

**UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI**  
**EKSTRAK METANOL DAUN SURUHAN**  
**(*Peperomia pellucida* (L.)Kunth.) TERHADAP BAKTERI**  
***Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis***



**OLEH :**  
**HALISAH**  
**H 511 00 739**

Tgl.	24-9-05
Asal	Fak-MIPA
Banyaknya	1Csatu/eks
Harga	H
No. Inventaris	400/24-9-05
No. Klas	

**PROGRAM NON REGULER JURUSAN FARMASI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**  
**2005**



**UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI**  
**EKSTRAK METANOL DAUN SURUHAN**  
**(*Peperomia pellucida* (L.)Kunth.) TERHADAP BAKTERI**  
***Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis***

**OLEH :**

**HALISAH**

**H 511 00 739**

**Skripsi**  
**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi**  
**syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**PROGRAM NON REGULER JURUSAN FARMASI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**  
**2005**

**UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT-BIOAUTOGRAFI  
EKSTRAK METANOL DAUN SURUHAN  
(*Peperomia pellucida* (L.)Kunth.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* DAN *Streptococcus epidermis*.**

Disetujui oleh :  
Pembimbing Utama



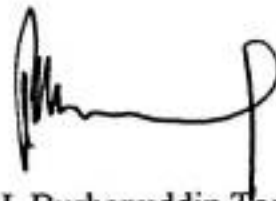
(Dra.Hj. Aisyah Fatmawaty)  
NIP 131 257 417

Pembimbing Pertama



(Dra. Sartini, M.Si.)  
NIP. 131 696 792

Pembimbing Kedua



(Drs.H. Burhanuddin Taebe, M.Si.)  
NIP. 130 784 251

Pada tanggal :

## UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat rahmat dan hidayah-Nya yang terus menerus kepada penulis hingga skripsi ini dapat menjadi suatu kenyataan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dra. Hj Aisyah Fatmawati selaku pembimbing utama dan sebagai penasehat akademik, Ibu Dra. Sartini M.Si, selaku pembimbing pertama dan Bapak Drs. H. Burhanuddin Taebe, M.Si, selaku pembimbing kedua, yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, petunjuk dan saran yang berharga sejak dimulainya penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.

Demikian pula kami ucapkan banyak terima kasih dan penghargaan kepada

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Ketua Program Non Reguler Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh staf Dosen FMIPA UNHAS, yang telah membimbing penulis baik secara langsung maupun tidak langsung selama penyelesaian studi.
5. Seluruh staf Pegawai FMIPA UNHAS, khususnya buat bunda Safakia, Ka' Musriaty, Ka' Anto yang selalu mengerti dan membuatku tertawa dan yang pasti aku rindukan.

6. Teman-teman mahasiswa jurusan farmasi, terutama buat sahabatku Nurmala Endian S.Si, Meidria Siska Rini, dan Isye Nursamkah S.Si yang memberikan dorongan dan perhatian selama pelaksanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Rasa terima kasih tak terhingga penulis haturkan kepada keluarga tercinta terutama buat kakakku Ir.Kartini yang selalu penuh dengan nasehat, buat adikku Afdhal Kusumawardani yang selalu kurindukan, buat bapakku Alimuddin AMd semoga masih ingat akan anak-anaknya, buat kakak sepupuku Chitra Ukkas AMd, Hj.Ratna Wahid SE, keluarga besar blok I 234 dan La Mode salon yang selalu mengerti keadaanku, dan yang paling spesial buat almarhuma ibu tercinta Nurjannah yang membuatku selalu kuat, tabah, sabar dan selalu ingat Tuhan, mamaku sayang walau kau tak disisiku lagi kuyakin kau selalu menjagaku dan berada didekatku, aku cinta dan sayang kalian semua.

Semoga skripsi ini dapat menyumbangkan tambahan pengetahuan bagi siapa saja yang membacanya, serta menjadi sumbangan yang kecil dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi, walaupun penulis menyadari segala kekurangan dan keterbatasannya.

Akhirnya dengan segala senang hati menerima masukan dan kritikan dari berbagai pihak.

Makassar, Juli 2005

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian Uji Daya Hambat dan Analisis KLT-Bioautografi Ekstrak Metanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) Terhadap Bakteri Uji. Penelitian ini bertujuan untuk menambah data ilmiah dari daun suruhan.

Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut metanol kemudian ekstrak didispersikan dengan larutan polisorbitat 10% dalam air suling dengan konsentrasi 0.25 %, 0.5 %, 1 % dan 2 % b/v. Uji daya hambat ekstrak metanol daun suruhan terhadap beberapa bakteri uji dilakukan dengan cara difusi, menggunakan pencadangan baja tahan karat, masa inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun suruhan dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*, ekstrak metanol daun suruhan dengan perlakuan konsentrasi 2 % memberikan daya hambat terbesar (18,117 mm). KLT-Bioautografi hasil isolasi senyawa antibakteri ekstrak dengan cairan pengelusi hexan:etil asetat (3:1) diperoleh dua noda yang aktif dengan  $R_f = 0.64$  and  $0.86$ , positif golongan terpenoid.

## ABSTRACT

A research assay inhibitory effect and KLT-Bioautografi analysis of Suruhan leaves (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) extract against bacterium. This research was aim to get scientific data from Suruhan leaves.

This extraction do it with the maseration method with using methanol, and dispersion extract with polisorbat 10 % solution with concentration 0.25%, 0.5%, 1% and 2% b/v. Inhibitory examine Suruhan leaves methanol extract against bacterium do it by using diffusion method and steel reservoir antirust with incubated during 24 hours at the temperature of 37°C.

The result of research show that Suruhan leaves extract can inhibitory of bacterium *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus epidermis*, with at concentration 2 % b/v give the biggest resistance area diameters 18.117 mm. The result of isolution antibacterial compound by KLT with dilution hexan : acetate ethyl (3:1) is obtained two stain with the value Rf 0.64 and 0.86, is positive classified terpenoid.

# DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I      PENDAHULUAN .....	1
BAB II     POLA PENELITIAN .....	3
BAB III    TINJAUAN PUSTAKA .....	7
III.1 Uraian Tanaman .....	7
III.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	7
III.1.2 Nama Daerah .....	7
III.1.3 Morfologi Tanaman .....	8
III.1.4 Uraian Daun .....	8
III.1.5 Kandungan Kimia .....	8
III.1.6 Kegunaan Tumbuhan .....	8
III.2 Tinjauan Umum Mikroba .....	9



III.3 Uraian Bakteri Uji.....	12
III.4 Pengujian Secara Mikrobiologis.....	14
III.4.1 Metode Difusi.....	14
III.4.2 Metode Pengenceran.....	16
III.5 Metode Ekstraksi.....	17
III.5.1 Tujuan Ekstraksi.....	17
III.5.2 Jenis-Jenis Ekstraksi.....	17
III.5.3 Ekstraksi Secara Maserasi.....	18
III.6 Uraian Umum Jerawat dan Bisul.....	18
III.7 Metode Pemisahan KLT.....	20
III.8 Uraian Umum Bioautografi.....	22
<b>BAB IV</b> <b>PELAKSANAAN PENELITIAN</b> .....	<b>26</b>
IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan.....	26
IV.1.1 Alat-alat yang digunakan.....	26
IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan.....	27
IV.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	28
IV.2.1 Pengambilan sampel.....	28
IV.2.2 Pengolahan sampel.....	28
IV.3 Pembuatan Ekstrak Metanol.....	28
IV.4 Pembuatan Dispersi Ekstrak Daun Suruhan.....	29
IV.5 Sterilisasi Alat.....	29
IV.6 Pembuatan Medium.....	30
IV.7 Penyiapan Bakteri.....	31

	IV.7.1 Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji.....	31
	IV.7.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	32
	IV.8 Pengujian Ekstrak.....	32
	IV.8.1 Penentuan Daerah Hambatan.....	32
	IV.8.2 Pemisahan Senyawa Secara KLT .....	33
	IV.8.3 Pengujian Secara KLT-Bioautografi.....	33
	IV.8.4 Identifikasi Senyawa Antibakteri.....	34
	IV.9 Pengolahan Dan Analisa Data.....	34
	IV.10 Pembahasan.....	35
	IV.11 Pengambilan Kesimpulan.....	35
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
	V.1 Hasil Penelitian.....	36
	V.2 Pembahasan .....	37
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN .....	41
	VI.1 Kesimpulan.....	41
	VI.2 Saran.....	41
	DAFTAR PUSTAKA .....	41
	SKEMA KERJA .....	57

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak metanol daun suruhan dengan diameter daya hambat rata-rata pada pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus epidermis</i> .....	49
2. Foto daerah hambatan ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
3. Foto daerah hambatan ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) terhadap bakteri <i>Streptococcus epidermis</i> .....	51
4. Bioautogram ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat(3 : 1) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
5. Bioautogram ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) terhadap bakteri <i>Streptococcus epidermis</i> .....	53
6. Hasil kromatogram ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) penampak noda sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.....	54
7. Hasil kromatogram ekstrak metanol daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) menggunakan pereaksi kimia Libermann-Bauchard dengan penampak noda sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.....	55
8. Foto tanaman daun suruhan ( <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.) .....	56

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan ekstrak metanol daun suruhan terhadap bakteri uji dengan masa inkubasi 24 jam .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil perhitungan diameter daya hambat ekstrak metanol daun suruhan terhadap bakteri uji dengan masa inkubasi 24 jam.....	45
2. Analisa varian ekstrak.....	46
3. Perhitungan Analisis faktorial .....	47

# BAB I

## PENDAHULUAN



Berbagai hal menunjukkan, bahwa sejak zaman purbakala umat manusia sanggup membasmi berbagai penyakit dengan berbagai obat yang ditemukannya terutama dalam dunia tumbuh-tumbuhan khususnya, dalam alam raya umumnya (1).

Salah satu tanaman yang digunakan atau dimanfaatkan oleh masyarakat adalah suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth), suku Piperaceae dengan kandungan kimia yaitu alkaloid, tannin, kalsium oksalat, lemak minyak atsiri. Tanaman ini digunakan untuk mengobati abses, bisul, jerawat, radang kulit, luka bakar, luka terpukul, rematik gaut, nyeri pada rematik, penyakit ginjal, sakit kepala pada penderita demam dan sakit perut (2). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai efektifitas daun suruhan sebagai obat jerawat, khususnya sebagai antibakteri topikal .

Jerawat (*Akne vulgaris*) merupakan jenis penyakit kulit yang banyak dijumpai pada kebanyakan penduduk Indonesia. Penyakit ini menyerang remaja dan usia dewasa. Bagian kulit yang mengandung kelenjar minyak merupakan daerah yang banyak diserang antara lain daerah muka, leher, dagu, dada, bahu, punggung dan lengan atas bagian atas (3).

Penyebab dari penyakit ini belum diketahui secara pasti, faktor endogen dan eksogen diduga sebagai penyebab terbentuknya jerawat. Faktor – faktor tersebut antara lain karena keturunan, ras kulit manusia, musim atau iklim hormonal, infeksi yang terjadi pada kulit, psikis dan faktor makanan (3).

Abses, bisul, jerawat, radang kulit, luka bakar, luka terpukul, rematik gaut, nyeri pada rematik, penyakit ginjal, sakit kepala pada penderita demam dan sakit perut (2). Dapat disebabkan karena adanya infeksi. Penyebab infeksi pada kulit disebabkan bakteri gram positif seperti *Staphylococcus sp* dan *Streptococcus sp*.

Penelitian tentang daun suruhan perna dilakukan oleh Sohrawati (2005) yang menggunakan infus. Permasalahannya apakah ekstrak metanol daun suruhan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*. Uraian tersebut diatas maka telah dilakukan penyarian komponen kimia dari daun suruhan dengan metode maserasi dengan menggunakan metanol sebagai cairan penyari. Ekstrak daun suruhan dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 0.25 %, 0.5 %, 1 % dan 2% b/v, dan diuji daya hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*. Kemudian konsentrasi ekstrak yang memberikan daya hambatan terbesar dilanjutkan dengan analisis KLT-Bioautografi setelah itu diidentifikasi.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak metanol daun suruhan dan mengelusi jumlah komponen kimia yang menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian untuk menambah data ilmiah dari ekstrak metanol daun suruhan.

## BAB II

### POLA PENELITIAN

#### II.1. Penyiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan disediakan sesuai dengan kebutuhan

#### II.2. Pengambilan Sampel dan Pengolahan Sampel

##### II.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) di peroleh di Kecamatan Biringkanaya, Kota Makassar, Propensi Sulawesi Selatan.

##### II.1.2 Pengolahan Sampel

Sampel daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) yang telah dikumpulkan dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin - anginkan di udara terbuka, setelah itu di potong - potong kecil menurut derajat halus 4/18.

#### II.3 Pembuatan Ekstrak

Daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) yang telah kering ditimbang sebanyak 100 g lalu diekstraksi dengan pelarut metanol secara maserasi. Ekstrak metanol cair yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental yang bebas metanol.



## **II.4 Pembuatan Dispersi Ekstrak Metanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth)**

Ekstrak metanol daun suruhan dengan konsentrasi 0.25%b/v, 0.5%b/v, 1%b/v dan 2%b/v yang dibuat dengan menimbang ekstrak metanol daun suruhan masing – masing sebanyak 0.25 g, 0.5 g, 1 g dan 2 g selanjutnya dimasukkan ke dalam lumpang steril digerus dengan polisorbate 80 sampai terdispersi rata sambil ditambahkan air suling sedikit demi sedikit, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling steril.

## **II.5 Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan disterilkan sesuai dengan prosedur

## **II.6 Pembuatan Medium**

Medium Nutrien Agar (NA), dan Glukosa Nutrien Agar (GNA) dibuat sesuai dengan prosedur pembuatannya.

## **II.7. Penyiapan Mikroba**

### **II.7.1 Peremajaan Biakan Murni Mikroba Uji**

Bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) dan *Streptococcus epidermis* (gram positif) dibiakkan dalam medium NA yang baru.

### **II.7.2 Pembuatan Suspensi Biakan Murni Mikroba Uji**

Bakteri dari biakan murni yang berumur 24 jam dibuat suspensi bakteri dan diukur transmitannya pada 25% T.

## **II.8 Pengujian Ekstrak**

### **II.8.1 Pengujian Daya Hambatan**

Dengan cara pencadangan di letakkan pada permukaan medium GNA yang telah memadat kemudian diisi dengan ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth).

### **II.8.2 Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Konsentrasi ekstrak metanol yang memiliki zona hambatan terbesar dan larutan pembanding di totolkan di atas lempeng KLT, kemudian lempeng dielusi lalu diamati noda yang terbentuk di bawah lampu UV 254 nm.

### **II.8.3 Pengujian Secara KLT Bioautografi**

Lempeng KLT yang telah terelusi di letakkan pada permukaan medium GNA yang telah memadat. Setelah 30 menit lempeng KLT diangkat dan dipindahkan lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### **II.8.4 Identifikasi Senyawa Antibakteri**

#### **A. Identifikasi Minyak Atsiri**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu Liebermann – Bouchardat, sebagai berikut : Dipanaskan lempeng KLT pada suhu 110°C selama 10 menit dan

diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu merah, hijau dan biru.

#### **B. Identifikasi Alkaloid**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu Dragendorf, kemudian diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu orange.

#### **C. Identifikasi Tannin**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu  $\text{FeCl}_3$ , kemudian diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu hijau.

### **II.9 Pengolahan dan Analisa Data**

Semua data pengamatan yang telah terkumpul diolah berdasarkan hasil uji daya hambat yang terjadi. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan metode rancangan faktorial.

### **II.10 Pembahasan**

Pembahasan hasil diuraikan berdasarkan pengolahan dan analisis data

### **II.11 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan yang diambil berdasarkan hasil analisis pembahasan hasil

**BAB III**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**III.1 Uraian Tanaman**

**III.1.1 Klasifikasi Tanaman (4)**

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Anak Kelas	: Zingiberidae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Piperaceae
Marga	: Peperomia
Jenis	: <i>Peperomia pellucida</i> (L.)Kunth.

**III.1.2 Nama Daerah (2)**

Indonesia	: Suruhan
Sumatera	: Ketumpang ayer.
Jawa	: Saladan, rangu – rangu, sladanan, suruhan.
Nama Asing	: Ulasiman bato (Philippine)

### **III.1.3 Morfologi Tanaman (2)**

Tumbuh semusim, tumbuh tegak kalau agak tinggi kadang menggantung tinggi sekitar 15 – 45 cm, berair, bercabang, batang bulat, tebal sekitar 5 mm. Daun tunggal letak berseling, bentuknya bulat telur melebar, ujung runcing, pangkal berbentuk jantung, tepi daun rata, panjang sekitar 1 – 3 cm, permukaan atas hijau putih mengkilap, permukaan bawah warnanya lebih muda. Bunga tersusun dalam rangkaian bulir, warnanya hijau, di ujung tangkai atau ketiak daun. Buah bulat, ujung runcing warnanya kecoklatan, tersusun seperti lada.

### **III.1.4 Uraian Daun (2)**

Daun tunggal letak berseling, bentuknya bundar telur melebar, ujung runcing, pangkal berbentuk jantung, tepi daun rata, panjang sekitar 1 – 3 cm, permukaan atas hijau putih mengkilap, permukaan bawah warnanya lebih muda.

### **III.1.5 Kandungan Kimia (2)**

Kandungan Kimia dari daun suruhan diantaranya :

Alkaloid, tannin, kalsium oksalat, lemak dan minyak atsiri.

### **III.1.6 Kegunaan Tanaman(2)**

Tanaman ini digunakan untuk mengobati abses, bisul, jerawat, radang kulit, luka bakar, luka terpukul, rematik gaut, nyeri

pada rematik, penyakit ginjal, sakit kepala pada penderita demam dan sakit perut.

### III.2 Tinjauan Umum Antimikroba(5,7)

Antimikroba adalah zat untuk membasmi mikroba khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia (mikroba patogen). Secara umum kerja antimikroba dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel mikroba. Adapun mekanisme kerja antimikroba yaitu :

#### 1. Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Mikroba menghasilkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri patogen harus mensintesis asam folat dari asam para amino benzoat (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam para amino benzoat (PABA) untuk diinkorporasikan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan mikroba akan terganggu.

#### 2. Menghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba

Dinding sel mikroba secara kimia adalah peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk.

#### 3. Mengganggu Keutuhan Membran Sel Mikroba

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel

memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan menghambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba akan mati.

#### 4. Mengganggu Sintesis Protein Sel Mikroba

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi irreversibel komponen-komponen seluler yang vital ini.

#### 5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

Antiseptika merupakan senyawa kimia yang digunakan untuk menghambat atau mematikan mikroorganisme pada jaringan hidup, yang mempunyai efek membatasi dan efek mencegah infeksi agar tidak menjadi lebih parah. Antiseptika digunakan pada permukaan mukosa, kutan dan luka yang terinfeksi. Antiseptika yang ideal adalah menghambat pertumbuhan dan merusak sel-sel bakteri, spora bakteri atau jamur, virus dan protozoa. Tanpa

merusak jaringan tubuh inang atau hospes. Mekanisme kerjanya dapat dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu :

1. Penginaktifan Enzim Tertentu

Antimikroba bekerja dengan mengalkilasi secara langsung gugus nukleofil, seperti gugus amino, karboksil, fenil dan tiol dari protein sel bakteri. Reaksi alkilasi tersebut menyebabkan pemblokiran sisi aktif dan perubahan konformasi enzim sehingga terjadi hambatan pertumbuhan sel bakteri. Akibatnya protein dan enzim tidak dapat berfungsi secara normal dan mikroorganisme mengalami kematian.

2. Denaturasi Protein.

Senyawa antimikroba berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi, membentuk kompleks yang stabil dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein sel dan membran sitoplasma mengalami lisis.

3. Mengubah Permeabilitas Membran Sitoplasma Bakteri

Senyawa antimikroba yang merupakan kation aktif dapat berinteraksi dengan gugus-gugus yang bermuatan negatif pada dinding sel bakteri, menghasilkan netralisasi muatan, obat kemudian diadsorpsi dan menyebabkan kerusakan dinding sel. Selain itu juga dapat menyebabkan presipitasi protein plasma sel bakteri.



#### 4. Interkalasi kedalam DNA

Bekerja dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesis DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein. Pada proses tersebut terjadi kompetisi dengan ikatan hidrogen membentuk ikatan kompleks yang tidak terionisasi dengan gugus bermuatan negatif dari konstituen sel, terjadi pemblokiran proses biologis yang penting untuk kehidupan bakteri, sehingga terjadinya kematian bakteri.

#### 5. Pembentukan Khelat

Beberapa turunan fenol dapat membentuk khelat dengan ion Fe dan Cu, kemudian bentuk khelat tersebut masuk kedalam sel bakteri. Kadar yang tinggi dari ion-ion logam dalam sel menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim sehingga mikroorganismenya mengalami kematian.

### III.3 Uraian Bakteri Uji (8)

#### III.3.1 *Staphylococcus aureus*

##### a. Klasifikasi

Dunia	:	Plantae
Divisi	:	Protophyta
Kelas	:	Schhyzomycetes
Bangsa	:	Eubacteriales
Suku	:	Eubacteriaceae
Marga	:	Staphylooccus
Jenis	:	<i>Staphylococcus aureus</i>

#### b. Sifat dan Morfologi

Bentuk bulat atau lonjong (0,8-0,9), jenis yang tidak bergerak, tidak berspora dan gram positif. Tersusun dalam kelompok seperti buah anggur. Pembentukan kelompok ini terjadi karena pembelahan sel terjadi dalam bidang dan sel anaknya cenderung dekat dengan sel induknya. Bersifat aerob, dan tumbuh biak pada pembenihan sederhana pada temperatur optimum 37°C dan pH 7,4. Merupakan salah satu bakteri yang cukup kebal diantara mikroorganisme yang tidak berspora, tahan panas pada suhu 60°C selama 30 menit, tahan terhadap fenol selama 15 menit.

### III.3.2 *Streptococcus epidermis*

#### a. Klasifikasi

Dunia	: Plantae
Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schhyzomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Eubacteriaceae
Marga	: Streptococcus
Jenis	: <i>Streptococcus epidermis</i>

## b. Sifat dan Morfologi

Bentuk bulat seperti rantai, termasuk bakteri gram positif dan biasanya tidak berpigmen. Berdiameter 0,5-1,5 mm. Terdapat bentuk tunggal berpasangan dan terdapat lebih dari satu bentuk hingga membentuk kelompok yang tidak beraturan. Ada kalanya dalam bentuk tetra. Koloni bulat cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan. Biasanya berwarna putih atau kuning bersifat fakultatif anaerob, tumbuh pada suhu 45<sup>0</sup> C dimana suhu optimumnya 30-37<sup>0</sup>C. Diisolasi dari bisul bernanah, luka jahitan pada kulit dan mukosa hewan yang bersifat parasit.

### III.4 Pengujian Secara Mikrobiologis (5,6)

Dikenal beberapa cara pemeriksaan dan pengujian secara mikrobiologis terhadap kemampuan antimikroba dari bahan-bahan kemoterapeutika seperti antibiotik. Walaupun pada umumnya pengujian dilakukan terhadap kebanyakan antibiotika, namun sebenarnya cara ini dapat dipakai untuk bahan-bahan lain yang diduga mempunyai daya hambat atau membunuh pertumbuhan mikroba. Secara umum dapat dilakukan dengan dua cara :

#### 1. Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada medium. Pada metode ini kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan

daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada medium tersebut. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah sebagai berikut :

a. Metode difusi dengan lempeng silinder

Cara difusi dengan silinder pipih didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding, dimana silinder kecil dapat ditempatkan pada cawan petri yang berisi medium agar dengan sejumlah mikroorganisme uji, lalu silinder diisi dengan larutan sampel. Jika sampel tersebut efektif terhadap mikroorganisme uji, maka akan terbentuk daerah hambatan.

b. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Prinsip dan cara kerja metode ini sama dengan silinder pipih. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "Cup Plate" yaitu lubang yang dibuat langsung pada medium agar.

c. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7 - 1,0 cm yang nantinya akan dicelup ke dalam larutan contoh (sampel) dan larutan pembanding. Kertas saring tersebut dikeringkan dan diletakkan di atas media agar yang telah ditanam bakteri uji. Setelah inkubasi akan terlihat adanya daerah hambatan yang terbentuk.

#### d. Cara difusi Kirby-Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan difusi dengan kertas saring. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm. Tinggi medium pada cawan petri adalah 5 - 6 mm, sehingga dapat dilakukan pengujian berbagai konsentrasi larutan contoh secara bersamaan. Setelah inkubasi, besarnya daerah hambatan dapat diukur dengan alat jangka sorong.

#### e. Cara difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby Bauer. Perbedaannya yaitu pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (base layer), sedangkan pada lapisan keduanya menggunakan bakteri yang dicampur pada medium agar (seed layer).

### 2. Cara dilusi (Pengenceran)

Pada cara ini yang biasa juga disebut penetapan dengan cara turbidimetri atau tabung, menggunakan pengenceran secara seri dari antimikroba dalam media broth dengan konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian ditanami dengan bakteri uji.

Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat dari pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi tertentu, dan dapat diketahui konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji tersebut (MIC= Minimal Inhibitory Concentration)

### **III.5 Metode Ekstraksi (9, 11)**

#### **III.5.1 Tujuan Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.

Proses terekstraksinyaa zat aktif dalam tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel secara osmosis dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel.

#### **III.5.2 Jenis-jenis Ekstraksi**

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin dan ekstraksi secara panas. Ekstraksi secara dingin dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi dan soxhletasi, sedangkan ekstraksi secara panas dilakukan dengan cara refluks dan destilasi uap air.

### III.5.3 Ekstraksi secara Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirok dan lain-lain. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel.

### III.6 Uraian Umum Jerawat dan Bisul (3,12)

Jerawat (*Akne vulgaris*) merupakan jenis penyakit kulit yang sangat mudah dijumpai pada kebanyakan penduduk Indonesia. Penyakit ini menyerang remaja dan usia dewasa. Bagian kulit yang mengandung kelenjar minyak merupakan daerah yang banyak diserang antara lain daerah muka, leher, dagu, dada, bahu, punggung dan lengan atas bagian atas.

Penyebab dari penyakit ini belum diketahui secara pasti, faktor endogen dan eksogen diduga sebagai penyebab terbentuknya jerawat faktor – faktor

tersebut antara lain karena keturunan, ras kulit manusia, musim atau iklim hormonal, infeksi yang terjadi pada kulit, psikis dan faktor makanan. Jerawat utamanya terjadi pada daerah yang berlemak pada kulit. Pada wajah jerawat terjadi paling banyak pada pipi dan sebagian pada daerah hidung, kening dan dagu.

Bisul adalah radang pada folikel rambut dan sekitarnya karena terinfeksi bakteri. Radang ini disertai munculnya warna kemerahan di bawah kulit dan rasanya sangat perih. Kebanyakan bisul tumbuh dengan cepat, penuh nanah, lalu pecah, mengering, dan sembuh dalam beberapa hari.

Pengobatan akne dan bisul dapat dilakukan dengan cara pemberian obat yaitu :

#### 1. Pengobatan topikal

- Bahan iritan yaitu sulfur, resorsinol, asam salisilat, peroksida benzoil, asam vitamin A, asam azaleat, asam alfa hidroksi (AHA), asam fusida dan ichthammolum.
- Antibiotika topikal yaitu oksitetrasiklin, eritromisin, klindamisin fosfat dan fucicord.
- Antiperadangan topikal yaitu hidrokortison, trimsinolon asetonoid dan asam fusida.
- Lainnya yaitu etil laktat



## 2. Pengobatan sistemik

- Anti bakteri sistemik yaitu tetrasiklin, eritromisin, trimetoprim, ampicilin dan amoxicillin.
- Obat hormonal misalnya estrogen, antiandrogen siproteron asetat.
- Vitamin A dan retinoid oral
- Obat lainnya, misalnya antiinflamasi nonsteroid ibuprofen, dapson dan seng sulfat

## 3. Pengobatan dengan tindakan (Physical therapy)

Ekstraksi komedo dengan menggunakan alat ekstraktor komedo

### **III.7 Metode Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (13,14)**

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu analisis yang digunakan untuk memisahkan senyawa secara cepat berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi. Adsorben berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata dan tipis (0,1 - 2 mm) diatas lempeng kaca sebagai fase diam dan pelarut pengembang sebagai fase gerak.

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi adsorpsi dan adsorben bertindak sebagai fase stasioner. Empat macam adsorben yang umum dipakai adalah silika gel (asam silikat), alumina (aluminum oxyde), kieselguhr (diatomaceous earth) dan selulosa. Dari keempat adsorben tersebut yang paling banyak dipakai adalah senyawa silika gel dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama perdagangan bermacam-macam.

Karena adanya perbedaan daya serap adsorben terhadap senyawa, maka senyawa akan bergerak dalam kecepatan yang berbeda. Hal ini yang menyebabkan terjadinya pemisahan. Memilih pelarut untuk kromatografi lapis tipis dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering kita mencoba-coba saja karena waktu yang diperlukan sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran pelarut organik yang dipakai untuk memisahkan molekul yang mempunyai satu dan dua gugus fungsi.

Nilai Rf (rate of flow) merupakan parameter karakteristik kromatografi lapis tipis. Nilai ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Nilai Rf didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut pengembang.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai Rf adalah :

- a. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. Sifat dari penyerap (adsorben) dan derajat aktifitasnya
- c. Pelarut sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya
- d. Kejenuhan dari uap dalam chamber
- e. Jumlah cuplikan yang digunakan

Kelebihan penggunaan kromatografi lapis tipis dibandingkan dengan kromatografi kertas ialah karena dapat dihasilkannya pemisahan dengan lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi, dan dapat dilaksanakan dengan lebih

cepat. Banyak pemisahan yang memakan waktu berjam-jam bila dikerjakan dengan kromatografi kertas, tapi dapat dilaksanakan hanya beberapa menit saja bila dikerjakan dengan kromatografi lapis tipis (KLT).

### III.8 Uraian Metode Bioautografi (16,17,18)

Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk penemuan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktifitas antimikroba pada kromatogram.

Metode ini didasarkan pada efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dll) dari suatu substansi yang diteliti. Dibandingkan dengan kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis (KLT) mempunyai kekuatan pemisahan yang besar dan cepat dari kedua teknik tersebut. Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar dimana senyawa antibakteri dipindahkan dari lapisan kromatografi ke medium agar yang telah diinokulasi. Zona inhibisi ditampakkan oleh aktifitas dehidrogenase dari pereaksi pendeteksi. Prosedur ini memiliki beberapa kekurangan kemudian diperbaiki dengan melakukan modifikasi tertentu.

Bioautografi dapat dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir aktifitas meskipun dalam senyawa kompleks dan dapat langsung diisolasi komponen yang aktif.

Bioautografi dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu :

a. Bioautografi langsung

Prinsip kerja dari metode ini, yaitu suspensi mikroorganisme dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatogram yang telah dihilangkan sisa eluen yang menempel pada lempeng. Kemudian diinkubasi pada suhu yang cocok.

Kromatogram dikeringkan secara hati-hati dengan hair dryer untuk menghilangkan sisa eluen. Senyawa dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 366 nm. Suspensi bakteri sebanyak 5 - 6 ml disebar di atas lempeng KLT (20 x 20 cm) menggunakan alat pemutar (Roler) yang dilapisi dengan kertas kromatografi (Whatman, Clijton). Lempeng KLT diinkubasi semalaman dalam box plastik dengan dilapisi kertas, kemudian disemprotkan dengan 5 ml larutan cair TTC (Trifenil Tetrazolium Chlorida) 20 mg/ml dan diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C

#### b. Bioautografi Kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi ini ditempatkan di atas permukaan medium Nutrien Agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis. Setelah 15 - 30 menit lempeng kromatografi kemudian dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari kromatogram ke dalam medium agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan temperatur yang

cepat hingga noda yang menghambat mikroorganisme tampak pada permukaan.

### c. Bioautografi Pencelupan

Pada metode ini lempeng kromatografi yang telah dielusi diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaannya tertutupi oleh medium agar yang berfungsi sebagai base layer. Setelah medium agar memadat, selanjutnya dituang medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai seed layer dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.

Beberapa modifikasi KLT bioautografi telah dilakukan oleh Nicholous dkk dengan menuangkan medium agar berisi 2, 3, 5- trifenil tetrazolium klorida (TTC) dan ditanami dengan mikroorganisme didalam diatas kromatogram. Sedangkan Kline dan Golak menyemprotkan medium agar secukupnya pada lempeng KLT dan segera dipadatkan. Medium agar yang telah didinginkan pada suhu 48°C dan diinokulasi dengan organisme yang diuji dituangkan langsung pada permukaan lempeng yang telah disiapkan. Zona inhibisi diidentifikasi setelah diinkubasi, dengan melihat langsung pada lempeng KLT yang tidak tembus cahaya. Bickel dkk menindihkan lempeng kromatografi pada permukaan medium agar pembersihan.

Pada bioautografi langsung dan bioautografi pencelupan, zona penghambatan dapat dilihat secara langsung pada lempeng KLT. Perbandingan kromatogram yang dilakukan pada kondisi yang sama dapat

juga digunakan pada pereksi kromagenik yang sesuai dan memberikan informasi yang berguna tentang sifat alami dari bahan aktif.

**BAB IV**  
**PELAKSANAAN PENELITIAN**

**IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan**

**IV.1.1 Alat yang digunakan**

1. Autoklaf (All American Model No. 1925 X)
2. Batang Pengaduk
3. Corong
4. Cawan petri
5. Erlenmeyer
6. Gelas ukur
7. Gelas piala
8. Inkubator
9. Jangka sorong (Sunlon)
10. Kertas indikator pH universal
11. Kain kasa
12. LAF (Laminar Air Flow)
13. Labu ukur
14. Ose bulat
15. Otoklaf
16. Oven
17. Pencadang

18. Rotavapor
19. Spektrofotometer (Spektronik 340)
20. Timbangan analitik (Chyo)
21. Timbangan kasar (O'Hauss)
22. Termometer
23. Wadah gelas

#### IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

1. Air suling
2. Agar (Pronadisa)
3. Alkohol 70%
4. Benzen
5. Biakan Murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 (Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNHAS)
6. Biakan Murni *Streptococcus epidermis*
7. Dekstrosa (E-merck)
8. Ekstrak daging (Pronadisa)
9. Etil asetat
10. Etanol
11. Larutan fisiologis NaCl 0,9 % (Otsuka)
12. NaCl
13. Pepton (Pronadisa)
14. Sampel daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth)



## **IV.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel**

### **IV.2.1 Pengambilan Sampel**

Sampel daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth) diambil di Kelurahan Biringkanaya, Kota Makassar, Propensi Sulawesi Selatan.

### **III.2.2 Pengolahan Sampel**

Sampel daun suruhan yang telah dikumpulkan dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin - anginkan di udara terbuka, setelah itu di potong - potong kecil menurut derajat halus 4/18.

## **IV.3 Pembuatan Ekstrak Metanol**

Sampel daun suruhan yang telah kering ditimbang sebanyak 100 g lalu diekstraksi dengan pelarut metanol secara maserasi yaitu simplisia yang telah kering di masukkan ke dalam bejana maserasi (toples) kemudian ditambahkan 250 ml metanol dan dibiarkan selama 10 menit lalu ditambahkan lagi metanol sebanyak 500 ml lalu diaduk. Setelah itu ditutup dan dibiarkan selama 3 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Setelah 3 hari, disaring ke dalam wadah kemudian ampasnya diperas dan ditambah metanol yang baru. Ekstraksi dilakukan 3 kali di mana setiap kali dengan 750 ml metanol. Sari yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dan diuapkan di atas penangas air, hingga diperoleh ekstrak kering yang bebas dari metanol dan ditimbang beratnya, 5 gram.

#### **IV.4 Pembuatan Dispersi Ekstrak Daun Suruhan**

##### **IV.4.1 Pembuatan Larutan Polisorbat 80 10%v/v**

Polisorbat 80 ditimbang sebanyak 10 ml didispersikan ke dalam tentukur 50 ml air suling kemudian dikocok hingga homogen kemudian dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

##### **IV.4.2 Pembuatan Dispersi Ekstrak Metanol Daun Suruhan**

Ekstrak metanol daun suruhan dengan konsentrasi 0.25 % b/v, 0.5 % b/v, 1 % b/v dan 2 % b/v yang dibuat dengan menimbang ekstrak metanol daun suruhan masing – masing sebanyak 0.25 g, 0.5 g, 1 g dan 2 g selanjutnya dimasukkan ke dalam lumpang steril digerus dengan polisorbat 80 10% sebanyak 10 ml sampai terdispersi rata sambil ditambahkan air suling sedikit demi sedikit, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

#### **IV.5 Sterilisasi Alat (6,9)**

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan detergen, wadah dengan mulut lebar dibersihkan dengan merendamnya dalam larutan detergen panas selama 15 sampai 30 menit diikuti dengan pembilasan pertama-tama dengan air bersih dan terakhir dengan air suling. Alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Tabung reaksi dan Erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari gelas disterilkan di oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Alat-

alat plastik (tidak tahan terhadap pemanasan tinggi) disterilkan dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm. Jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar selama 30 detik.

#### **IV.6. Pembuatan Medium (6)**

##### **IV.6.1 Pembuatan Nutrien Agar (NA)**

Komposisi :

Ekstrak daging 3,0 gram

Pepton 5,0 gram

Agar 15,0 gram

Air suling hingga 1000 ml

pH 7,0

Cara membuat :

Bahan-bahan di atas dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan air suling sedikit demi sedikit. Panaskan sampai bahan larut, lalu dicek pH dengan indikator universal. Bila pH-nya kurang dari atau lebih dari 7 maka ditambahkan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 7,0. Kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu, disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

##### **IV.6.2 Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA)**

Komposisi :

Glukosa 3,0 gram

Ekstrak khamir 5,0 gram

Pepton 10,0 gram

NaCl 2,5 gram

Agar 15,0 gram

Air suling hingga 1000 ml

pH 7,0

Cara membuat :

Semua bahan kecuali glukosa, dilarutkan dalam air suling 700 ml kemudian dipanaskan sampai larut. Bila pH-nya kurang dari atau lebih dari 7 maka ditambahkan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 7,0, dan dicukupkan volumenya hingga 800 ml, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 atm selama 15 menit. Glukosa dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml dan dicek pH 4, lalu dicukupkan volumenya hingga 200 ml Kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 110°C selama 40 menit. Setelah medium agak dingin dicampurkan dengan glukosa steril secara aseptis dan pH dicek dan dibuat pH 7,0

#### IV.7. Penyiapan Bakteri (5,6)

##### IV.7.1 Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji.

Bakteri uji berupa *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Streptococcus epidermis* dari biakan murni, masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium

Nutrien Agar (NA) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

#### **IV.7.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.**

Bakteri uji berumur 24 jam dari agar miring disuspensikan dengan bantuan NaCl 0,9% steril dan bola-bola kaca berdiameter kurang lebih 0,5 cm. Selanjutnya dilakukan pengenceran suspensi bakteri sampai diperoleh transmittan 25% terhadap blanko larutan NaCl 0,9 % steril pada ujung gelombang 580 nm dengan menggunakan kuvet berdiameter 13 mm. Cara ini dilakukan untuk masing-masing bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Streptococcus epidermis*

### **IV.8. Pengujian Ekstrak**

#### **IV.8.1 Pengujian Daya Hambatan**

Medium GNA steril didinginkan hingga suhu 40-45°C kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat ini sebagai lapisan dasar. Setelah itu 10 ml medium GNA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan kemudian dituangkan di atas medium GNA yang telah membeku tadi dan dibiarkan hingga setengah memadat.

Pencadangan dengan diameter dalam 6 mm, diameter luar 3mm, dan tinggi 10 mm, diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang setengah memadat. Jarak tiap pencadangan 3 cm dan jarak

pencadang dengan tepi media 2 cm. Tiap pencadang diisi dengan ekstrak metanol daun suruhan dengan konsentrasi 0.25%, 0.5%, 1% dan 2% serta larutan polisorbate 1 % (kontrol negatif). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu diukur daerah hambatannya.

#### **IV.8.2 Pemisahan Senyawa secara Kromatografi lapis Tipis (KLT)**

Dari keempat konsentrasi ekstrak metanol yang digunakan diambil satu konsentrasi yang mempunyai zona hambatan terbesar. Kemudian lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan dan oven pada suhu 100°C selama 30 menit sebelum digunakan. Ekstrak metanol tersebut ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 8 x 2 cm menggunakan pipa kapiler. Biarkan beberapa saat hingga kering dan dimasukkan ke dalam chamber (bejana kromatografi) yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1). Dibiarkan terelusi sampai batas 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda-noda yang memberikan fluoresensi ditandai.

#### **IV.8.3 Pengujian Secara KLT – Bioautografi**

Ke dalam cawan petri steril dituang 15 ml medium GNA yang dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan. Setelah media setengah memadat, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan

di atas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam diamati zona hambatan yang terbentuk.

#### **IV.8.4 Identifikasi Senyawa Antibakteri (19)**

##### **A. Identifikasi Minyak Atsiri**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu Liebermann – Bouchardat, sebagai berikut : Dipanaskan lempeng KLT pada suhu 110°C selama 10 menit dan diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu merah, hijau dan biru.

##### **B. Identifikasi Alkaloid**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu Dragendorf, kemudian diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu orange.

##### **C. Identifikasi Tannin**

Kromatogram hasil KLT disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu  $\text{FeCl}_3$ , kemudian diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang terbentuk yaitu hijau.

#### **IV.9 Pengolahan dan Analisa Data**

Semua data pengamatan yang telah terkumpul diolah berdasarkan hasil uji daya hambat yang terjadi. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan metode rancangan faktorial.

#### **IV.10 Pembahasan**

Pembahasan hasil diuraikan berdasarkan pengolahan dan analisis data

#### **IV.11 Pengambilan Kesimpulan**

Kesimpulan yang diambil berdasarkan hasil analisis dan pembahasan hasil yang diperoleh.



## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### VI. 1. Hasil Penelitian

Hasil penelitian daya hambat ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan penentuan senyawa antibakteri secara KLT-Bioautografi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*, setelah masa inkubasi 24 jam sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol 0.25 %, 0.5 %, 1 % dan 2 % menghasilkan diameter daya hambatan rata-rata :
  - a. *Staphylococcus aureus* : 9.88 mm; 12.18 mm; 21.05 mm; 23.88 mm.
  - b. *Streptococcus epidermis* : 8.66 mm; 9.88 mm; 10.76 mm; 12.35 mm.
2. Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi komponen kimia ekstrak secara kromatografi lapis tipis menggunakan cairan pengelusi :

- a. Hexan : Etil asetat (3 : 1) dengan penampak noda sinar UV 366 nm menunjukkan 6 noda dengan nilai Rf yaitu 0,26; 0,33; 0,64; 0,8; 0,86; 0,93.
3. Analisa KLT-Bioautografi

Bioautografi hasil isolasi senyawa antibakteri ekstrak dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) diperoleh dua noda yang aktif dengan Rf = 0,64 ; 0,86 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*.

## IV. 2. Pembahasan

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dan mengelusi jumlah komponen kimia yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis*, sehingga dapat menambah data ilmiah dari ekstrak metanol daun suruhan.

Sampel berupa daun suruhan segar (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dikeringkan untuk mengurangi kadar air yang dikandungnya. Sampel yang telah kering diekstraksi secara maserasi karena sifat umum dari daun memiliki struktur yang lunak sehingga dinding selnya mudah ditembus oleh cairan penyari walaupun tanpa pemanasan. Dari hasil ekstraksi dengan menggunakan 100 gram sampel menggunakan 750 ml pelarut metanol diperoleh ekstrak metanol kental sebanyak 5 gram.

*Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* dipilih sebagai bakteri uji karena infeksi pada kulit dan luka sering disebabkan oleh golongan bakteri ini dimana keduanya adalah golongan bakteri gram positif.

Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang akan digunakan untuk uji daya hambat maka sebagai uji awal dilakukan pengujian kadar hambatan minimal (KHM) dengan metode pengenceran. Pengujian hambat minimal ekstrak pada konsentrasi 0.25 %, 0.5 %, 1 % dan 2 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* menggunakan medium NB (Nutrein Broth), karena nilai MIC tidak dapat dilihat berdasarkan tingkat kekeruhan yang terbentuk, maka dilakukan uji lanjutan dengan metode

goresan pada medium NA (Nutrien Agar) sehingga diperoleh nilai MIC pada 0.25 %. Dari nilai MIC tersebut dibuat konsentrasi 0.25 %, 0.5 %, 1 % dan 2 %.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter daerah hambatan dari sampel ternyata setiap jenis sampel uji dengan konsentrasi yang berbeda memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji yang berbeda pula. Pada hasil analisa statistik dengan menggunakan rancangan faktorial pada ekstrak dengan faktor konsentrasi memperlihatkan hasil yang sangat signifikan yang berarti perbedaan konsentrasi sangat mempengaruhi hasil. Hal ini dapat dilihat dari F hitung yang lebih besar dari F tabel pada taraf 1 %. Dari hasil tersebut dilakukan analisis lanjutan dengan uji Duncan terhadap diameter hambatan rata-rata bakteri uji pada ekstrak memperlihatkan adanya perbedaan yang sangat nyata antara tiap konsentrasi sampel uji. Dari grafik (Gambar.1) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2 % yang memberikan daerah hambatan yang paling besar baik pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan adalah 23.88 mm maupun pada *Streptococcus epidermis* dengan diameter hambatan terbesar adalah 12.35 mm pada masa inkubasi 24 jam. Akan tetapi daerah hambatan yang terjadi tidak selalu mengikuti kaidah ini karena adanya beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengujian daya hambat yaitu kemampuan dan laju difusi bahan aktif pada medium, laju pertumbuhan organisme, kepekaan organisme terhadap zat aktif serta ketebalan dan viskositas medium menurut Lay, B. W (10).

Berdasarkan hasil uji mikrobiologis jenis ekstraksi dan perlakuan konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba sangat nyata. Hal ini disebabkan kadar antimikroba pada sampel ekstrak daun suruhan juga meningkat sesuai peningkatan konsentrasi.

Identifikasi ekstrak secara kromatografi lapis tipis menggunakan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) dengan penampak noda sinar UV 366 nm memberikan pemisahan yang paling baik yang diperoleh enam noda dimana pada noda pertama tidak berwarna dan noda kedua, tiga, empat, lima serta noda keenam berwarna merah muda dengan nilai Rf yaitu 0.26; 0.33; 0.64; 0.8; 0.86; 0.93.

Senyawa antibakteri yang teruji dengan metode KLT-Bioautografi kontak. Ekstrak metanol daun suruhan menunjukkan bahwa dari 6 noda dengan penampak noda sinar UV 366 nm memperlihatkan dua noda yang aktif menghambat masing-masing pertumbuhan bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dengan nilai Rf adalah 0.64; 0.86, cairan pengelusi yang digunakan yaitu hexan : etil asetat (3 : 1) sedangkan pada *Streptococcus epidermis* dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) diperoleh satu noda yang aktif dengan Rf 0.64. Dalam uji daya hambat terlihat bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar daya hambatnya dan terdapat dua noda yang aktif sedangkan *Streptococcus epidermis* daya hambatnya lebih kecil dan hanya terdapat satu noda yang aktif hal ini mungkin disebabkan sifat dan morfologinya yang berbeda yaitu *Staphylococcus aureus* bersifat aerob dan bentuknya bulat atau lonjong

berdiameter 0.8-0.9 mm sedangkan *Streptococcus epidermis* bersifat anaerob dan bentuknya bulat seperti rantai berdiameter 0.5-1.5 mm. Identifikasi noda yang aktif dengan menggunakan pereaksi kimia Libermann-Bauchard menunjukkan positif golongan terpenoid sedangkan golongan alkaloid dan tannin negatif.

Efek antibakteri yang terkandung dalam ekstrak metanol daun suruhan bersifat bakteriosid. Hal ini dapat dilihat dengan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri pada daerah hambatan setelah masa inkubasi 48 jam. Menurut Ganiswara G. Sulistiana yang menyatakan bahwa bila daerah hambatan yang terjadi tetap bening sampai 48 jam menunjukkan bahwa antimikroba yang digunakan bersifat bakterisid (14). Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ekstrak metanol daun suruhan mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermis* pada konsentrasi 0.25 % , 0.5 % , 1 % dan 2 %
2. Terdapat 2 noda aktif yang mampu menghambat masing-masing pertumbuhan bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) diperoleh dua noda yang aktif dengan Rf 0.64; 0.86 sedangkan pada *Streptococcus epidermis* dengan cairan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) diperoleh satu noda yang aktif dengan Rf 0.64.
3. Identifikasi ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) noda yang aktif dengan menggunakan pereaksi kimia Libermann-Bauchard menunjukkan positif golongan terpenoid.

#### VI.2 Saran

Disarankan untuk dilakukan purifikasi senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak metanol daun suruhan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sastroamidjojo,S., (1988), *Obat Asli Indonesia* , Penerbit Dian Rakyat, Jakarta, 39.
2. Wijayakusuma, H.M., (1992), *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonasia*, Jilid III, Jakarta, 131-132.
3. Santoso,D.,dan Gunawan,D.,(2000), *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Kulit*, Penerbit PT Penebar Swadaya, Jakarta, 50.
4. \_\_\_\_\_(2004), *Plant Profile*,(Online)  
<http://Plants.gov/Cgi-bin/Plant-Profile.Cgi?Symbol=PEPE5>
5. Ratna, Siri, H., (1993), *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 136.
6. Djide, M.N. dan Sartini, (1992), *Metode Instrumental Dalam Mikrobiologi Farmasi*, FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar, 7-12
7. Staf Pengajar FK-UI, (1993), *Mikrobiologi Kedokteran*, Binarupa Aksara, Jakarta, 32.
8. Sveath,P.H.A., (1986), *Bergey's Manuall Of Systematic Bacteriologi*, Volume II, William & Wilkins, Baltimore.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia., (1979), “ *Farmakope Indonesia* ”, Edisi III, Dirjen POM, Jakarta,12
10. Lay,B.W.,(1994), *Analisis mikroba di Laboratorium*, PT.Raja Grafindo Persada, Jakarta.

11. Darise, M., Wiryowidagdo, S., Tobo, F., (1996), *Komponen Kimia Dalam Praktek Phytochemistry*, Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi, F-MIPA, UNHAS, Makassar, 11-15
12. \_\_\_\_\_ (2005), *Mengobati Bisul*, (Online)  
<http://www.diffy.com/kesehatan/tipssehat/detail.php?id=1782>
13. Sastrohamidjojo, H., (1979), *Kromatografi*, Liberty Yogyakarta, 26,30,39.
14. Ganiswarna, S.G., (1995), " *Farmakologi Dan Terapi* ", Edisi IV, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 335
15. Gritter, R.J., Bobbotts, J.M., A.E., (1991), *Pengantar Kromatografi*, ITB, Bandung, 107,108,137-139.
16. Betina, V., (1972), *Pharmaceutical Application of Thin Layer and Paper Chromatography*, Armsterdam, 503-507.
17. Rios, J.I., Recio, M.C., Villar, A., (1988), *Screening Methods For Natural Products With Antimicrobial Activity*, Journal of Echinoparmacology, No 23, Departemen Farmacology, Faculted de Farmacia, Universided Complutenic de Madrd, Madrid, 122,136-140,144.
18. Rahaltson, L., Hostetmann, K., (1991), *A Bioautografi Agar Overlay Method for teh Detection of Antifungal Compounds From Higher Plants*, Phytochemical Analysis, Vol 2, University de lausanne, Switzerland, 199-203.
19. Darmstadt E.M., (1980), *Dyeing Reagents For Thin Layer and Paper Chromatography*, Federal Republic Of Germany, 1,40,50.



Tabel 1. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan (mm) ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth)

Bakteri	Replikasi	Konsentrasi			
		0.25%	0.5%	1%	2%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	9.95	11.95	20.75	23.75
	2	8.85	12.95	20.55	23.65
	3	10.85	11.65	21.85	24.25
	$\Sigma X$	29.65	36.55	63.15	71.65
	X	9.88	12.18	21.05	23.88
<i>Streptococcus epidermis</i>	1	8.1	9.35	10.1	11.35
	2	8.65	9.45	10.75	11.35
	3	9.25	10.85	11.45	14.35
	$\Sigma X$	26	29.65	32.3	37.05
	X	8.67	9.88	10.77	12.35

Lampiran perhitungan statistik diameter daerah hambatan (mm) ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.)Kunth)

Bakteri	Replikasi	C1	C2	C3	C4	$\Sigma X$	$\bar{x}$
M1	1	9.95	11.95	20.75	23.75	66.4	16.75
	2	8.85	12.95	20.55	23.65	66	
	3	10.85	11.65	21.85	24.25	68.6	
	$\Sigma X$	29.65	36.55	63.15	71.65	201	
	$\bar{x}$	9.88	12.18	21.05	23.88		
M2	1	8.1	9.35	10.1	11.35	38.9	10.42
	2	8.65	9.45	10.75	11.35	40.2	
	3	9.25	10.85	11.45	14.35	45.9	
	$\Sigma X$	26	29.65	32.3	37.05	125	
	$\bar{x}$	8.67	9.88	10.77	12.35		
Jumlah		55.65	66,2	95,45	108,7	326	13.58
Rata-rata		9.275	11.033	15.908	18.117		

Keterangan

- M1 : *Staphylococcus aureus*
- M2 : *Streptococcus epidermidis*
- C1 : Konsentrasi sampel 0,25 %
- C2 : Konsentrasi sampel 0.5 %
- C3 : Konsentrasi sampel 1 %
- C4 : Konsentrasi sampel 2 %

## 1. Perhitungan Analisis Variansi

$$\begin{aligned} \text{JK Rata-rata} &= \frac{(326)^2}{2 \times 4 \times 3} \\ &= 4428.16667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (9.95)^2 + (11.95)^2 + \dots + (14.35)^2 - \text{JK Rata-rata} \\ &= 687.528333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(29.65)^2 + (36.55)^2 + \dots + (37.05)^2 - \text{JK Rata-rata}}{3} \\ &= 674.428333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Mikroba} &= \frac{(201)^2 + (125)^2 - \text{JK Rata-rata}}{4 \times 3} \\ &= 240.6667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Konsentrasi} &= \frac{(55.65)^2 + (66.2)^2 + \dots + (108.7)^2 - \text{JK Rata-rata}}{2 \times 3} \\ &= 306.125833 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKMC (Interaksi)} &= \text{JK. Perlakuan} - \text{JKM} - \text{JKC} \\ &= 127.6358 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 13.1 \end{aligned}$$

## 2 Hasil Analisis Variansi

Sumber Variansi	JK	DB	KT	F Hitung	F Tabel	
					0.05	0.01
Faktor M	240.6667	1	240.6667	293.9440	4.494	8.531
Faktor C	306.12583	3	102.0419	124.6314	3.239	5.292
Interaksi	127.6358	3	42.5453	51.9637	3.239	5.292
Galat	13.1000	16	0.8188			
Total	687.5283	23				

Keterangan

F H > Ft artinya signifikan (berbeda nyata)

\* Signifikan (Berbeda nyata) / (S)

\*\* Sangat Signifikan ( Sangat berbeda nyata) / (SS)

Uji lanjutan dengan Metode Duncan pada Obat Tradisional daun suruhan untuk analisis antar konsentrasi pada  $\alpha$  0.01

DB = 16

$\alpha = 0.01$

	2	3	4
JN	4.13	4.34	4.45
JNT	2.1559	2.2655	2.3229

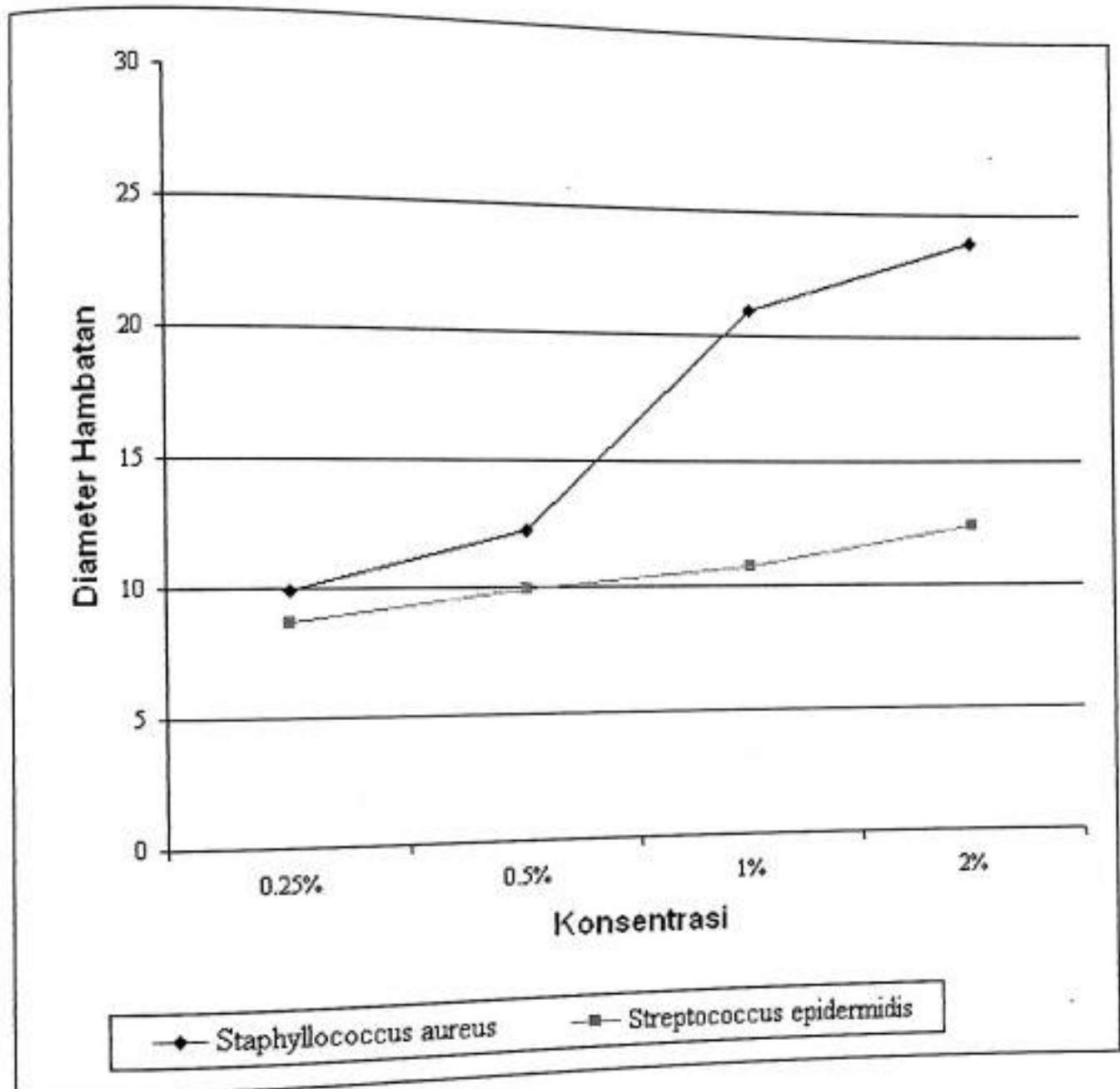
$$JNT = \frac{JN \sqrt{KTG}}{n} = 0.5220$$

C4	C3	C2	C1
18.11	15.9	11.03	9.275

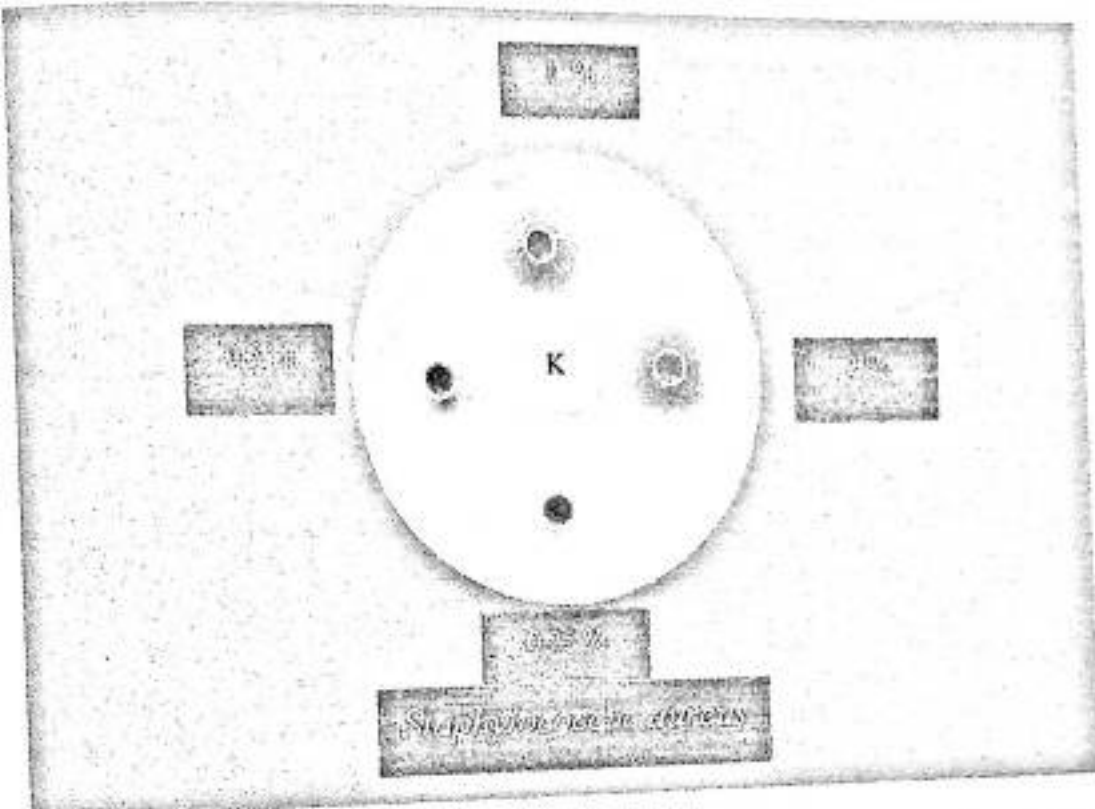
Perbandingan antar konsentrasi

C4 - C3	Jarak 2 JNT2	2.21	>	2.1559	(ss)
C4 - C2	Jarak 3 JNT3	7.08	>	2.2655	(ss)
C4 - C1	Jarak 4 JNT4	8.835	>	2.3229	(ss)
C3 - C2	Jarak 2 JNT2	4.87	>	2.1559	(ss)
C3 - C1	Jarak 3 JNT3	6.625	>	2.2655	(ss)
C2 - C1	Jarak 2 JNT2	1.755	>	2.1559	(ss)

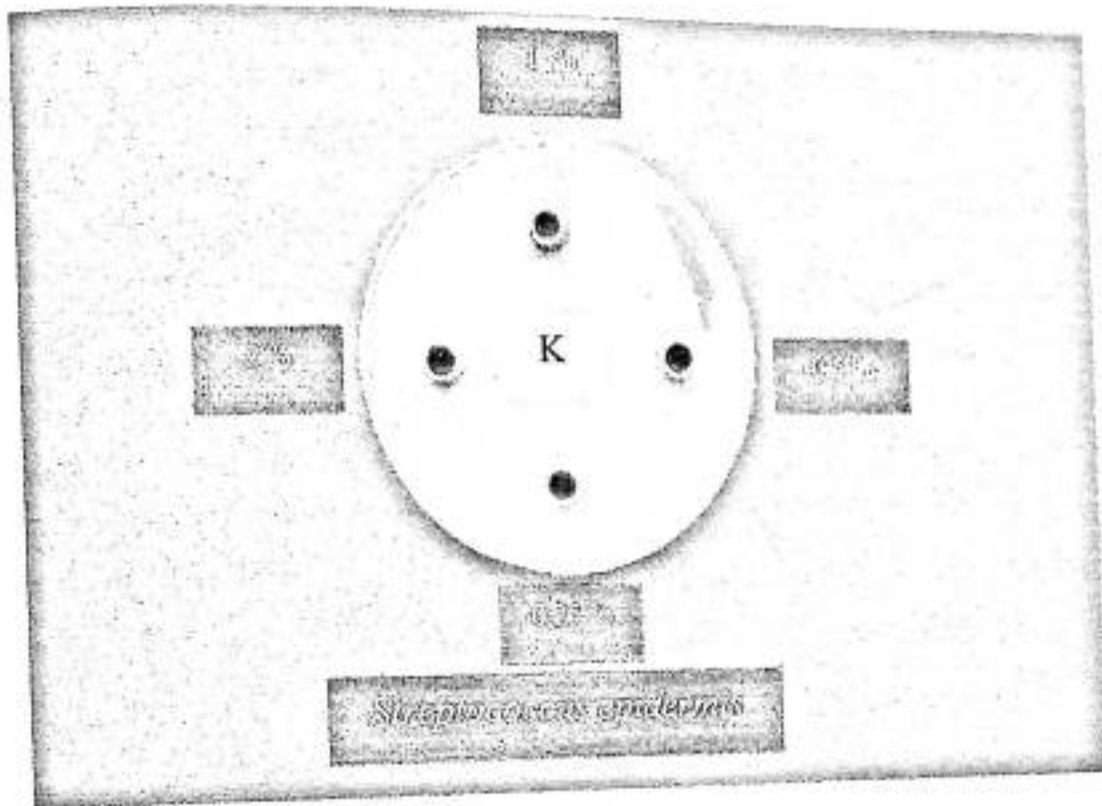
	C1	C2	C3	C4
C1	-	SS	SS	SS
C2	SS	-	SS	SS
C3	SS	SS	-	SS
C4	SS	SS	SS	-



Gambar 1 : Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Suruhan Dengan Diameter Daya Hambat Rata-Rata Pada Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus epidermidis*

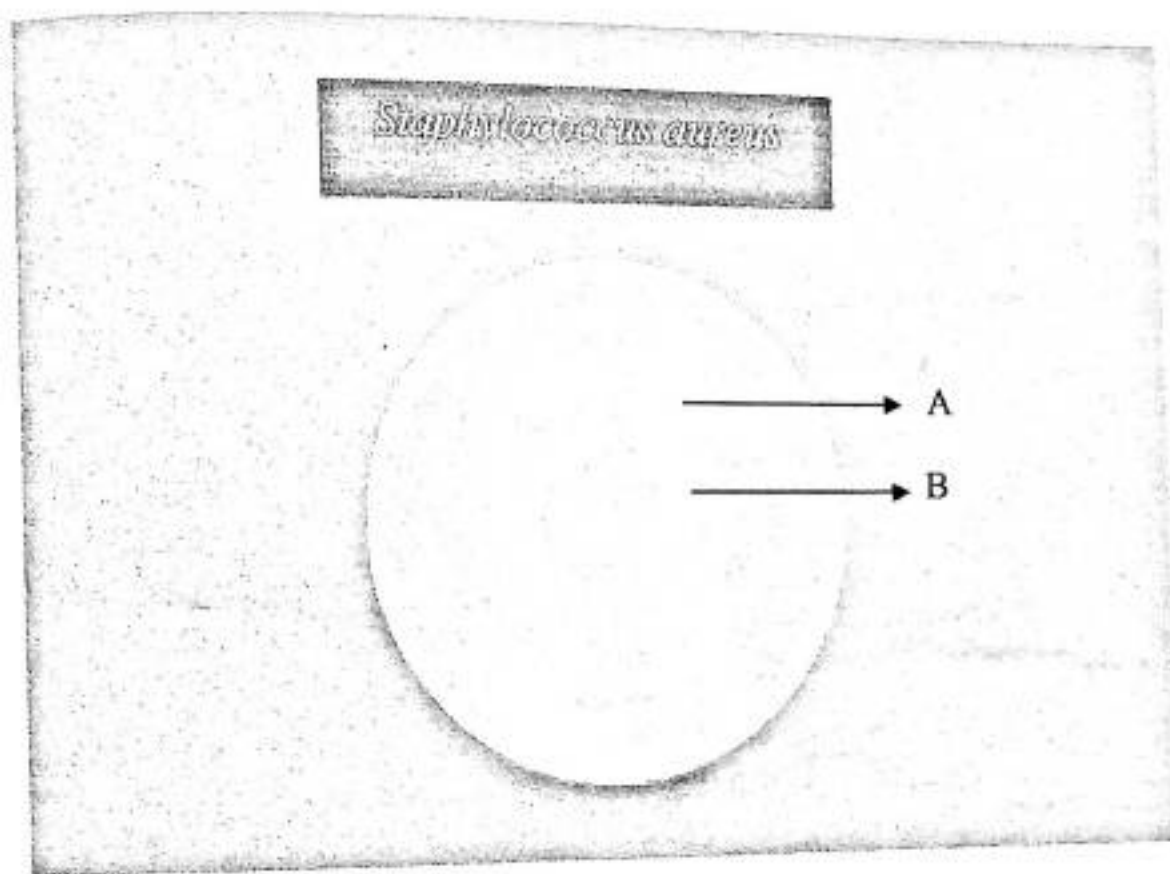


Gambar 2. Diameter zona hambatan ekstrak methanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* ( L.) Kunth ). Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan masa inkubasi 1 X 24 jam suhu 37° C.

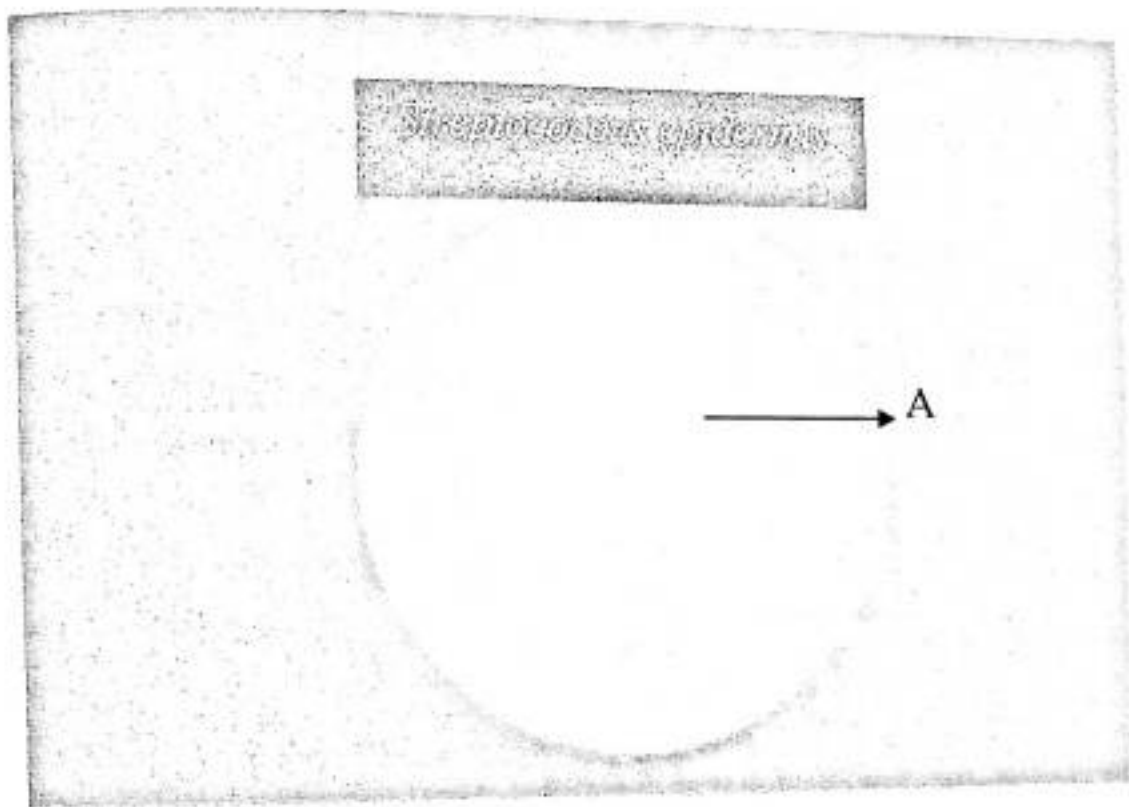


Gambar 3. Diameter zona hambatan ekstrak methanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth). Terhadap bakteri *Streptococcus epidermidis* dengan masa inkubasi 1 X 24 jam suhu 37° C.

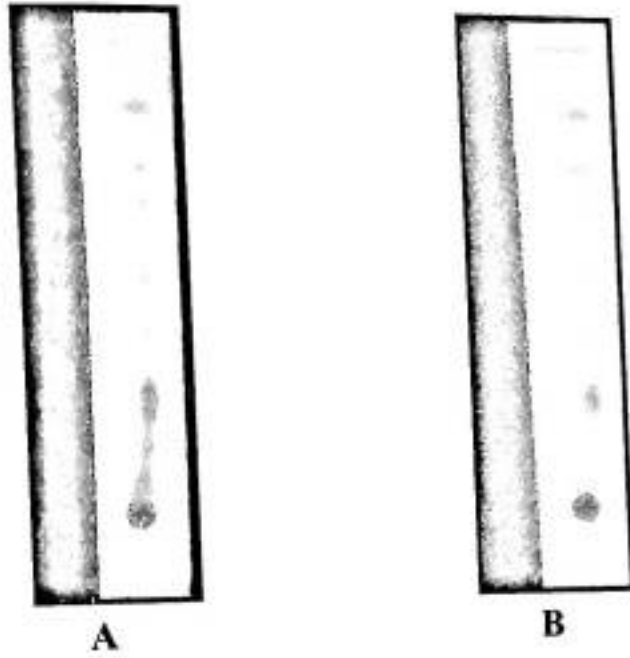




Gambar 5. Bioautogram Ekstrak Metanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dengan larutan pengelusi hexan : etil asetat (3:1).  
A. Noda ke - 5 dengan nilai Rf 0,86  
B. Noda ke -3 dengan nilai Rf 0,64  
Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan masa inkubasi 1 X 24 jam pada suhu 37° C.



Gambar 6. Bioautogram Ekstrak Metanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) dengan larutan pengelusi hexan : etil asetat (3:1).  
A. Noda ke -3 dengan nilai Rf 0,64  
Terhadap bakteri *Streptococcus epidermidis* dengan masa inkubasi 1 X 24 jam pada suhu 37° C.



Gambar 6. Hasil kromatogram ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth.) larutan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) sinar UV.

Keterangan :

A. UV 254 nm

B. UV 366 nm

- Nilai Rf

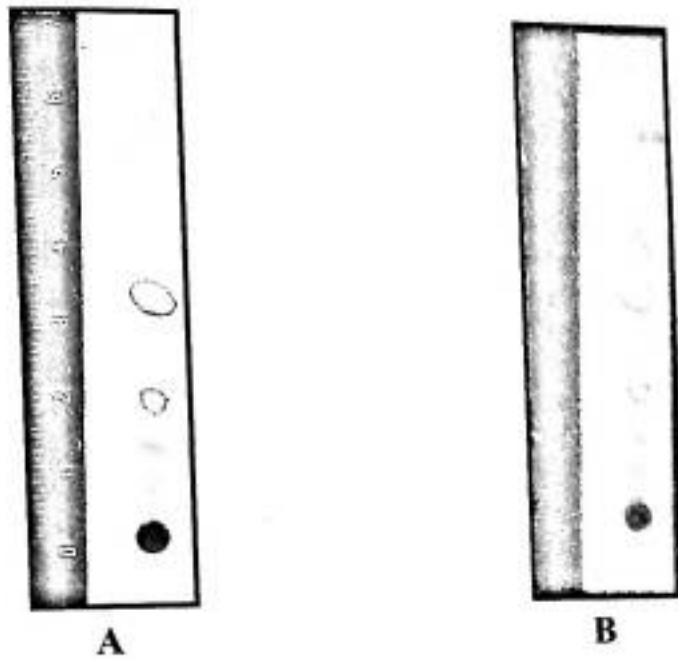
= 0.26; 0.33; 0.64; 0.8; 0.86; 0.93

- Adsorben

= Silica gel GF 254

- Ukuran lempeng

= 8 x 2 cm



Gambar 7. Hasil kromatogram ekstrak metanol daun suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth.) larutan pengelusi hexan : etil asetat (3 : 1) menggunakan pereaksi kimia Libermann-Bauchard.

Keterangan :

A. UV 254 nm

B. UV 366 nm

- Nilai Rf

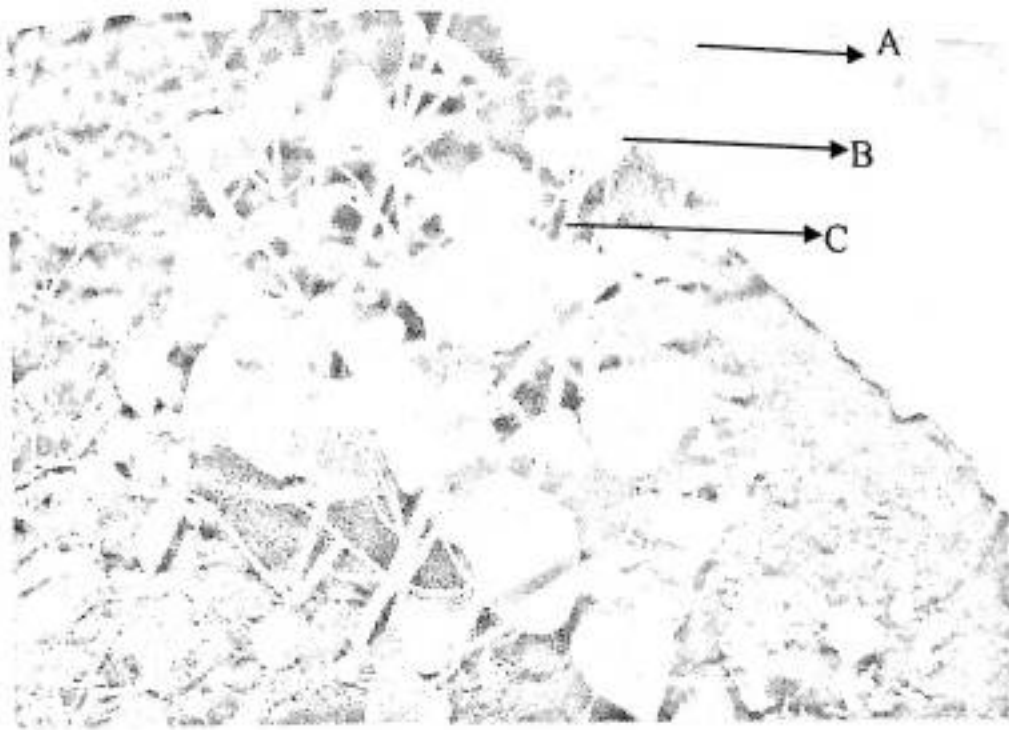
- Adsorben

- Ukuran lempeng

= 0.26; 0.33; 0.64; 0.8; 0.86; 0.93

= Silica gel GF 254

= 8 x 2 cm



Gambar 7. Tanaman Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth)

- A. Bunga
- B. Daun
- C. Batang

# SKEMA KERJA

