



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SKRINING FITOKIMIA
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine
americana* (Aubl.) Merr.) ASAL KOTA WARINGIN BARAT
KALIMANTAN TENGAH TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

Ilham Robbynoor Sulistyono

NIM 152210101036

**BAGIAN BIOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SKRINING FITOKIMIA
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine
americana* (Aubl.) Merr.) ASAL KOTA WARINGIN BARAT
KALIMANTAN TENGAH TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

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

Oleh:

Ilham Robbynoor Sulistyono

NIM 152210101036

**BAGIAN BIOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang telah memberi saya kesempatan, petunjuk, nikmat, serta rahmat sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Ayahanda Dr. Ir. Luluk Sulistiyono., Msi., Ibunda Guntari., S.Sos., kakak Adincha Ayuvisda Sulistiyono., S.A., M. E., kakak Azis Kunaifi S. E., dan Adik Ircham Maulana Sulistiyono yang telah memberikan dorongan materil, moril, doa dan kasih sayang yang senantiasa mengiringi setiap langkah penulis;
3. Keluarga besar penulis di Jember, terima kasih atas dukungan, motivasi dan doa yang selalu mengiringi penulis untuk mencapai pendidikan yang lebih tinggi;
4. Guru-guru penulis sejak Taman Kanak-kanak (TK) hingga Sekolah Menengah Atas (SMA), dosen, laboran dan segenap civitas akademika yang telah memberikan ilmu dan mendidik penulis dengan penuh kesabaran;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

“Berguna untuk orang lain”

(IRS, 2009)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ilham Robbynoor Sulistiyono

NIM : 152210101127

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 20 Januari 2020

Yang menyatakan,

Ilham Robbynoor Sulistiyono

NIM 152210101036

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SKRINING FITOKIMIA
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine
americana* (Aubl.) Merr.) ASAL KOTA WARINGIN BARAT
KALIMANTAN TENGAH TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* DAN *Escherichia coli***

Oleh:

Ilham Robbinoor Sulistyono

NIM 152210101036

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt.
Dosen Pembimbing Anggota : Endah Puspitasari S. Farm., M. Sc., Apt.

PENGESAHAN

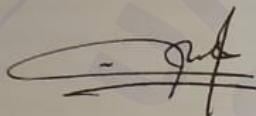
Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” karya Ilham Robbynoor Sulistiyono telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 21 Januari 2020

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

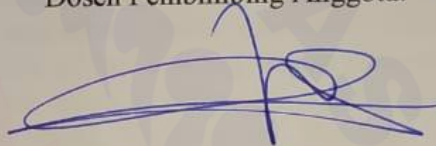
Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama.



Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,M.Farm., Apt.
NIP. 198407122008122002

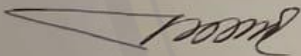
Dosen Pembimbing Anggota.



Endah Puspitasari, S. Farm., M.Sc., Apt
NIP. 198107232006042002

Tim Penguji

Dosen penguji 1



Nuri, S.Si.,M. Si., Apt.
NIP. 196904122001121007

Dosen penguji 2



Bawon Triatmoko, S.Farm., MSc., Apt.
NIP. 198201292009121003

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt..
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr. Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ilham Robbynoor Sulistiyono, 152210101036;2020;41 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia yaitu sebanyak 14,9 juta atau (>25%). Infeksi nosokomial adalah penyakit yang didapatkan pasien pada saat perawatan di rumah sakit. Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran kemih, diarea, dan sepsis meningitis. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit di permukaan kulit dan ditemukan pada penyakit, ispa, dan infeksi saluran kemih. Secara umum penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diterapi salah satunya menggunakan antibiotik. Penggunaan senyawa antibiotik yang tidak terkontrol akan menjadi masalah baru yaitu adanya resistensi yang semakin mengkhawatirkan karena muncul beberapa bakteri yang kebal terhadap antibiotik. Eksplorasi pengobatan infeksi salah satunya adalah pemanfaatan tanaman sebagai agen antibakteri. Salah satu bahan alam yang mempunyai potensi sebagai agen antibakteri adalah bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.). Tumbuhan ini mudah ditemukan pada wilayah pemukiman masyarakat suku dayak di pulau Kalimantan. Bawang dayak dimanfaatkan hanya pada bagian umbinya, sedangkan bagian daun menjadi limbah. Berdasarkan skrining metabolit sekunder ekstrak etanol daun bawang dayak diduga memiliki potensi antibakteri.

Dalam penelitian ini dilakukan pembuktian ilmiah adanya aktivitas antibakteri dan skrining fitokimia ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun bawang dayak. kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak. menggunakan metode difusi cakram dengan gentamisin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Penggunaan metode difusi cakram ditujukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan melihat adanya daya hambat di sekitar cakram. Hasil skrining fitokimia daun bawang dayak yaitu mengandung golongan senyawa metabolit sekunder pada alkaloid, polifenol, tanin, dan terpenoid. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1, 5, 10, 20, dan 40% (b/v), sebesar $6,4 \pm 0,32$; $7,04 \pm 0,13$; $7,62 \pm 0,41$; $8,47 \pm 0,15$; dan $9,26 \pm 0,14$ mm. Berdasar pengujian One Way ANOVA dan LSD diperoleh signifikansi $P < 0,05$, sehingga diketahui adanya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1, 5, 10, 20, dan 40% sebesar $0,00$; $6,53 \pm 0,23$; $7,47 \pm 0,34$; $8,36 \pm 0,23$; dan $9,04 \pm 0,41$ mm. Berdasar pengujian One Way ANOVA dan LSD diperoleh signifikansi $P < 0,05$, sehingga diketahui adanya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi. Hasil uji t test Potensi yang ditimbulkan konsentrasi 1 dan 5 % menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan

tetapi pada konsentrasi 10, 20, dan 40% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kedua bakteri.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak dan pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M Farm. atas kesempatannya yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak Prof. Dr. Bambang Kuswandi., M.Sc.,Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik, yang telah membimbing dan memberikan arahan selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Endah Puspitasari S. Farm., M. Sc., Apt. selaku dosen pembimbing anggota yang penuh kesabaran membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini;
4. Bapak Nuri, S. Si., Apt., M. Si. selaku dosen penguji I dan Bawon Triatmoko., S. Farm., M. Sc., Apt. selaku dosen penguji II, terima kasih atas saran dan kritik yang telah diberikan demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Segenap dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Pada teksini laboratorium, Bu Widi dan Mbak Parka yang telah banyak membantu selama proses penelitian;
7. Ayahanda Dr. Ir. Luluk Sulistiyono., Msi., Ibunda Guntari., S.Sos., kakak Adincha Ayuvisda Sulistiyono., S.A., M. E., kakak Azis Kunaifi S. E., dan

Adik Ircham Maulana Sulistiyono yang telah memberikan dorongan materil, moril, doa dan kasih sayang yang senantiasa mengiringi setiap langkah penulis

8. Keluarga besar penulis di Jember, terima kasih atas dukungan, motivasi dan doa yang selalu mengiringi penulis untuk mencapai pendidikan yang lebih tinggi.
9. Guru-guru penulis sejak taman Kanak-kanak (TK) hingga Sekolah Menengah Atas (SMA), dosen, laboran dan segenap civitas akademika yang telah memberikan ilmu dan mendidik penulis dengan penuh kesabaran;
10. Teman-teman farmasi angkatan 2015 “Libitum” yang selalu memberikan semangat;
11. Teman-teman seperjuangan skripsi Bawang Dayak (Alwi Robiyanto dan Zidni Hafizha) atas kerja sama dan bantuannya hingga skripsi ini berakhir;
12. Teman karib (Iwan (komting), Gayuh, Himawan, Septi Or, Rini, Beryl, Juju, Tyas, Wayan, Icha, Reskia, Mrs X) yang telah memberikan dorongan motivasi dengan penuh kesabaran;
13. Teman kosan (Yanuar, fikri, Dio , Abi, Mbah) yang telah memberikan keceriaan kepada penulis;
14. Seluruh keluarga besar Bem Farmasi, Bem Unej, anak baik2 yang telah memberikan pengalaman dan menjadi keluarga selama penulis berada di Jember;
15. Seluruh keluarga besar Farmasi A, Sing Penting Yaqin, dan Arek Jombang yang telah membantu saya untuk menyelesaikan skripsi.

Penulis juga menerima segala saran dan kritik yang membangun dari semua pihak guna kesempurnaan skripsi ini. Selain itu, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat untuk semuanya..

Jember, 20 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
HALAMAN RINGKASAN	viii
PRAKTA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR TABEL	xvi
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 Umum Bawang Dayak	5
2.1.1 Klasifikasi Bawang Dayak.....	5
2.1.2 Habitat dan Morfologi	5
2.1.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan Daun Bawang Dayak.....	6
2.1.4 Penelitian Pendahuluan Bawang Dayak	7
2.2 Tinjauan Umum Infeksi.....	7
2.3 Tinjauan Bakteri	8
2.3.1 <i>Escherichia coli</i>	8
2.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri	10
2.5 Tinjauan Umum Skrining Fitokimia	11
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Jenis Penelitian.....	13

3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.3	Rancangan Penelitian	13
3.4	Alat dan Bahan Uji	14
	3.4.1 Alat Percobaan	14
	3.4.2 Bahan Percobaan	14
3.5	Variabel Penelitian	14
	3.5.1 Variabel Terikat	14
	3.5.2 Variabel Bebas	14
	3.5.3 Variabel Terkendali	14
3.6	Definisi Operasional	15
3.7	Prosedur Penelitian	15
	3.7.1 Pengumpulan Sampel	15
	3.7.2 Determinasi Tanaman	15
	3.7.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Bawang Dayak	15
	3.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak	15
	3.7.5 Sterilisasi Alat dan Bahan	16
	3.7.6 Pembuatan Larutan Uji dan Media	16
3.8	Uji Aktivitas Antibakteri	17
	3.8.1 Pembuatan Biakan Murni	17
	3.8.2 Peremajaan Bakteri Uji	17
	3.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	17
	3.8.4 Pembuatan Kontrol negatif	18
	3.8.5 Penyiapan Kontrol Positif	18
3.9	Penentuan Aktivitas Antibakteri	18
3.10	Skrining Fitokimia	19
3.11	Analisis Data	23
3.12	Skema Kerja	24
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	25
	4.1 Determinasi Tanaman dan Ekstraksi	25
	4.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri	25
	4.3 Skrining Fitokimia	28
BAB 5.	PENUTUP	31

5.1	Kesimpulan	31
5.2	Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA		32
LAMPIRAN.....		37



DAFTAR GAMBAR

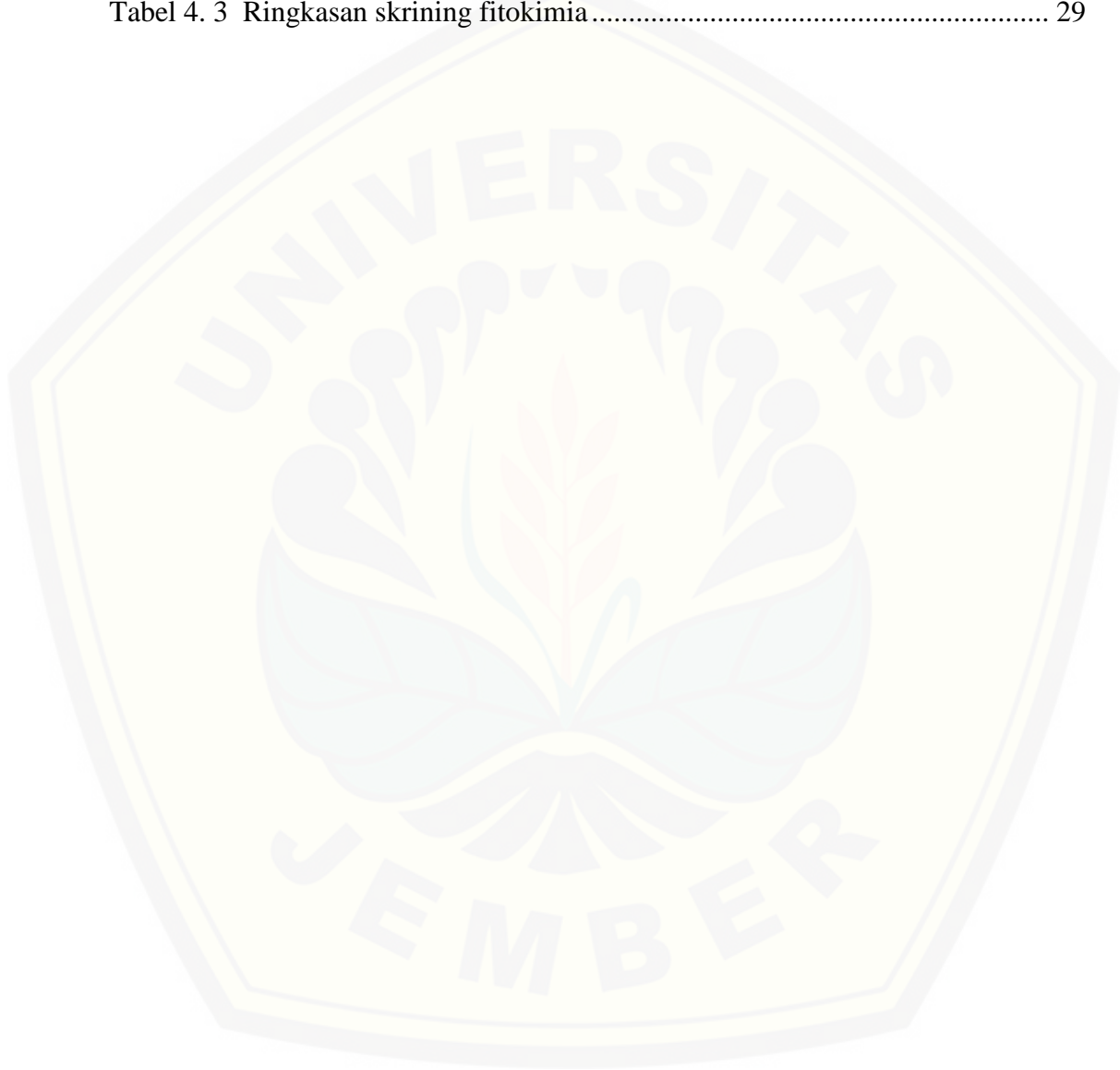
Gambar 2. 1	Daun Bawang Dayak.....	6
Gambar 2. 2	Bakteri <i>E. coli</i>	9
Gambar 2. 3	Bakteri <i>S. aureus</i>	10
Gambar 3. 1	Penentuan Aktivitas Antibakteri	18
Gambar 3. 2	Desain Pengujian Antibakteri pada Cawan Petri	19
Gambar 3. 3	Skema kerja penelitian	24
Gambar 4. 1	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	26
Gambar 4. 2	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap bakteri <i>E. coli</i>	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Determinasi Tanaman	37
Lampiran 2. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak.....	38
Lampiran 3. Perhitungan Konsentrasi Uji Ekstrak	39
Lampiran 4. Hasil Pengukuran Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	40
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	43
Lampiran 6. Hasil Slrining Fitokimia	46
Lampiran 7. Hasil Pengujian <i>t test</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> dalam satu konsentrasi yang sama.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil rendemen ekstrak etanol bawang dayak	25
Tabel 4. 2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	27
Tabel 4. 3 Ringkasan skrining fitokimia	29



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit menular menjadi masalah cukup penting dalam bidang kesehatan hampir di seluruh negara berkembang seperti Indonesia (Dharmayanti dan Tjandrarini, 2017). Salah satu jenis penyakit yang paling banyak dialami oleh masyarakat Indonesia adalah penyakit infeksi (Radji, 2011). Penyakit tersebut dapat berkembang sangat pesat karena penyebaran penyakit infeksi terjadi secara langsung atau tidak langsung dari satu orang ke orang lain dengan cepat. Agen penyebab penyakit infeksi adalah mikroorganisme patogen seperti jamur, bakteri, virus atau parasit (WHO, 2016).

Penyakit infeksi merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia yaitu sebanyak 14,9 juta atau (>25%) (Morens dkk., 2004). Menurut Djaja (2003), dalam wawancara ulang tahun 2013 yang dilakukan Survei Kesehatan Rumah Tangga mendapatkan 784 kasus kematian, 22,9% diantaranya disebabkan oleh penyakit infeksi. Penyakit infeksi yang didapatkan pasien pada saat menerima perawatan di rumah sakit disebut infeksi nosokomial, sehingga infeksi nosokomial meningkatkan angka kematian pasien yang dirawat di rumah sakit. Isolat bakteri yang didapatkan pada pasien infeksi nosokomial sebanyak (94,4%) bakteri gram negatif dan bakteri gram positif (5,6%). Bakteri *Escherichia coli* menjadi penyebab kematian dengan persentase (12,1%), sedangkan *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab kematian dengan persentase (33,3%). Data tersebut didapatkan dari jumlah isolat kuman yang didapatkan dan angka kematian menurut jenis kuman penyebab di rumah sakit khusus penyakit menular Jakarta pada tahun 1982-1983 (Janas dkk., 1992). Menurut Sinaga (2014), udara di ruangan UGD RSUD Abepura menunjukkan adanya bakteri *S. aureus* (11%) dan *E. coli* (12%) yang dapat menimbulkan infeksi nosokomial. Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran kemih, diarea, dan sepsis meningitis. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit di permukaan kulit dan ditemukan pada penyakit kulit, ispa, dan infeksi saluran kemih (Guglielmo dkk., 2013).

Secara umum penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri mempunyai terapi salah satunya menggunakan antibiotik. Penggunaan senyawa antibiotik menjadi masalah baru yaitu adanya resistensi yang semakin mengkhawatirkan karena muncul beberapa bakteri yang kebal terhadap antibiotik (Brooks dkk., 2013). Saat ini resistensi antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* muncul di mikroflora orang Indonesia, sehingga perlu alternatif untuk eksplorasi penanganan resistensi antimikroba di Indonesia (Lestari dkk., 2008). Salah satu alternatifnya adalah pemanfaatan tanaman sebagai antibakteri (Lestari dkk., 2015). Menurut Wagner (2009), tumbuhan mempunyai senyawa aktif yang bermanfaat sebagai potensi agen antibakteri baru. Obat herbal (berasal dari alam) mempunyai efek samping relatif kecil apabila digunakan secara tepat, yang meliputi kebenaran bahan, pemahaman dari informasi, ketepatan dosis, dan ketepatan cara penggunaan (Sari, 2006). Masyarakat mempercayai bahwa bahan alam sebagai pengobatan memiliki efek samping yang relatif kecil dan biaya relatif lebih dapat dijangkau daripada obat sintetis dan mudah di cari (Ghosh dkk., 2008).

Salah satu bahan alam yang mempunyai potensi sebagai agen antibakteri adalah bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.). Tumbuhan ini mudah ditemukan pada wilayah pemukiman masyarakat suku dayak di pulau Kalimantan (Takoy dkk., 2013). Bawang dayak dimanfaatkan hanya pada bagian umbinya, sedangkan bagian daun menjadi limbah (Kumalasari dkk., 2018). Umbi bawang dayak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* konsentrasi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut adalah 12% (Ali dkk., 2016). Pada penelitian Andiriyani (2016) dinyatakan bahwa daun bawang dayak mempengaruhi kadar MDA tikus wistar setelah dipapar asap rokok dan daun bawang dayak yang diambil di Pontianak Provinsi Kalimantan Barat mempunyai senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, triterpenoid, dan steroid. Ekstrak daun bawang dayak dengan pelarut 70% mengandung senyawa flavonoid sebesar 34% (Kumalasari dkk., 2018). Sejauh ini belum ada penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun bawang dayak dan skrining fitokimia pada daerah pengambilan bahan di Kotawaringin Barat Provinsi Kalimantan Tengah.

Berdasarkan uraian di atas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan skrining fitokimia daun bawang dayak terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian pada penelitian ini dilakukan dengan cara *in vitro* dan menggunakan metode uji difusi cakram sebagai dasar referensi pengembangan obat herbal sebagai antibakteri. Metode ini mempunyai tujuan untuk mengetahui diameter zona hambat, sehingga dapat mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri ekstrak bawang dayak dalam menghambat pertumbuhan mikroba (Balouiri dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?
2. Apa golongan senyawa metabolit sekunder dalam daun bawang dayak menggunakan metode skrining fitokimia?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder daun bawang dayak pada tempat pengambilan sampel di Kabupaten Kotawaringin Barat Provinsi Kalimantan Tengah.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain :

a. Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak.

b. Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan sumbangan pengetahuan bagi masyarakat terutama tentang pemanfaatan limbah daun bawang dayak agar bernilai ekonomis.

c. Bagi Universitas Jember

Penelitian ini diharapkan dapat menambah bahan referensi bagi mahasiswa (khususnya mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember) dalam pengembangan obat baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Bawang Dayak

2.1.1 Klasifikasi Bawang Dayak

Klasifikasi tumbuhan bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) menurut (Kementerian Kesehatan RI, 2001) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Sub Devisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: <i>Eleutherine</i>
Spesies	: <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.
Sinonim	: <i>Eleutherine bulbosa</i> , <i>Eleutherine plicata</i> , <i>Eleutherine palmofilia</i> .

2.1.2 Habitat dan Morfologi

Tanaman bawang dayak tersebar di pulau Kalimantan, Sumatra, dan Jawa. Di berbagai daerah tumbuhan bawang dayak memiliki sebutan yang berbeda contohnya di Pulau Jawa bawang dayak disebut dengan bawang sabrang, sedangkan di Sumatera disebut dengan bawang kapal (Kementerian Kesehatan RI, 2001). Bawang dayak adalah tanaman khas di daerah Kalimantan Tengah dan banyak digunakan oleh suku Dayak. Suku Dayak sudah menggunakan tanaman ini sebagai tanaman obat secara turun-temurun dimulai dari nenek moyang hingga sekarang. Bawang dayak mempunyai kemampuan tumbuh dan beradaptasi dengan baik pada berbagai iklim dan berbagai jenis tanah. Tanaman tersebut dapat diperoleh dan dipanen serta diperbanyak dalam waktu yang cukup singkat, sehingga mudah dikembangkan untuk skala pemanfaatan yang lebih besar untuk skala industri (Galingging, 2009).

Tanaman bawang dayak mempunyai tinggi rata-rata 30-40 cm. daun berwarna hijau jika masih segar dan kuning yang sudah kering dengan berbentuk pita, tunggal, ujung dan pangkal daun runcing, serta mempunyai tepi yang rata. Bunga

bawang dayak berjumlah majemuk, tumbuh di ujung dari batang, panjang atau tinggi dari tangkai sekitar 40 cm, mempunyai bentuk silindris dengan kelopak berisi dua daun kelopak berwarna hijau kekuningan. Mahkota terdiri dari empat daun mahkota yang panjangnya kurang lebih 5 cm berwarna putih, terdiri dari empat benang sari dengan kepala sari berwarna kuning, putik berbentuk seperti jarum dengan panjang kurang lebih 4 mm, keseluruhan dari bunga bawang dayak berwarna putih kekuningan. Akar berbentuk serabut dan berwarna coklat muda (Kementerian Kesehatan RI, 2001). Berikut ini gambar bawang dayak beserta daunnya:



Gambar 2. 1 Daun Bawang Dayak (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

2.1.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan Daun Bawang Dayak

Bawang dayak memiliki metabolit sekunder yaitu polifenol, flavonoid, kuinon, alkaloid, saponin, steroid (Puspawati dkk., 2013). Kandungan senyawa bioaktif dalam umbi tanaman (*Eleutherine bulbosa* (L.) Merr.) yaitu senyawa naphthalene salah satu turunan dari golongan fenol (Bone dkk., 2019). Menurut Sa'adah (2015), golongan senyawa kimia sekunder umbi bawang dayak dalam pelarut etanol adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroida. Sedangkan golongan senyawa dalam daun bawang dayak dengan pelarut etanol 70% terkandung seperti alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, triterpenoid dan steroid (Andiriyani dkk., 2016).

Umbi bawang dayak mempunyai khasiat sebagai penyembuh kanker usus, sakit perut setelah melahirkan, diabetes melitus, hipertensi, penurunan kolesterol, kanker payudara, dan obat bisul (Galingging, 2009). Takoy (2013) melakukan penelitian etnofarmasi pada suku Dayak Seberuang bawang dayak digunakan dalam pengobatan alergi kulit dengan cara direbus kemudian air rebusan tersebut diminum.

2.1.4 Penelitian Pendahuluan Bawang Dayak

Umbi bawang dayak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia* spp, *Streptococcus* spp (Ifesan dkk., 2010). Ekstrak etanol umbi bawang dayak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan konsentrasi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah 12% (Ali dkk., 2016). Ekstrak daun bawang dayak mampu menurunkan kadar Melondialdehyde pada tikus wistar jantan dengan dosis paling efektif 90mg/kg BB (Andiriyani dkk., 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Kumalasari (2018) ekstrak etanol 70% daun bawang dayak yang diuji secara kuantitatif mengandung kadar flavonoid total sebanyak 34,08% (Kumalasari dkk., 2018). Berdasarkan penelitian sebelumnya belum ada penelitian terkait antibakteri daun bawang dayak tempat asal Kotawaringin Barat Provinsi Kalimantan Tengah.

2.2 Tinjauan Umum Infeksi

Agen infeksius merupakan penyakit yang menyebabkan penyakit infeksi. Agen ini dapat menularkan agen toksik ke dalam tubuh melalui vektor seperti orang terinfeksi, binatang atau reservoir yang dapat menularkan secara langsung atau tidak langsung (Kramer dkk., 2010). Agen yang menyebabkan infeksi contohnya seperti bakteri, fungi, parasit, dan virus (WHO, 2018). Tanda serta gejala infeksi bervariasi seperti demam, nyeri, berat badan menurun, dan menggigil. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan virus dapat memberi gejala yang sama tetapi infeksi

yang diakibatkan oleh virus tidak bisa diterapi dengan antibiotik (National Information Program on Antibiotic, 2018).

Kramer (2010), menyebutkan bahwa infeksi terjadi melalui beberapa proses yaitu: paparan, penyakit, dan transmisi. Tahapan–tahapan patofisiologis yang menjadikan penyakit infeksi adalah agen infeksius yang keluar dari reservoir dengan melewati jalur tertentu selanjutnya masuk ke dalam host yang sudah rentan. Agen penyebab infeksi keluar dari host dan kemudian bertransfer ke host yang lain. Agen infeksi dapat menjalar kebagian yang lain seperti kulit, saluran pernapasan, otak manusia, saluran kemih, dan sebagainya.

Infeksi nosokomial (yang didapatkan di rumah sakit) merupakan salah satu masalah utama di rumah sakit. Terdapat 1317 kasus yang terjadi di RS Cipto Mangunkusumo antara tahun 1999-2002 kasus paling umum terkait dengan penggunaan kateter, bekas luka bedah, infeksi saluran kemih, dan saluran pernafasan. ISK merupakan penyebab 31% dalam komplikasi infeksi nosokomial disusul oleh pneumonia sebanyak 27% dan infeksi aliran darah primer 19% (Widodo dan Astrawinata, 2004). Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* merupakan salah dua dari penyebab infeksi nosokomial (Sinaga dkk., 2014).

2.3 Tinjauan Bakteri

2.3.1 *Escherichia coli*

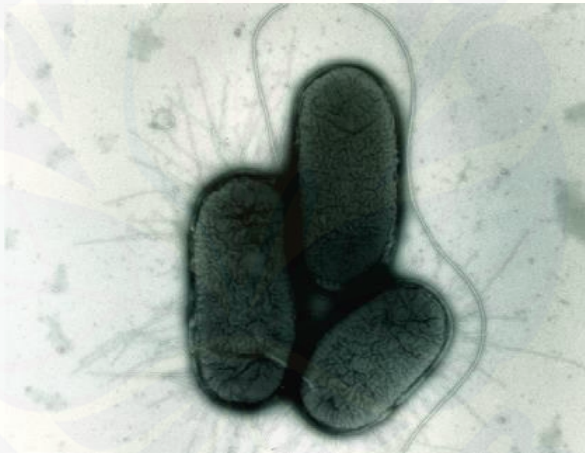
klasifikasi bakteri *E. coli* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Negibacteria
Filum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobactria
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

(ITIS, 2012)

Escherichia coli adalah bakteri golongan fakultatif anaerobik gram negatif, morfologinya berbentuk basil, dan salah satu famili dari Enterobacteriaceae. *E. coli* merupakan flora normal dalam sistem pencernaan manusia yang dominan namun *E. coli* berjumlah sangat kecil dari keseluruhan kandungan bakteri di saluran pencernaan (Todar, 2008).

Pada umumnya koloni bakteri *E. coli* mempunyai bentuk bulat dan cembung dengan keseluruhan berbentuk seperti batang. Koloni bakteri mempunyai tepi halus yang terlihat jelas dan bersifat fakultatif anaerob. Ukuran lebar *E. coli* rata-rata 1,1-1,5 μm dan panjangnya berukuran 2,0-6,0 μm . Bakteri tersebut termasuk dalam bakteri golongan gram negatif (Willey dkk., 2009). *E. coli* mempunyai kemampuan untuk melekat pada sel epitel saluran urin oleh fimbria dari bakteri tersebut dan akan menghasilkan kolonisasi di saluran kemih (Wells dkk., 2015). Berikut ini gambar bakteri *E. coli*:



Gambar 2. 2 Bakteri *E. coli* (Sumber: Greenwood dan Slack, 2012)

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

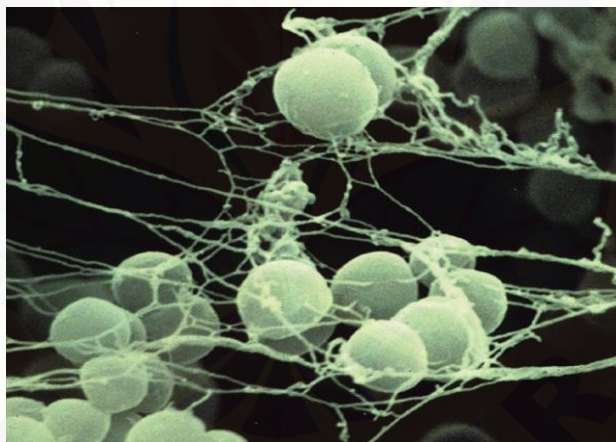
Klasifikasi bakteri *S. aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Posibacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>

Spesies : *Staphylococcus aureus*
(ITIS, 2012)

Staphylococcus aureus adalah golongan bakteri gram positif yang berbentuk kokus dan menyerupai anggur. Bakteri *S. aureus* merupakan termasuk dalam famili Staphylococcaceae yang tumbuh dengan respirasi aerobik (fakultatif anaerob) atau menghasilkan asam laktat. *S. aureus* dapat tumbuh pada kisaran suhu 15°C hingga 45° C (Todar, 2008).

Staphylococcus enterotoksin merupakan toksin yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus*. Menurut Baba-moussa (2008), Staphylococcus enterotoksin dihasilkan dari isolat penyakit ISK yang sampel tersebut diambil di Strasbourg University Hospital (Benin) sebanyak 63% sedangkan isolat yang diambil dari Cotonou University Hospital (Prancis) hanya 15% yang memproduksi *Staphylococcus enterotoksin*. Kedua isolat tersebut diambil dari pasien ISK yang menggunakan kateter. Berikut ini gambar bakteri *S. aureus*:



Gambar 2. 3 Bakteri *S. aureus* (Greenwood dan Slack, 2012)

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri mempunyai tujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri. Terdapat beberapa metode pengujian antibakteri yang dapat digunakan yaitu (Balouiri dkk., 2016) :

1. Metode Dilusi

Metode dilusi yaitu metode yang dilakukan dengan cara pencampuran antara senyawa uji dan agar sebagai media. Pencampuran antara keduanya pada saat agar masih dalam keadaan encer dan begitu pula dengan senyawa uji dan bakteri uji. Antar lempeng agar mempunyai konsentrasi senyawa uji yang berbeda. Selanjutnya suspensi bakteri diinokulasi selama 24 jam pada suhu antara 36°C sampai 37°C. Perbandingan kekeruhan antar konsentrasi uji menunjukkan adanya kekuatan senyawa dalam aktivitas antibakteri.

2. Metode Bioautografi

Metode Bioautografi bisa menggunakan bioautografi kontak atau bioautografi langsung. Bioautografi kontak mempunyai cara seperti prinsip kromatografi lapis tipis (KLT) dimana senyawa akan berdifusi pada lempeng KLT. Bioautografi langsung dapat dilakukan dengan cara mengamati zona hambat secara langsung yang sebelumnya telah disemprot suspensi bakteri pada lempeng KLT.

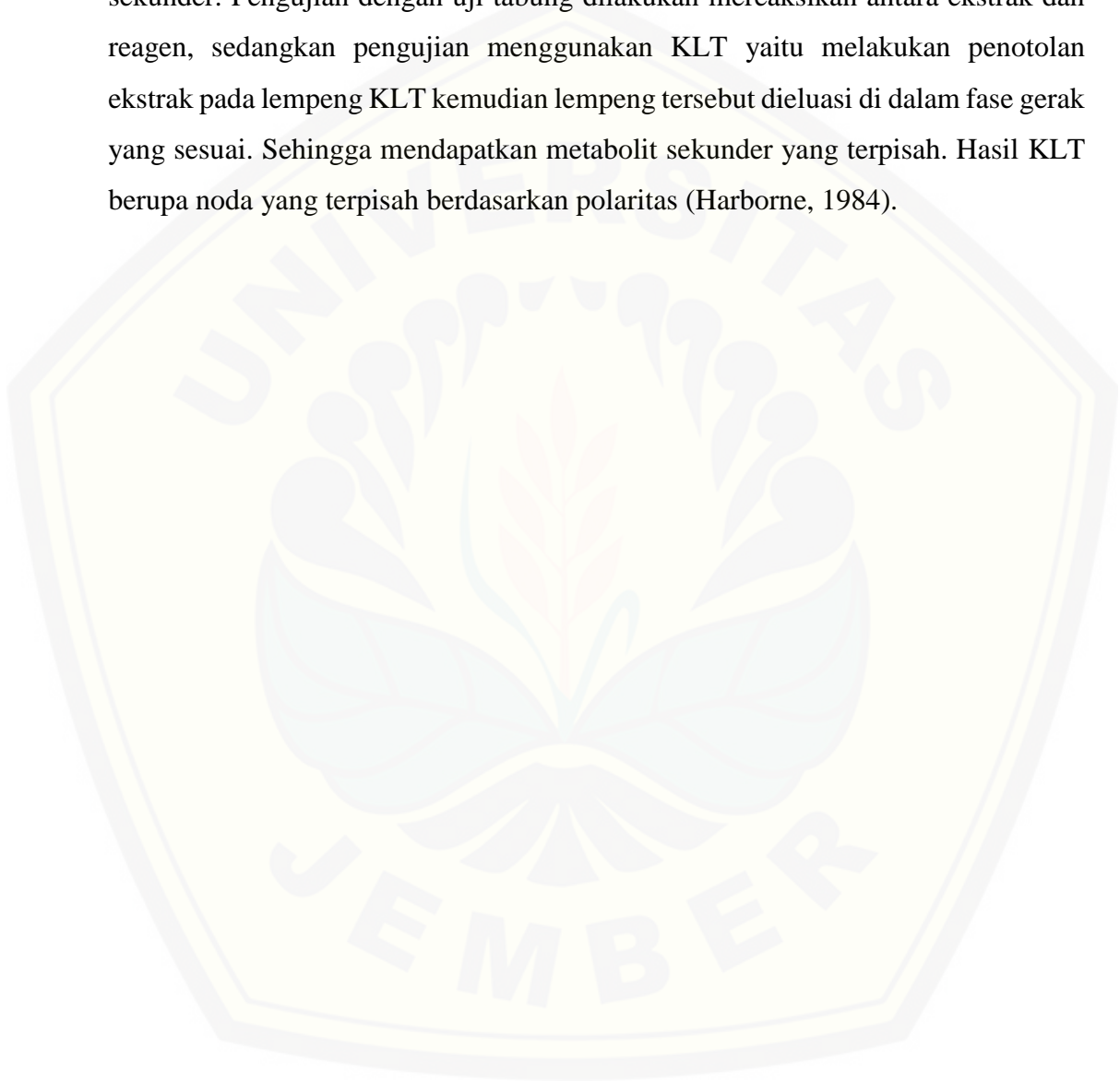
3. Metode Difusi

Metode difusi memiliki 2 macam metode, yaitu cakram dan sumuran. Kedua metode ini memiliki prinsip yang sama yaitu senyawa uji akan berdifusi ke agar yang berada di sekitarnya. Metode difusi cakram dilakukan dengan cara menaruh kertas cakram yang sudah terisi senyawa uji di permukaan media. Sedangkan pada metode difusi sumuran, media agar dilubangi terlebih dahulu lalu senyawa uji di masukan ke dalam sumuran tersebut. Inkubasi media agar yang mengandung bakteri dan senyawa uji dengan waktu selama 18 sampai 24 jam pada suhu 36°C sampai 37°C. Aktivitas antibakteri dengan adanya zona hambat yang timbul pada media agar di sekeliling senyawa uji. Lebarnya diameter zona hambat pada media agar menunjukkan kemampuan senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau juga bisa disebut kekuatan antibakteri.

2.5 Tinjauan Umum Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui identitas golongan senyawa metabolit sekunder dan berguna untuk mengetahui

adanya senyawa aktif biologis yang tersebar di berbagai jaringan tanaman dengan cepat, sederhana, dan selektif (Sari dkk., 2014). Melakukan skrining fitokimia dapat menggunakan KLT (kromatografi lapis tipis) atau dapat menggunakan *tube test* (reaksi pengendapan dan warna) untuk identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder. Pengujian dengan uji tabung dilakukan mereaksikan antara ekstrak dan reagen, sedangkan pengujian menggunakan KLT yaitu melakukan penotolan ekstrak pada lempeng KLT kemudian lempeng tersebut dieluasi di dalam fase gerak yang sesuai. Sehingga mendapatkan metabolit sekunder yang terpisah. Hasil KLT berupa noda yang terpisah berdasarkan polaritas (Harborne, 1984).



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu *true experimental laboratories* yang mempunyai untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan kandungan golongan senyawa ekstrak etanol 96% daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi dan Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember dimulai sejak bulan September 2019 sampai Januari 2020.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah *post test only control group design*. Tahap awal penelitian ini adalah pengumpulan sampel yaitu daun bawang dayak. Tahap berikutnya pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak cair dengan pelarut etanol 96% yang dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental. Skrining fitokimia ekstrak daun bawang dayak dilakukan dengan metode Kromatografi Lempeng Tipis (KLT) dan *tube test*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Penelitian terbagi dua kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Diameter zona hambat akan dihasilkan pada metode difusi cakram yang diukur pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Data yang diperoleh dari pengujian antibakteri dianalisis untuk mendapatkan kesimpulan.

3.4 Alat dan Bahan Uji

3.4.1 Alat Percobaan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, vial, spatula logam, tabung reaksi (Iwaki), jarum ose, *plastic wrap*, mikropipet (Socorex), oven, *rotary evaporator* (Heidolph), autoklaf (ALP), hot plate (Thermo Cimarex), *Laminar air flow* (Airtech), blue tip, yellow tip.

3.4.2 Bahan Percobaan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) diambil dari Kelurahan Madurejo, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Provinsi Kalimantan Tengah. Kabupaten Kotawaringin Barat yang sudah dideterminasi di UPT Laboratorium Materia Medica Batu dengan nomor surat: 074/463A/102.7/2019, Etanol 96% (teknis), akudes, Dimetil sulfoksida (DMSO), *Nutrient Agar*, *Muller Hinton Agar*, *blank disk* (Oxoid), disk gentamisin 10 µg, BaCl₂ 1%, H₂SO₄ 1%, biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, dan *Escherichia coli* ATCC 25922 didapat dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat terhadap *E. coli* dan *S. aureus* yang menunjukkan aktivitas bakteri dari ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) dan skrining fitokimianya.

3.5.2 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi uji ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.).

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara ekstraksi, cara skrining fitokimia, media pertumbuhan (*Nutrient agar*) dan metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan (*Muller Hinton Agar*), suhu inkubasi, lama inkubasi, dan cara menentukan aktivitas antibakteri.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini daun bawang dayak tumbuh secara liar dengan kondisi musim kemarau. Daun yang diambil dalam kondisi masih segar atau yang berwarna hijau.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pengumpulan Sampel

Sampel bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) diambil keseluruhan bagian tanaman dimulai dari umbi, daun, dan bunga. Selanjutnya dicuci bersih dan dipilah untuk mendapatkan daunnya. kemudian diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung.

3.7.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medica Batu Kota Batu Provinsi Jawa Timur.

3.7.3 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Bawang Dayak

Daun bawang dayak di cuci sampai bersih dengan menggunakan air yang mengalir, kemudian ditiriskan terlebih dahulu dan diangin-anginkan selama 3 hari dilanjutkan pengeringan di dalam oven dengan suhu 50°C sampai kering. Daun yang sudah dinyatakan kering ditandai dengan mudah untuk dipatahkan. Sortasi kering dilakukan dengan tujuan sebagai memisahkan kotoran dan komponen selain daun bawang dayak. Daun yang sudah kering diserbuk dengan cara diblender untuk menghindari berkurangnya serbuk yang terbang dan hilang pada saat penggilingan.

3.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak

Simplisia daun bawang dayak diekstraksi menggunakan metode remaserasi selama tiga hari dengan merendam 100 gram simplisia kering dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 antara simplisia dan pelarut. Simplisia direndam selama tiga hari dan diaduk beberapa kali dalam sehari. Maserat dipisahkan dan pelarutnya diganti. Kemudian maserat disaring menggunakan corong buchner dan kertas saring. Setelah penyaringan, maserat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental ditimbang

kemudian dihitung persen rendemen yang didapat dan disimpan pada lemari pendingin untuk pengujian selanjutnya.

3.7.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

Keseluruhan alat digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan kemudian disterilkan. Semua alat dibungkus dengan kertas kayu, lalu disterilisasi memakai autoklaf di suhu 121°C selama 15 menit. Bahan seperti NA, MHA, NaCl fisiologis disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disumbat menggunakan kapas yang diselimuti kassa. Akuades dimasukkan ke botol kaca dan ditutup hingga rapat. (Semua bahan) setelah disterilisasi disimpan di dalam lemari pendingin. Sedangkan spreader, pinset, dan jarum ose disterilisasi di atas lampu spiritus sampai membara.

3.7.6 Pembuatan Larutan Uji dan Media

a. NA (Nutrient Agar)

Komposisi NA terdiri dari *pepton from meat* (5 g/L), *meat extract* (3 g/L) dan *agar* (12 g/L). Cara pembuatan media NA yaitu melarutkan 23 g NA dalam 1 L akuades dan didihkan diatas *hotplate* dan dihomogenkan hingga merata. Selanjutnya dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. NA dalam keadaan panas dimiringkan sekitar 45° bertujuan untuk membuat agar miring lalu ditunggu sampai dingin atau memadat kemudian dimasukkan ke lemari pendingin (Maradona, 2013).

b. MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Komposisi MHA terdiri dari *beef infusion 300 g*, *casamino acid* 17,5 g, dan *agar* 17 g. Pembuatan media MHA yaitu melarutkan 38 g MHA dalam 1 L akudes dan didihkan di atas *hotplate*, kemudian sebanyak 15 ml dituangkan ke dalam tabung reaksi menggunakan gelas ukur dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama kurun waktu 15 menit (Maradona, 2013).

1) Pembuatan NaCl Fisiologis 0,9%

Sebanyak 9 g NaCl ditimbang dan dilarutkan kedalam akuades steril 1000 ml, lalu dihomogenkan dan tabung reaksi ditutup dengan kapas yang dilapisi dengan kassa. Proses sterilisasi memakai autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

2) Pembuatan Mc Farland 0,5

Pembuatan larutan baku Mc Farland dengan cara pencampuran larutan H₂SO₄ 1% dan BaCl₂ 1%. Campuran larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dan larutan H₂SO₄ 1% sejumlah 9,95 ml dihomogenkan, sehingga didapat larutan baku Mc Farland 0,5 yang sebanding dengan konsentrasi suspensi bakteri 1,5 x 10⁸ CFU/ml.

3) Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol daun bawang dayak dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, 40% dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam DMSO 10%. Ekstrak 40 mg dilarutkan di dalam dan DMSO 10% sebanyak 1 ml (1 bagian DMSO 100% dan akuades steril 9 bagian) lalu dihomogenkan dengan bantuan vortex sampai larut. Pembuatan larutan uji pada konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 20% didapatkan dari pengenceran larutan uji konsentrasi 40% dan dilarutkan di dalam DMSO 10%.

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri

3.8.1 Pembuatan Biakan Murni

Bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* diremajakan pada media NA miring menggunakan jarum ose, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.8.2 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah tumbuh dibiakkan dengan cara pengambilan koloni menggunakan jarum ose di dalam media NA miring dalam kondisi yang aseptis. Waktu inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

3.8.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil koloni di media NA agar miring sebanyak 4 sampai 5 koloni menggunakan jarum ose lalu dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% sebanyak 10 ml kemudian dihomogenkan memakai vortex.

3.8.4 Pembuatan Kontrol negatif

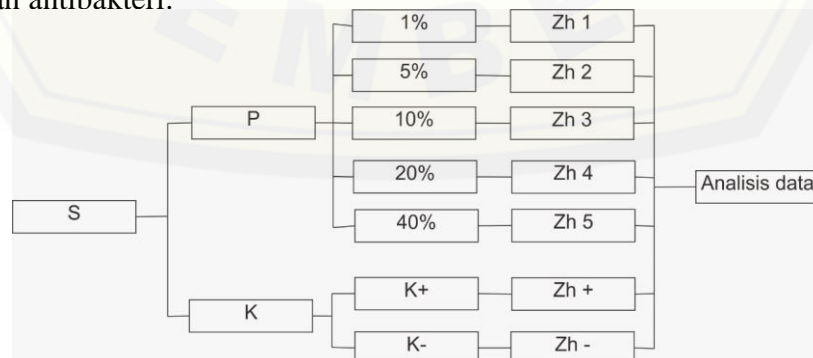
Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan DMSO 10%. Sebanyak 10 bagian DMSO 100% dilarutkan ke dalam 90 bagian akuades (Berahou dkk., 2007).

3.8.5 Penyiapan Kontrol Positif

Cakram gentamisin 10 µg sebagai kontrol positif yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.9 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun bawang dayak dengan metode difusi cakram. Suspensi bakteri diratakan menggunakan *spreader* pada MHA yang sudah dipindah dari tabung reaksi ke cawan petri. Kertas cakram yang sudah berisi larutan uji diletakkan di atas permukaan MHA. Kontrol positif diletakkan di tengah bagian cawan petri dan kontrol negatif diletakkan di bagian pinggir kontrol positif sejajar dengan larutan uji pada cakram. Cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C menggunakan inkubator. Jika ekstrak memiliki aktivitas antibakteri maka akan timbul diameter zona hambat atau akan timbul area bening karena ekstrak berdifusi ke media agar dan menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji. Pengukuran zona bening atau daya hambat dilakukan dengan mengukur diameternya menggunakan jangka sorong. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali pada setiap konsentrasi uji. Berikut skema dalam pengujian antibakteri:

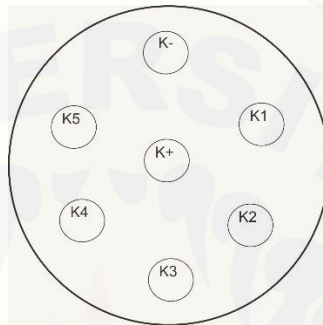


Gambar 3. 1 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Keterangan:

S	: Sampel ekstrak daun bawang dayak
P	: Kelompok perlakuan
K	: Kelompok kontrol
K+	: Kontrol positif
k-	: Kontrol negatif
K 1 – 5	: Konsentrasi larutan uji (1%, 5%, 10%, 20%, 40%,)
Zh 1 – 5	: Hasil zona hambat konsentrasi uji (1%, 5%, 10%, 20%, 40%)
Analisis data	: Hasil analisis data

Berikut gambar rancangan penempatan pengujian antibakteri pada cawan petri:



Gambar 3. 2 Desain Pengujian Antibakteri pada Cawan Petri

Keterangan:

K+	= Kontrol positif
K-	= Kontrol negatif
K 1	= Konsentrasi 1%
K 2	= Konsentrasi 5%
K 3	= Konsentrasi 10%
K 4	= Konsentrasi 20%
K 5	= Konsentrasi 40%

3.10 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini prosedur skrining fitokimia menurut Harborne (1984) sebagai berikut:

1) Identifikasi Golongan Alkaloid

a. Penyiapan Sampel

Ekstrak etanol daun bawang dayak sejumlah 0,3 g ditambahkan 5 ml HCl 2N dicampur dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan di penangas air dalam kurun waktu 2-3 menit sambil diaduk. Penambahan 0,3 g NaCl sambil diaduk sampai homogen dan disaring. Filtrat tersebut ditambah 5 ml

HCl 2N. Larutan sampel dipisahkan menjadi 4 bagian yang sama dan diberi tanda larutan IA, IB, IC, dan ID

b. Reaksi Pengendapan

Larutan IA menjadi blanko, pereaksi Dragendrof dimasukkan ke dalam larutan IB, pereaksi Mayer dimasukkan ke dalam larutan IC, dan pereaksi Wagner dimasukkan ke dalam larutan ID. Jika hasil menunjukkan positif pada pereaksi Dragendrof akan muncul endapan berwarna merah jingga, pada pereaksi Mayer akan muncul endapan yang berwarna putih, dan pada pereaksi Wagner akan muncul endapan yang berwarna coklat.

c. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan sampel ditambah NH_4OH 28% sampai larutan sampel menjadi basa lalu ditambahkan 5 ml kloroform dan disaring. Filtrat diuapkan hingga kering dan kemudian dilarutkan dalam methanol. Fase diam dalam pengujian dengan metode KLT menggunakan keisel gel GF₂₅₄. Etil asetat: metanol: air (9:2:2) merupakan fase geraknya dan penampak noda menggunakan pereaksi Dragendrof jika terdapat warna jingga, maka terdapat golongan senyawa alkaloid di dalam ekstrak.

2) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Saponin, Terpenoid, dan Steroid

a. Uji Buih

Ekstrak etanol daun bawang dayak sebanyak 0,3 gram dilarutkan ke dalam akuades sejumlah 10 ml kemudian dikocok dengan kencang selama 30 detik. Jika Hasil positif maka sampel memiliki senyawa metabolit sekunder golongan saponin dengan buih yang stabil dalam kurun waktu lebih dari 30 menit dan buih tersebut berada 3 cm di atas permukaan cairan.

b. Uji Warna

Ekstrak etanol daun bawang dayak sebanyak 0,3 gram dimasukkan ke dalam 15 ml lalu dihomogenkan dan dibagi menjadi 3 bagian yang sama rata menghasilkan larutan IIA, IIB, dan IIIC. Larutan IIA digunakan pengujian KLT dan dijadikan untuk blanko.

1. Uji Salkowski

1-2 ml H_2SO_4 pekat dimasukkan ke dalam larutan IIB melewati dinding tabung reaksi. Jika timbul cincin berwarna merah maka sampel mengandung steroid tak jenuh.

2. Uji Liberman-Burchard

1 tetes H_2SO_4 pekat dan 3 tetes asam asetat anhidrat dimasukkan ke dalam larutan IIC kemudian dihomogenkan secara perlahan. Jika timbul warna hijau biru maka sampel menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder saponin steroid, jika timbul warna merah ungu maka sampel menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder triterpene steroid dan jika timbul warna kuning maka sampel mengandung senyawa metabolit sekunder saponin jenuh.

c. Identifikasi dengan menggunakan KLT

Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambah HCl 2N sejumlah 5 ml. dididihkan dan ditutup corong yang berisi kapas basah selama kurun waktu 2 jam, sehingga saponin dapat terhidrolisis. Larutan didinginkan dan dinetralkan dengan 20 tetes ammonia. Kemudian diekstraksi menggunakan senyawa n-heksana dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya, larutan diuapkan sampai 0,5 ml lalu larutan ditotolkan pada plat KLT dengan fase diam menggunakan Keisel gel GF₂₅₄ dan fase geraknya menggunakan n-heksana: etil asetat (4:1) dengan penampak noda berupa anisaldehyda asam sulfat dan dipanaskan. Jika terjadi perubahan warna merah ungu maka menunjukkan adanya sapogenin.

Ekstrak diambil sedikit untuk identifikasi terpenoid dan steroid lalu ditetesi etanol dan diaduk sampai larut selanjutnya ditotolkan pada pelat KLT dengan kondisi analisis fase diam berupa Keisel gel GF₂₅₄ fase geraknya menggunakan n-heksana: etil asetat (4:1) dan penampak noda berupa anisaldehyda, asam sulfat dan dipanaskan. Terpenoid atau steroid ditunjukkan terjadi adanya warna merah ungu dan ungu.

3) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Flavonoid

a. Pembuatan sampel

Ekstrak etanol daun bawang dayak sebanyak 0,3 g dikocok dengan n-heksana sebanyak 3 ml hingga tidak berwarna, residu yang didapatkan dilarutkan dalam etanol. Kemudian dibagi menjadi 3 bagian yang sama dan diberi tanda IIIA, IIIB, dan IIIC. Larutan IIIA dijadikan pengujian sebagai blanko.

b. Uji Warna

1. Uji Bate-Smith dan Metcalf

0,5 ml HCl pekat dimasukkan ke dalam larutan sampel IIIB, kemudian dipanaskan di atas penangas air. Jika terjadi perubahan warna secara perlahan menjadi warna merah terang atau ungu maka larutan sampel mengandung leukoantosianin.

2. Uji Wilstater

0,5 ml HCl pekat dan magnesium sebanyak 4 potong dimasukkan ke dalam larutan sampel IIIC, kemudian diamati terjadi perubahan warnanya. Ditambahkan 0,5 ml akuades dan 1 ml butanol untuk mengencerkan larutan sampel lalu diamati setiap lapisan warna yang terjadi. Muncul warna merah jingga maka larutan sampel mengandung flavon, perubahan warna menjadi merah pucat maka larutan sampel mengandung flavonol, dan jika terjadi perubahan warna merah tua menunjukkan bahwa adanya flavonon.

c. Identifikasi dengan menggunakan KLT

Larutan sampel IIIA ditotolkan dalam fase diam Keisel gel GF₂₅₄. Fase geraknya menggunakan butanol: asam asetat: air (4:1:5) dan penampak noda yang berupa uap ammonia. Apabila terdapat noda yang berwarna kuning intensif menunjukkan bahwa adanya senyawa flavonoid.

4) Identifikasi metabolit Sekunder Golongan Polifenol dan Tanin

a. Pembuatan sampel

Sejumlah 0,3 g ekstrak etanol daun bawang dayak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 ml akuades panas dan dihomogenkan serta didiamkan sampai suhu kamar. NaCl sebanyak 3-4

tetes 10% ditambahkan dalam sampel lalu dihomogenkan dan disaring. Filtrat yang didapat dibagi menjadi 3 bagian yang sama rata dan diberi tanda IVA, IVB, dan IVC. Larutan sampel IVA pada uji KLT dan sebagai blanko.

b. Uji Gelatin

5 ml larutan NaCl 10% dan sedikit gelatin dimasukkan ke dalam larutan IVB. Endapan warna putih menunjukkan bahwa larutan sampel mengandung tannin.

c. Uji Ferriklorida

Larutan sampel IVC ditambah beberapa tetes FeCl_3 , jika timbul warna hijau kehitaman maka larutan sampel mengandung tannin. Apabila telah ditambah NaCl dan gelatin dan tidak membentuk endapan, tetapi setelah ditambah dengan larutan FeCl_3 menimbulkan warna hijau biru sampai warna hitam maka larutan sampel mengandung polifenol.

d. Identifikasi dengan menggunakan KLT

Uji KLT menggunakan analisis fase diam Keisel gel GF₂₅₄ dan fase gerak berupa Larutan kloroform: etil asetat (1:9). Penampak noda berupa FeCl_3 . noda hitam akan menunjukkan keberadaan senyawa polifenol pada ekstrak.

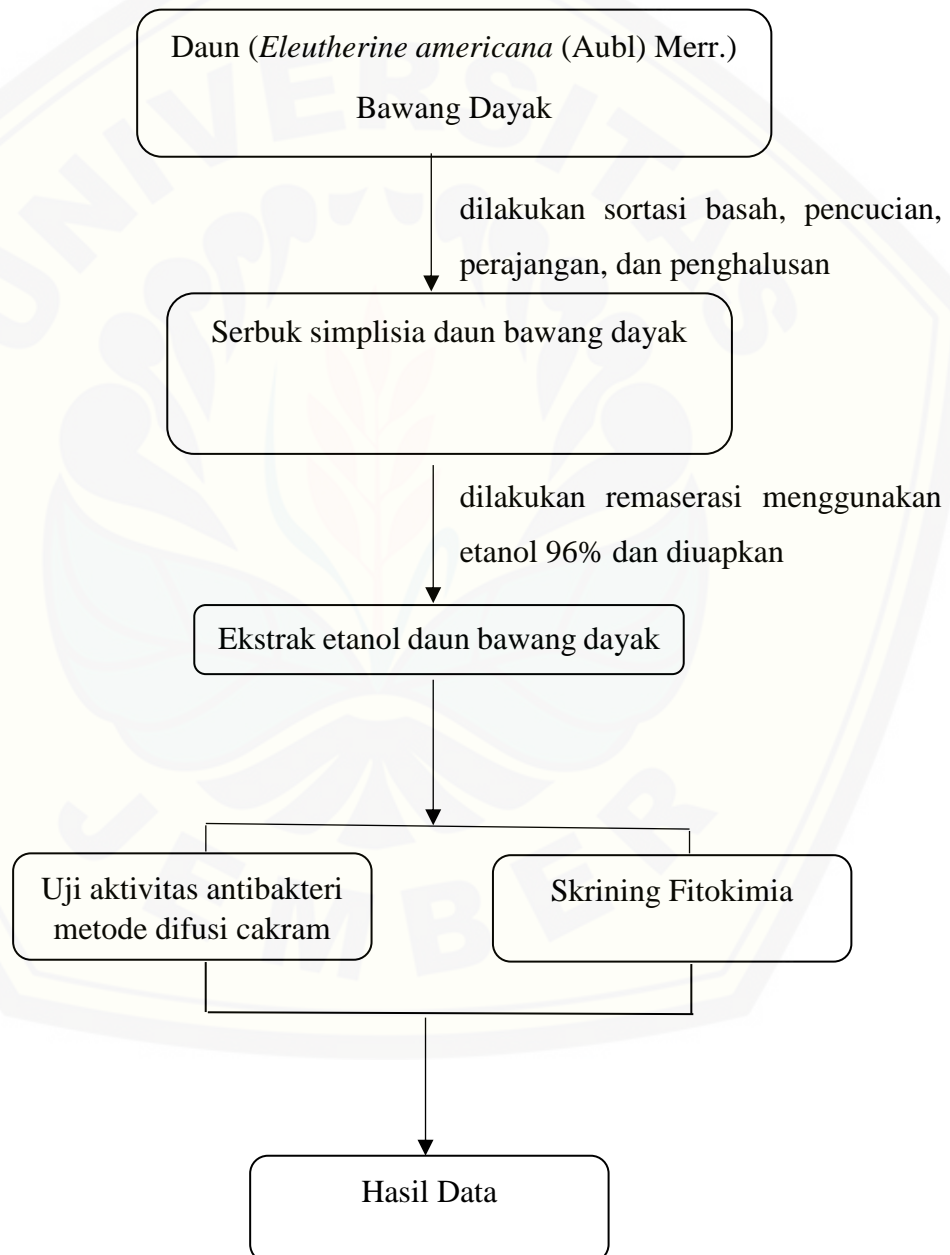
3.11 Analisis Data

Data yang didapat berupa hasil zona hambat kemudian diuji normalitas dan homogenitasnya terlebih dahulu. Apabila data homogen dan terdistribusi secara normal dengan nilai $p > 0,05$, maka analisis akan dilanjutkan memakai uji *One Way ANOVA*. Uji *One Way ANOVA* bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan dengan nilai kepercayaan 95%. Selanjutnya pengujian menggunakan uji *Least Significant Different (LSD)* yang mempunyai tujuan untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok uji pada *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil uji LSD dengan memiliki tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Apabila data tidak homogen dan data tidak terdistribusi secara normal, maka data tersebut diuji statistik non parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis* dengan dilanjutkan menggunakan uji *Man-Whitney* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan setiap kelompok uji (Balouiri dkk., 2016). Dilakukan uji independent sampel *t test*

yang bertujuan untuk membandingkan rata-rata dari dua grup yang tidak berhubungan satu dengan yang lain (Santoso, 2018). Pada penelitian ini membandingkan dua rata-rata zona hambat yang dihasilkan ekstrak etanol daun bawang dayak terhadap kedua bakteri.

3.12 Skema Kerja

Berikut skema kerja pada penelitian ini:



Gambar 3. 3 Skema kerja penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil dan pembahasan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* lebih baik dibanding bakteri *E. coli*. Kemampuan yang ditimbulkan konsentrasi 1 dan 5 % menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan tetapi pada konsentrasi 10, 20, dan 40% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kedua bakteri.
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) menunjukkan hasil positif pada alkaloid, polifenol, tanin, dan terpenoid tetapi hasil negatif saponin, flavonoid, dan steroid.

5.2 Saran

Penelitian ini terdapat adanya keterbatasan waktu dan efisiensi kerja perlu dilanjutkan mengenai:

1. Penetapan kadar golongan senyawa metabolit sekunder pada konsentrasi 1, 5, 10, 20, dan 40%.
2. Pemisahan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) yang berpotensi sebagai agen antibakteri, misalnya melalui fraksinasi.
3. Perlunya mengetahui senyawa bioaktif yang berperan sebagai antibakteri di daun bawang dayak.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, I., R. Dewi, dan A. Ibrahim. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*. (April 2016):20–21.
- Andiriyani, M. M., E. K. Untari, dan S. Wahdaningsih. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehyde Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 1(2):43–50.
- 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.
- Berahou, A., A. Auhmani, N. Fdil, A. Benharref, M. Jana, dan C. A. Gadhi. 2007. Antibacterial Activity of *Quercus ilex bark's* Extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 112(3):426–429.
- Bone, M., Y. Rifai, dan G. Alam. 2019. Karakteristik Senyawa Bioaktif Antimikroba Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.). *Sains Dan Kesehatan*. 2(1):1–18.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology Twenty-Sixth Edition Geo*. New York. McGraw-Hill Education.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement*. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 3.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4):564–582.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Universitas Sebelas Maret.
- Dharmayanti, I. dan D. H. Tjandararini. 2017. Identifikasi Indikator Dalam Indeks Pembangunan Kesehatan Masyarakat (IPKM) Untuk Meningkatkan Nilai Sub-indeks Penyakit Menular. *JKP*. 5(3):249–257.

- G.Wells, B., J. T. Dipiro, T. L. Schwinghammer, dan C. V. Dipiro. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*. Edisi 9. New York. McGraw-Hill Education.
- Galingging, R. Y. 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine americana*) Sebagai Tanaman Obat Multifungsi. <http://kalteng.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/publikasi-mainmenu-47-47/artikel/120-bawang-dayak>
- Ghosh, A., B. K. Das, A. Roy, B. Mandal, dan G. Chandra. 2008. Antibacterial Activity of Some Medicinal Plant Extracts. *Journal of Natural Medicines*. 62(2):259–262.
- Guglielmo, B. J., P. A. Jacobson, dan W. A. Kradjan. 2013. *Koda-Kimble & Young's Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs Tenth Edition*. Edisi 10. New York. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Business.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods*. Edisi 3. New York: Chapman & Hall.
- Ibrahim, M. 2007. *Mikrobiologi: Prinsip Dan Aplikasi*. Surabaya: Unesa University Press.
- Ifesan, B. O. T., D. Ibrahim, dan S. P. Voravuthikunchai. 2010. Antimicrobial Activity of Crude Ethanolic Extract From *Eleutherine americana*. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 8(3-4 PART 2):1233–1236.
- ITIS. 2012. *Escherichia coli* Taxonomi Serial No.: 285. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null [Diakses pada September 29, 2019].
- ITIS. 2012. *Staphylococcus aureus* Taxonomi Serial No.: 369. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null [Diakses pada September 28, 2019].
- Janas, Sutoto, dan P. H. 1992. Infeksi Nosokomial (IN) di Rumah Sakit Khusus Penyakit Menular, Jakarta. *U.S. Naval Medical Research Unit*. 20(2)
- Karlina, C. yudha. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LenteraBio*. 2(1):87–93.

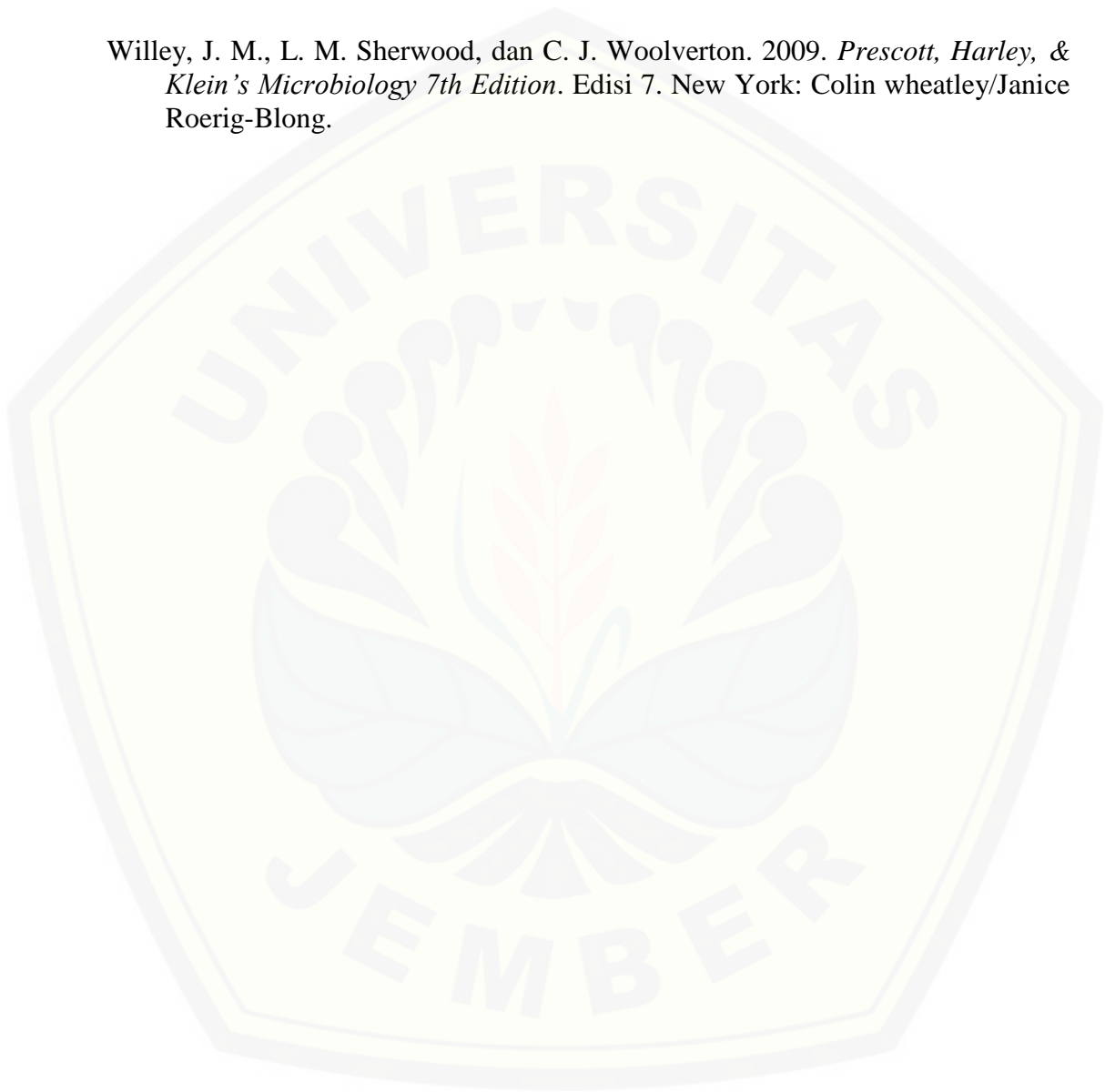
- Karou, D., M. H. Dicko, J. Simpore, dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols from Ethnomedicinal Plants of *Burkina faso*. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):823–828.
- Karou, D., A. Savadogo, A. Canini, S. Yameogo, C. Montesano, J. Simpore, V. Colizzi, dan A. S. Traore. 2006. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 5(2):195–200.
- Katzung, B. G. 2004. *Basic and Clinical Pharmacology*. New York. *Mc Graw Hill Medical*.
- Kementerian Kesehatan RI. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 2*. Edisi 2. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kramer, A., A. Manas, dan M. Kretzschmar. 2010. *Principles of Infectious Disease Epidemiology*. Dalam *Modern Infectious Disease Epidemiology*. Germany: Springer Science+Business Media.
- Kumalasari, E., M. A. Nazir, dan A. M. P. Putra. 2018. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 1(November 2018):18–24.
- Lestari, E. S., J. A. Severin, P. M. G. Filius, K. Kuntaman, D. O. Duerink, U. Hadi, H. Wahjono, dan H. A. Verbrugh. 2008. Antimicrobial Resistance Among Commensal Isolates of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in the Indonesian Population Inside and Outside Hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 27(1):45–51.
- Lestari, R. P., R. T. Tandelilin, dan J. Handajani. 2015. Efektifitas Minyak Atsiri Lengkuas Putih (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang Resisten Multiantibiotik. *IJD*. 12(1):24–29.
- Maradona, D. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibhetinus* L.), Daun Lengkek (*Dinocarpus longan* Lour.), Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*.
- Morens, D. M., G. K. Folkers, dan Fauci Anthony S. 2004. Review Articles: The Challenge of Emerging and Re-emerging Infectious Diseases. *Nature*. 430:242–249.

- National Information Program on Antibiotic. 2018. Bacterial vs Viral Infections - Do You Know the Difference? <http://www.antibiotics-info.org/bact02.html> [Diakses pada September 26, 2019].
- Puspadewi, R., P. Adirestuti, dan R. Menawati. 2013. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr) Sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 1(1):31–37.
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Santoso, S. 2018. *Menguasai Statistik Dengan SPSS*. Jakarta: PT Elex media Komputindo.
- Sari, L. O. K. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. III(1):1–7.
- Sari, M., M. Hatta, dan A. Permana. 2014. Pengaruh Metode Perebusan Terhadap Uji Fitokimia Daun Mangrove *Excoecaria agallocha*. *Acta Aquatica*. 1(1):24–30.
- Sinaga, H., D. Y. P. Runtuboi, dan D. A. N. Lisye. 2014. Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat Kesehatan dan Udara di Ruang Unit Gawat Darurat RSUD Abepura, Kota Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*. 6(2007):75–79.
- Takoy, D. M., R. Linda, dan I. Lovadi. 2013. Tumbuhan Berkhasiat Obat Suku Dayak Seberuang di Kawasan Hutan Desa Ensabang Kecamatan Sepauk Kabupaten Sintang. *Jurnal Protobiont*. 2(3):122–128.
- Todar, K. 2008. Pathogenic *E. coli*. <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html> [Diakses pada September 27, 2008].
- Todar, K. 2008. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal disease*. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html> [Diakses pada September 28, 2008].
- WHO. 2016. Infectious Diseases. https://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/ [Diakses pada September 11, 2019].
- Wagner, H. dan U.-M. G. 2011. Synergy research: approaching a new generation

of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia*. 82(1):34–37.

Widodo, D. dan D. Astrawinata. 2004. Surveillance of Nosocomial Infections In dr. Cipto Mangunkusumo National General Hospital, Jakarta, 1999-2002. *sMedical Journal of Indonesia*. 13(2):107–112.

Wiley, J. M., L. M. Sherwood, dan C. J. Woolverton. 2009. *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology 7th Edition*. Edisi 7. New York: Colin wheatley/Janice Roerig-Blong.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Determinasi Tanaman

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

Nomor : 074/463A/102.7/2019
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bawang Dayak**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : 1. ZIDNI HAFIZHA / 152210101019
2. ALWI ROBYANTO / 152210101022
3. ILHAM ROBBYNOOR S. / 152210101036
Fakultas : FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman bawang merah hutan

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Liliales
Famili : Liliaceae
Genus : Eleutherine
Spesies : *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
Sinonim : *Eleutherine bulbosa*, *E. pilcata* Herb., *E. palmifolia* (L.) Merr.
Nama Umum : Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kumbe, beambang sabrang.
Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.

2. Morfologi : Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis-lapis telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai ±40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang ±5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang ±4 mm, putih kekuningan. Akar: Sorabut, coklat muda.

3. Nama Semplicis : Eleutherinii Folium / Daun Bawang Sabrang.
4. Asal Tanaman : Kel. Madurejo, Kec. Aret Selatan, Kab. Kota Waringin Barat, Kalimantan Tengah.
5. Penggunaan : Penelitian
6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://ff.unair.ac.id/cito/index.php?search=Eleutherine+Americana>, diakses tanggal 16 Juni 2010.
- Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkas/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010.
- Baker, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
- Baker, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

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

Batik, 08 Juli 2019
Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu
Mattalina
Dr. Mattalina S.M., Drs., Apt., M.Kes
NIP. 196111021991031003

Scanned by CamScanner

Lampiran 2. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak

Berat serbuk simplisia daun bawang dayak = 100,30 gram

Berat gelas = 105,40 gram

Berat gelas + berat ekstrak kental = 118,85 gram

Berat ekstrak kental = 13,45 gram

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan \% rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{13,45}{100,30} \times 100\% \\ &= 13,41\%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan Konsentrasi Uji Ekstrak

- Konsentrasi induk 100% (b/v)

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

Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan pada DMSO 10% (ekstrak dilarutkan dalam 1 bagian DMSO 100% kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 9 bagian).

- Pengenceran larutan uji 1, 5, 10, 20, dan 40%.

Konsentrasi larutan uji (% b/v)	Volume yang diambil dari induk (μL)	Pelarut DMSO 10% (mm)
40	400	600
20	200	800
10	100	900
5	50	950
1	10	990

Lampiran 4. Hasil Pengukuran Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak Terhadap Bakteri *S. aureus*

Replikasi	pengukuran diameter	Diameter zona hambat (mm) (<i>S. aureus</i>)						
		1%	5%	10%	20%	40%	k+	k-
1	1	6,4	7,0	7,1	8,7	9,0	24,4	0
	2	6,2	6,7	7,6	8,4	9,3	24,7	0
	3	6,3	7,3	7,4	8,1	9,2	25,0	0
	4	6,2	7,1	7,0	8,5	9,2	24,6	0
	5	6,3	7,0	7,6	8,3	9,6	24,7	0
	Rata-rata	6,28	7,02	7,34	8,4	9,26	24,68	0
2	1	6,0	7,1	7,5	8,4	9,6	24,4	0
	2	6,3	6,6	7,7	8,6	9,3	24,5	0
	3	6,2	6,8	7,4	8,3	9,3	24,1	0
	4	6,1	7,1	7,2	8,4	9,6	24,3	0
	5	6,2	7,0	7,4	8,1	9,2	24,2	0
	Rata-rata	6,16	6,92	7,44	8,36	9,4	24,3	0
3	1	6,8	7,4	8,2	8,5	9,3	23,0	0
	2	6,6	7,1	8,0	8,5	9,1	23,5	0
	3	6,9	7,3	8,0	8,9	9,2	23,6	0
	4	6,7	7,0	8,1	8,7	8,9	23,4	0
	5	6,8	7,1	8,2	8,6	9,1	23,5	0
	Rata-rata	6,76	7,18	8,1	8,64	9,12	23,4	0
Rata-rata keseluruhan		6,4	7,04	7,63	8,47	9,26	24,13	0
SD		0,32	0,13	0,41	0,15	0,14	0,66	0

Hasil uji normalitas

Tests of Normality						
konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
sa 1%	.314	3	.	.893	3	.363
5%	.227	3	.	.983	3	.747
10%	.341	3	.	.847	3	.232
20%	.337	3	.	.855	3	.253
40%	.175	3	.	1.000	3	1.000

Hasil uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
sa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.113	4	10	.066

Hasil uji One Way ANOVA

ANOVA					
sa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.405	4	3.851	58.166	.000
Within Groups	.662	10	.066		
Total	16.068	14			

Hasil uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: E.coli

LSD

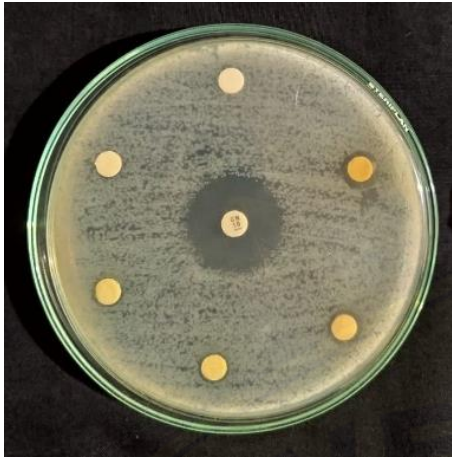
(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1%	5%	-6.53333 [*]	.28183	.000	-7.1378	-5.9289
	10%	-7.46667 [*]	.28183	.000	-8.0711	-6.8622
	20%	-8.36000 [*]	.28183	.000	-8.9645	-7.7555
	40%	-9.04000 [*]	.28183	.000	-9.6445	-8.4355
	K+	-23.96667 [*]	.28183	.000	-24.5711	-23.3622
	K-	.00000	.28183	1.000	-.6045	.6045
5%	1%	6.53333 [*]	.28183	.000	5.9289	7.1378
	10%	-.93333 [*]	.28183	.005	-1.5378	-.3289
	20%	-1.82667 [*]	.28183	.000	-2.4311	-1.2222
	40%	-2.50667 [*]	.28183	.000	-3.1111	-1.9022
	K+	-17.43333 [*]	.28183	.000	-18.0378	-16.8289
	K-	6.53333 [*]	.28183	.000	5.9289	7.1378
10%	1%	7.46667 [*]	.28183	.000	6.8622	8.0711
	5%	.93333 [*]	.28183	.005	.3289	1.5378

	20%	-.89333 [*]	.28183	.007	-1.4978	-.2889
	40%	-1.57333 [*]	.28183	.000	-2.1778	-.9689
	K+	-16.50000 [*]	.28183	.000	-17.1045	-15.8955
	K-	7.46667 [*]	.28183	.000	6.8622	8.0711
20%	1%	8.36000 [*]	.28183	.000	7.7555	8.9645
	5%	1.82667 [*]	.28183	.000	1.2222	2.4311
	10%	.89333 [*]	.28183	.007	.2889	1.4978
	40%	-.68000 [*]	.28183	.030	-1.2845	-.0755
	K+	-15.60667 [*]	.28183	.000	-16.2111	-15.0022
	K-	8.36000 [*]	.28183	.000	7.7555	8.9645
40%	1%	9.04000 [*]	.28183	.000	8.4355	9.6445
	5%	2.50667 [*]	.28183	.000	1.9022	3.1111
	10%	1.57333 [*]	.28183	.000	.9689	2.1778
	20%	.68000 [*]	.28183	.030	.0755	1.2845
	K+	-14.92667 [*]	.28183	.000	-15.5311	-14.3222
	K-	9.04000 [*]	.28183	.000	8.4355	9.6445
K+	1%	23.96667 [*]	.28183	.000	23.3622	24.5711
	5%	17.43333 [*]	.28183	.000	16.8289	18.0378
	10%	16.50000 [*]	.28183	.000	15.8955	17.1045
	20%	15.60667 [*]	.28183	.000	15.0022	16.2111
	40%	14.92667 [*]	.28183	.000	14.3222	15.5311
	K-	23.96667 [*]	.28183	.000	23.3622	24.5711
K-	1%	.00000	.28183	1.000	-.6045	.6045
	5%	-6.53333 [*]	.28183	.000	-7.1378	-5.9289
	10%	-7.46667 [*]	.28183	.000	-8.0711	-6.8622
	20%	-8.36000 [*]	.28183	.000	-8.9645	-7.7555
	40%	-9.04000 [*]	.28183	.000	-9.6445	-8.4355
	K+	-23.96667 [*]	.28183	.000	-24.5711	-23.3622

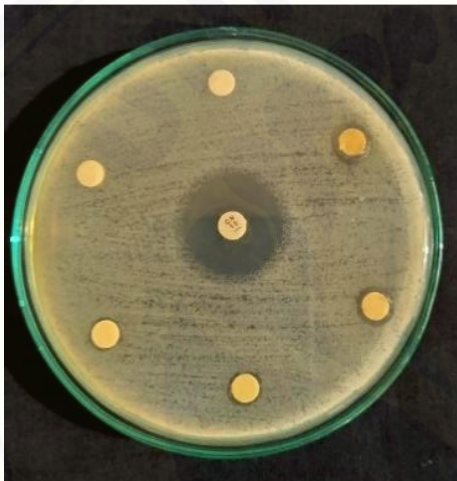
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*

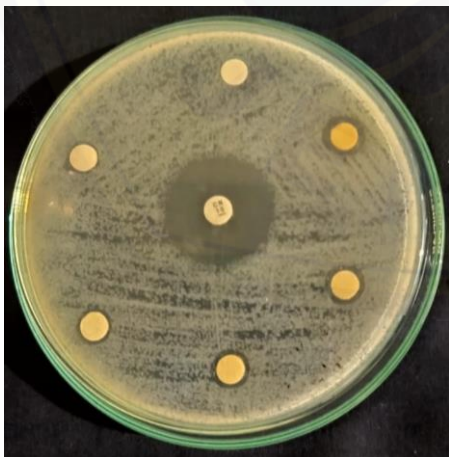
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



Lampiran 5. Hasil Pengukuran Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak Terhadap Bakteri *E. coli*

Replikasi	pengukuran diameter	Diameter zona hambat (mm) (<i>E. coli</i>)						
		1%	5%	10%	20%	40%	k+	k-
1	1	0	6,1	7,0	8,0	8,7	24,4	0
	2	0	6,3	6,9	8,2	8,8	24,7	0
	3	0	6,2	7,1	8,0	8,6	25,0	0
	4	0	6,3	7,3	8,1	8,7	24,6	0
	5	0	6,5	7,1	8,2	8,5	24,7	0
	Rata-rata	0	6,28	7,08	8,1	8,66	24,68	0
2	1	0	6,6	7,6	8,4	9,2	24,4	0
	2	0	6,7	7,3	8,6	8,8	24,5	0
	3	0	6,3	8,0	8,3	9,6	24,1	0
	4	0	6,8	7,6	8,6	8,8	24,3	0
	5	0	6,7	7,6	8,4	8,5	24,2	0
	Rata-rata	0	6,58	7,62	8,46	8,98	24,3	0
3	1	0	6,6	7,7	8,2	9,8	21,0	0
	2	0	6,4	8,0	8,5	9,1	21,5	0
	3	0	6,8	7,5	8,8	9,4	21,6	0
	4	0	7,0	7,7	8,7	9,6	21,4	0
	5	0	6,9	7,6	8,4	9,5	21,5	0
	Rata-rata	0	6,74	7,7	8,52	9,48	23,2	0
Rata-rata keseluruhan		0	6,53	7,47	8,36	9,04	23,44	0
SD		0	0,23	0,34	0,23	0,41	0,66	0

Hasil uji normalitas

Tests of Normality ^a						
konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ec 5%	.246	3	.	.970	3	.668
10%	.342	3	.	.845	3	.227
20%	.337	3	.	.855	3	.253
40%	.224	3	.	.984	3	.759

a. ec is constant when konsentrasi = 1%. It has been omitted.
b. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

ec

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.605	4	10	.100

Hasil uji *One Way ANOVA*

ANOVA

ec

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	158.564	4	39.641	507.352	.000
Within Groups	.781	10	.078		
Total	159.346	14			

Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: E.coli

LSD

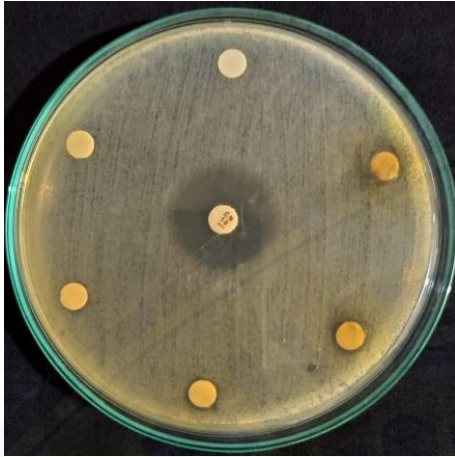
(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1%	5%	-6.53333*	.28183	.000	-7.1378	-5.9289
	10%	-7.46667*	.28183	.000	-8.0711	-6.8622
	20%	-8.36000*	.28183	.000	-8.9645	-7.7555
	40%	-9.04000*	.28183	.000	-9.6445	-8.4355
	K+	-23.96667*	.28183	.000	-24.5711	-23.3622
	K-	.00000	.28183	1.000	-.6045	.6045
5%	1%	6.53333*	.28183	.000	5.9289	7.1378
	10%	-.93333*	.28183	.005	-1.5378	-.3289
	20%	-1.82667*	.28183	.000	-2.4311	-1.2222
	40%	-2.50667*	.28183	.000	-3.1111	-1.9022
	K+	-17.43333*	.28183	.000	-18.0378	-16.8289
	K-	6.53333*	.28183	.000	5.9289	7.1378

10%	1%	7.46667*	.28183	.000	6.8622	8.0711
	5%	.93333*	.28183	.005	.3289	1.5378
	20%	-.89333*	.28183	.007	-1.4978	-.2889
	40%	-1.57333*	.28183	.000	-2.1778	-.9689
	K+	-16.50000*	.28183	.000	-17.1045	-15.8955
	K-	7.46667*	.28183	.000	6.8622	8.0711
20%	1%	8.36000*	.28183	.000	7.7555	8.9645
	5%	1.82667*	.28183	.000	1.2222	2.4311
	10%	.89333*	.28183	.007	.2889	1.4978
	40%	-.68000*	.28183	.030	-1.2845	-.0755
	K+	-15.60667*	.28183	.000	-16.2111	-15.0022
	K-	8.36000*	.28183	.000	7.7555	8.9645
40%	1%	9.04000*	.28183	.000	8.4355	9.6445
	5%	2.50667*	.28183	.000	1.9022	3.1111
	10%	1.57333*	.28183	.000	.9689	2.1778
	20%	.68000*	.28183	.030	.0755	1.2845
	K+	-14.92667*	.28183	.000	-15.5311	-14.3222
	K-	9.04000*	.28183	.000	8.4355	9.6445
K+	1%	23.96667*	.28183	.000	23.3622	24.5711
	5%	17.43333*	.28183	.000	16.8289	18.0378
	10%	16.50000*	.28183	.000	15.8955	17.1045
	20%	15.60667*	.28183	.000	15.0022	16.2111
	40%	14.92667*	.28183	.000	14.3222	15.5311
	K-	23.96667*	.28183	.000	23.3622	24.5711
K-	1%	.00000	.28183	1.000	-.6045	.6045
	5%	-6.53333*	.28183	.000	-7.1378	-5.9289
	10%	-7.46667*	.28183	.000	-8.0711	-6.8622
	20%	-8.36000*	.28183	.000	-8.9645	-7.7555
	40%	-9.04000*	.28183	.000	-9.6445	-8.4355
	K+	-23.96667*	.28183	.000	-24.5711	-23.3622

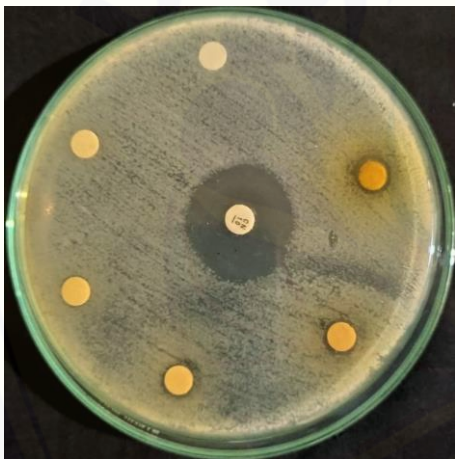
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil pengujian ekstrak daun bawang dayak terhadap *E. coli*

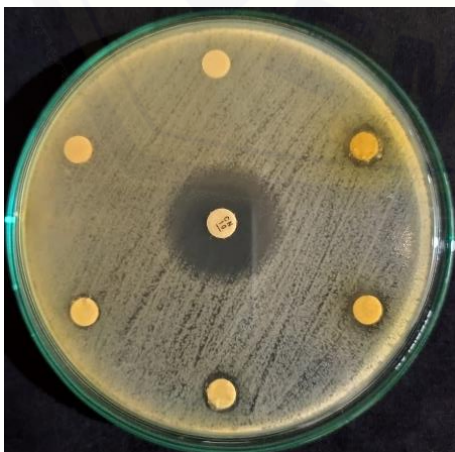
Replikasi 1



Replikasi 2



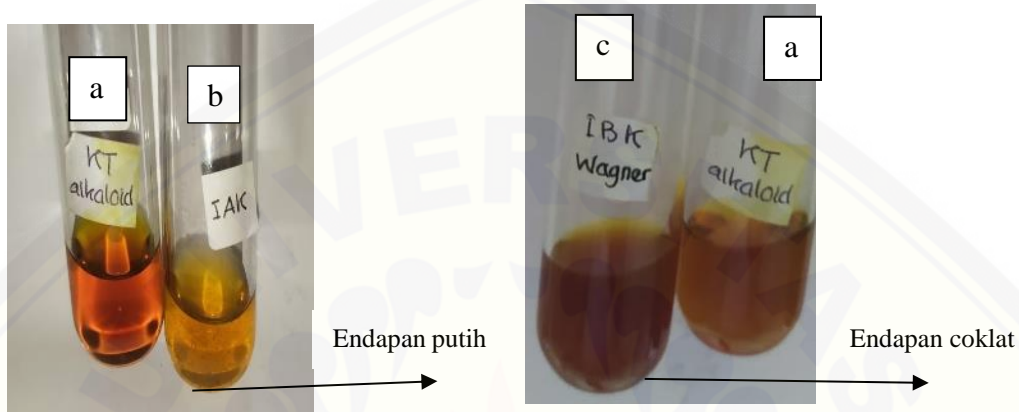
Replikasi 3



Lampiran 6. Hasil Skrining Fitokimia

1. Golongan Alkaloid

Hasil skrining fitokimia pereaksi Mayer dan Wagner senyawa golongan alkaloid menggunakan metode *tube test*



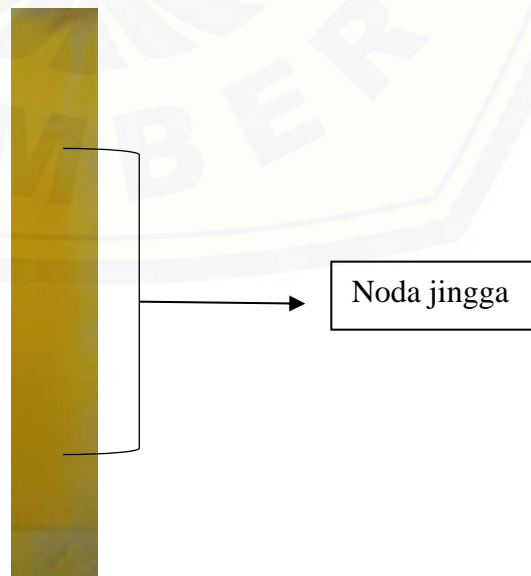
Keterangan:

a : blanko

b : penambahan pereaksi mayer terdapat endapan putih (+)

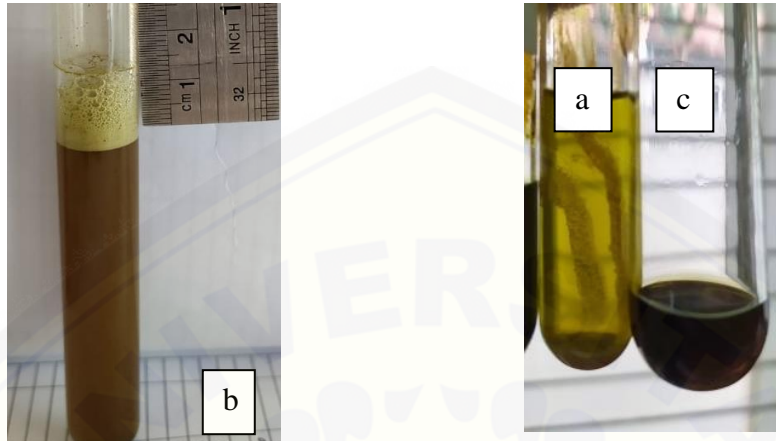
c : penambahan pereaksi wagner terdapat endapan coklat (+)

Skrining fitokimia senyawa golongan alkaloid, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak etil asetat:metanol:air (9:2:2), dan penampak noda dragendorf menggunakan metode KLT



2. Golongan Saponin, Terpenoid, dan Steroid

Hasil skrining fitokimia senyawa golongan saponin, terpenoid, dan steroid menggunakan metode *tube test*



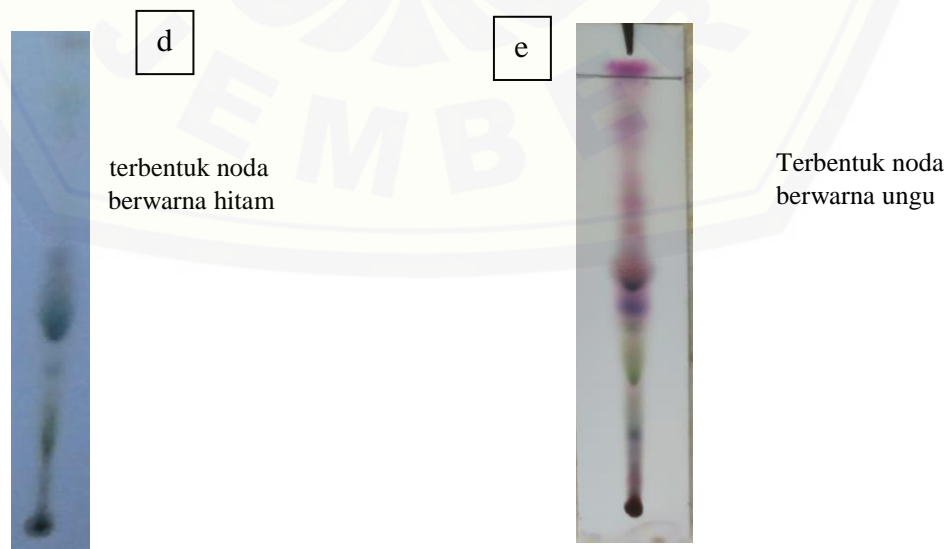
Keterangan:

a : blanko

b : uji saponin menunjukkan adanya busa tetapi tinggi busa hanya 2 cm (-)

c : uji libermann-burchard terjadi perubahan warna hijau biru (+)

Hasil skrining fitokimia (d) senyawa golongan saponin atau steroid, (e) terpenoid atau steroid bebas dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase n-heksan:etil asetat (4:1), dan penampak noda anisaldehyd asam sulfat menggunakan metode KLT



terbentuk noda
berwarna hitam

Terbentuk noda
berwarna ungu

3. Golongan Flavonoid

Hasil skrining fitokimia senyawa golongan flavonoid menggunakan metode *tube test*



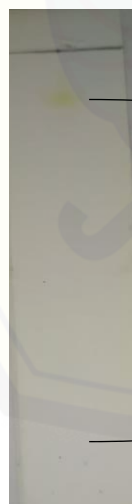
Keterangan:

a : blanko

b : uji bate-smith dan metcalf terjadi perubahan warna kecolatan (-)

c : uji wilstater terjadi perubahan warna kuning pekat (-)

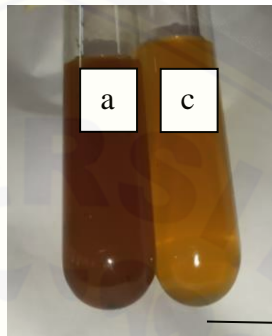
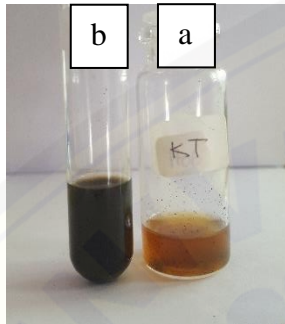
Hasil skrining fitomia senyawa golongan flavonoid, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5), dan penampak noda uap amonia menggunakan metode KLT



terdapat noda berwarna kuning samar

4. Golongan Polifenol, dan Tanin

Hasil skrining fitokimia senyawa polifenol dan tannin menggunakan metode *tube test*



Endapan berwarna putih

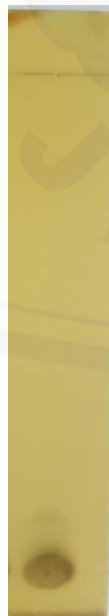
Keterangan:

a : blanko

b : uji feriklorida terjadi perubahan warna hijau kehitaman (+)

c : uji gelatin terdapat endapan berwarna putih (+)

Hasil skrining fitokimia senyawa golongan polifenol, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak kloroform:etil asetat (9:1), dan penampakan noda FeCl₃ menggunakan metode KLT



terbentuk totolan berwarna hitam (+)

Lampiran 7. Hasil Pengujian *t test* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dalam 1 konsentrasi yang sama.

Hasil uji *t test* pada konsentrasi 1%

T-Test

Group Statistics

bakteri	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_1% SA	3	6.40000	.317490	.183303
EC	3	.00000	.000000	.000000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
konsentrasi_1%	Equal variances assumed	12.000	.026	34.915	4	.000	6.400000	.183303	5.891069	6.908931
	Equal variances not assumed			34.915	2.000	.001	6.400000	.183303	5.611311	7.188689

Hasil uji *t test* pada konsentrasi 5%

T-Test

Group Statistics

	bakteri	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_5%	SA	3	6.40000	.317490	.183303
	EC	3	7.04000	.131149	.075719

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower		Upper
konsentrasi_5%	Equal variances assumed	3.482	.135	-3.227	4	.032	-.640000	.198326	-1.190642	-.089358
	Equal variances not assumed			-3.227	2.663	.057	-.640000	.198326	-1.318807	.038807

Hasil uji *t test* pada konsentrasi 10%

T-Test

Group Statistics

	bakteri	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_10%	SA	3	7.62667	.412957	.238421
	EC	3	7.46667	.337244	.194708

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower		Upper
konsentrasi_10%	Equal variances assumed	.284	.622	.520	4	.631	.160000	.307824	-.694656	1.014656
	Equal variances not assumed			.520	3.846	.632	.160000	.307824	-.708283	1.028283

Hasil uji *t test* pada konsentrasi 20%

T-Test

Group Statistics

bakteri	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_20% SA	3	8.45333	.128582	.074237
EC	3	8.32000	.192873	.111355

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
konsentrasi_20%	Equal variances assumed	1.006	.373	.996	4	.376	.133333	.133832	-.238245	.504912
	Equal variances not assumed			.996	3.485	.383	.133333	.133832	-.260960	.527627

Hasil uji *t test* pada konsentrasi 40%

T-Test

Group Statistics

bakteri	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_40% SA	3	9.25333	.150111	.086667
EC	3	9.04667	.423950	.244767

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
konsentrasi_40%	Equal variances assumed	2.420	.195	.796	4	.471	.206667	.259658	-.514259	.927593
	Equal variances not assumed			.796	2.494	.495	.206667	.259658	-.723194	1.136528