Ekstrak 30%	1,000	1,000		1,000
Ekstrak 40%	1,000	1,000	1,000	
Fraksi n-Heksana 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi n-Heksana 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi n-Heksana 30%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi n-Heksana 40%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 30%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 40%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 30%	0,037	0,037	0,037	0,037
Fraksi Etanol-air 40%	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol positif ekstrak	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol negatif ekstrak	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabel E.2 Hasil analisis data uji Mann-Whitney fraksi n-heksana terhadap semua sampel fraksi daun kacapiring *G.augusta* dan kelompok kontrol

Signifikansi ($p < 0,05$)	Fraksi n- Heksana 20%	Fraksi n- Heksana 25%	Fraksi n- Heksana 30%	Fraksi n- Heksana 40%
Fraksi n-Heksana 20%		1,000	1,000	1,000
Fraksi n-Heksana 25%	1,000		1,000	1,000
Fraksi n-Heksana 30%	1,000	1,000		1,000
Fraksi n-Heksana 40%	1,000	1,000	1,000	
Fraksi etil asetat 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 30%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 40%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 30%	0,037	0,037	0,037	0,037
Fraksi Etanol-air 40%	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol (+) Fraksi n-heksana	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol (-) Fraksi n-heksana	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabel E.3 Hasil analisis data uji Mann-Whitney fraksi etil asetat terhadap fraksi etanol-air dari daun kacapiring *G.augusta* dan kelompok kontrol

Signifikansi ($p < 0,05$)	Fraksi etil asetat 20%	Fraksi etil asetat 25%	Fraksi etil asetat 30%	Fraksi etil asetat 40%
Fraksi etil asetat 20%		1,000	1,000	1,000
Fraksi etil asetat 25%	1,000		1,000	1,000
Fraksi etil asetat 30%	1,000	1,000		1,000
Fraksi etil asetat 40%	1,000	1,000	1,000	
Fraksi Etanol-air 20%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 25%	1,000	1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 30%	0,037	0,037	0,037	0,037
Fraksi Etanol-air 40%	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol (+) fraksi EA	0,037	0,037	0,037	0,037
Kontrol (-) fraksi EA	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabel E.3 Hasil analisis data uji Mann-Whitney fraksi etanol-air terhadap fraksi etanol-air dari daun kacapiring *G.augusta* dan kelompok kontrol

Signifikansi ($p < 0,05$)	Fraksi Etanol-air 20%	Fraksi Etanol-air 25%	Fraksi Etanol-air 30%	Fraksi Etanol-air 40%
Fraksi Etanol-air 20%		1,000	1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 25%	1,000		1,000	1,000
Fraksi Etanol-air 30%	0,037	0,037		0,05
Fraksi Etanol-air 40%	0,037	0,037	0,05	
Kontrol (+) f. Etanol-air	0,037	0,037	0,05	0,05
Kontrol (-) F. Etanol-air	1,000	1,000	0,037	0,037