

**PENELITIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK DAN SENYAWA MURNI
HASIL ISOLASI DARI DAUN JARAK KOSTA MERAH
(JATROPHA GOSSYPIFOLIA LINN.) TERHADAP
BEBERAPA BAKTERI UJI**

ABD. HALIK H.
85 03 101



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. terima	1992
Asal dari	-
Kategori	2ECP
Harga	H
No. Inventaris	95 02 02 023
No. Kas	Slur. Usp. 92 HAL-P.

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN

1992

SKRIPSI



ABD. HALIK H.

85 03 101



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

1992

**PENELITIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK DAN SENYAWA MURNI
HASIL ISOLASI DARI DAUN JARAK KOSTA MERAH
(JATROPHA GOSSYPIFOLIA LINN.) TERHADAP
BEBERAPA BAKTERI UJI**

A B D. H A L I K H.

85 03 101



Skripsi untuk melengkapi tugas dan
memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar sarjana

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

1992

**PENELITIAN DAYA HAMBAT EKSTRAK DAN SENYAWA MURNI
HASIL ISOLASI DARI DAUN JARAK KOSTA MERAH
(JATROPHA GOSSYPIFOLIA LINN.) TERHADAP
BEBERAPA BAKTERI UJI**

DISETUJUI OLEH :

PEMBIMBING UTAMA



(DRS. M. NATSIR DJIDE, MS)

PEMBIMBING PERTAMA



(DR. H. MUCHSIN DARISE, MSc)

PADA TANGGAL :

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Pengasih atas rahmat dan karunia-Nya, maka skripsi ini dapat terselesaikan.

Melalui skripsi ini penyusun sampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada : Bapak Drs. M. Natsir Djide, MS selaku pembimbing utama dan Bapak DR. H. Muchsin Darise, MSc selaku pembimbing pertama, yang telah meluangkan waktu, memberi petunjuk dan menyumbangkan pikiran serta tenaga dalam membimbing penyusun, mulai saat perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih yang sama, tak lupa penyusun sampaikan kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ketua dan sekretaris Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Ibu Dra. Ny. Susanti Said, selaku penasehat akademik.
4. Bapak/Ibu pimpinan laboratorium di lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya Jurusan Farmasi.
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya Jurusan Farmasi.
6. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, khususnya Jurusan Farmasi.

Atas kesempatan dan fasilitas yang telah diberikan kepada penyusun, selama menempuh pendidikan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Dengan penuh rasa hormat dan terima kasih kepada Ayahanda beserta ibunda yang tercinta, serta kakak dan adik tersayang yang telah memberikan bantuan dan dorongan baik moril maupun materil kepada penyusun dari awal pendidikan sampai selesainya penyusunan skripsi ini. Tidak lupa pula penyusun menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua keluarga dan teman-teman yang telah membantu penyusun dari awal pendidikan sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati, skripsi yang sederhana ini penyusun persembahkan buat Bangsa, Negara, Agama dan Almamater, khususnya Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Amin.

Penyusun

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian daya hambat ekstrak metanol, eter, n-butanol dan infus (ekstrak air) serta senyawa murni hasil isolasi daun jarak kosta merah (Jatropha gossypifolia Linn) terhadap bakteri uji Streptococcus faecalis, Pseudomonas cocovenenans dan Staphylococcus aureus.

Penelitian ini meliputi ekstraksi daun jarak kosta merah secara infudasi dengan pelarut air suling dan mase-rasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol kemudian diekstraksi dengan dietil eter dan n-butanol jenuh air dalam corong pisah. Pemisahan komponen kimianya dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom.

Pemisahan komponen kimia ekstrak dietil eter secara kromatografi lapis tipis dengan cairan pengelusi heksan-etil asetat (8:2) diperoleh 11 noda. Selanjutnya pemisahan kesebelas noda dengan kromatografi kolom menggunakan adsorben silika gel G 60 dengan cairan pengelusi heksan - etil asetat (9:1 - 6:6) diperoleh 3 isolat murni yaitu fraksi A (176 - 293), B (318-404) dan C (476-557).

Identifikasi isolat murni fraksi A dengan spektrometer $^1\text{HNMR}$ diperoleh gugus $-\text{CH}_3$ pada δ 080 ppm, δ 0,93 ppm dan δ 1,67 ppm. Analisis dengan spektrometer inframerah diperoleh adanya gugus $-\text{OH}$ pada $\bar{\nu}$ 3350 cm^{-1} , gugus $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ pada $\bar{\nu}$ 2900 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 2850 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 1450 cm^{-1} , gugus $-\text{CH}_3$ pada $\bar{\nu}$ 1460 cm^{-1} .

Identifikasi isolat murni fraksi C dengan spektrometer $^1\text{HNMR}$ diperoleh gugus $-\text{CH}_3$ pada δ 0,77 ppm, δ 0,86 ppm, gugus $-\text{OH}$ pada δ 3,66 ppm dan gugus $-\text{C}=\text{C}-$ pada 4,75 ppm. Analisis dengan spektrometer inframerah diperoleh adanya gugus $-\text{OH}$ pada $\bar{\nu}$ 3400 cm^{-1} , gugus $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ pada $\bar{\nu}$ 2900 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 2850 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 1450 cm^{-1} , gugus $-\text{CH}_3$ pada $\bar{\nu}$ 1390 cm^{-1} , gugus $\text{C}=\text{O}$ pada $\bar{\nu}$ 1750 cm^{-1} dan gugus $\text{C}=\text{C}$ pada $\bar{\nu}$ 1640 cm^{-1} .

Penentuan dan pengukuran diameter daerah hambatan yang terbentuk pada ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus serta isolat murni fraksi A, B dan C terhadap bakteri uji Pseudomonas cocovenenans, Staphylococcus aureus dan Streptococcus faecalis dilakukan dengan metode difusi menggunakan pencadang berdiameter 6 mm.

Daerah hambatan yang terbesar didapatkan pada ekstrak dietil eter terhadap Staphylococcus aureus (13,15 mm) dan isolat murni fraksi A terhadap Staphylococcus aureus (15,15 mm) dengan masa inkubasi 24 jam.

Hasil perhitungan dengan menggunakan rancangan faktorial menunjukkan adanya tidak berbeda nyata dan berbeda nyata pada taraf 5% dan 1%. Adanya beda nyata menunjukkan bahwa setiap bakteri berbeda kepekaannya terhadap setiap antibakteri, atau setiap antibakteri mempunyai sifat menghambat/membunuh bakteri yang berbeda pula. Tidak berbeda nyata menunjukkan bahwa suatu bakteri tidak berbeda kepekaannya terhadap antibakteri oleh pengaruh waktu inkubasi 24 jam dan 48 jam.

ABSTRACT

A research concerning the inhibition effect of extracts and pure compounds isolated from " Jarak Kosta Merah " leaves (Jatropha gossypifolia Linn) against Streptococcus faecalis, Pseudomonas cocovenenans and Staphylococcus aureus as microorganisms test has been carried out.

The research included the extraction of " Jarak Kosta Merah " leaves by means of infuse using distilled water solvent and maseration using methanol solvent. Followed by extraction of obtained methanol extract using diethyl ether and water saturated n-buthanol for the aqueous phase of methanol extract in the seperation funnel. The Chemical components were seperated by Thin layer Chromatography and Column Chromatography.

Thin Layer Chromatography for ethereal extract using hexane-ethyl acetat eluent gave 11 spots. These spots were seperated by using Column Chromatography with silica gel G-60 and hexane acetate (9:1-6:4) as adsorbent and eluent. Three pure fraction were obtained i.e fracti-on A (176 - 293), fraction B (318 - 404) and fraction C (476 - 557).

Identification of pure isolate of fraction A by using $^1\text{HNMR}$ spectrometer showed the following figures i.e $-\text{CH}_3$ group at δ 0,80 ppm, δ 0,93 ppm and δ 1,67 ppm. Analysis through the Infra Red Spectrometer showed $-\text{OH}$ group at $\bar{\nu}$ 3350 cm^{-1} , $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ at $\bar{\nu}$ 2900 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 2850 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 1450 cm^{-1} , $-\text{CH}_3$ group at $\bar{\nu}$ 1460 cm^{-1} .

Identification of pure isolate of fraction C by using ^1H NMR spectrometer showed the following figures $-\text{CH}_3$ at δ 0,77 ppm, δ 0,86 ppm, $-\text{OH}$ group at δ 3,66 ppm and $-\text{C}=\text{C}-$ group at δ 4,75 ppm. Analysis through the Infra Red spectrometer showed $-\text{OH}$ group at $\bar{\nu}$ 3400 cm^{-1} , $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ group at $\bar{\nu}$ 2900 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 2850 cm^{-1} , $\bar{\nu}$ 1450 cm^{-1} , $-\text{CH}_3$ group at $\bar{\nu}$ 1390 cm^{-1} , $\text{C}=\text{O}$ group at $\bar{\nu}$ 1750 cm^{-1} and $\text{C}=\text{C}$ group at $\bar{\nu}$ 1640 cm^{-1} .

The determination and measurement of inhibition zone of methanol, diethyl ether, n-butanol and water extract and also pure isolate of A, B and C against Pseudomonas cocovenenans, Staphylococcus aureus and Streptococcus faecalis microorganisms were done by the diffusion method using cylinder tubes which have inside diameter of 6 mm.

The largest inhibition zone was provided by diethyl ether extract against Staphylococcus aureus and the pure isolate of fraction A against Staphylococcus aureus.

Statistical analysis by using factorial design on the microorganisms sensitivity and the influence of different incubation time of 24 hours and 48 hours to microorganisms sensitivity shows that there is significant differences of each microorganisms to each extract and pure isolate and there is no significant different incubation time of 24 hours and 48 hours.

DAFTAR ISI

	HALAMAN
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Uraian Tumbuhan	3
II.1.1 Klsifikasi Tumbuhan	3
II.1.2 Nama Daerah	3
II.1.3 Morfologi Tumbuhan	3
II.1.4 Daerah Asal	4
II.1.5 Penggunaan	4
II.1.6 Kandungan Kimia	5
II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam	5
II.2.1 Tujuan Ekstraksi	5
II.2.2 Jenis-jenis ekstraksi	5
II.2.3 Ekstraksi secara maserasi	5
II.2.4 Ekstraksi secara infudasi	6
II.3 Metode Isolasi dan Pemurnian	6
II.3.1 Kromatografi lapis tipis	7
II.3.2 Kromatografi kolom	8
II.3.3 Pengujian kemurnian	9



II.4	Metode Identifikasi dan Karakteristik	9
II.4.1	Spektroskopi inframerah	10
II.4.2	Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti	11
II.5	Uraian Umum Antimikroba	11
II.6	Uraian Umum Tentang Uji Mikrobiologis	12
II.6.1	Metode Difusi	13
II.6.2	Metode Pengenceran	14
II.7	Uraian Bakteri Uji Yang Digunakan ...	14
II.7.1	<u>Staphylococcus aureus</u>	14
II.7.2	<u>Pseudomonas cocovenenans</u>	15
II.7.3	<u>Streptococcus faecalis</u>	16
BAB III	PELAKSANAAN PENELITIAN	18
III.1	Alat-alat yang digunakan	18
III.2	Bahan-bahan yang digunakan	19
III.3	Cara Kerja	20
III.3.1	Pengambilan dan Pengolahan bahan	20
III.3.2	Ekstraksi Bahan	20
III.3.2.1	Ekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol ...	20
III.3.2.2	Ekstraksi dengan Diethyl eter	21
III.3.2.3	Ekstraksi dengan n-butanol jenuh air	22

III.3.2.4 Ekstraksi secara infudasi dengan pelarut air su - ling	23
III.3.3 Pemisahan dan pemurnian ...	24
III.3.3.1 Pemisahan komponen kimia dengan kro- matografi kolom ..	23
III.3.3.2 Pemurnian dengan kristalisasi	27
III.3.4 Sterilisasi Alat	27
III.3.5 Pembuatan Medium Perbenihan	28
III.3.6 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	30
III.3.7 Uji Mikrobiologis	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
V.1 Kesimpulan	40
V.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	HALAMAN
1. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak metanol secara maserasi	48
2a. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter	49
2b. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter	50
3. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak n-butanol	51
4. Hasil kromatografi lapis tipis fraksi-fraksi pada kromatografi kolom ekstrak eter	52
5. Data spektrum spektroskopi inframerah fraksi A ekstrak dietil eter	53
6. Data spektrum spektroskopi inframerah fraksi C ekstrak dietil eter	54
7. Data spektrum spektroskopi $^1\text{HNMR}$ fraksi A ekstrak dietil eter	55
8. Data spektrum spektroskopi $^1\text{HNMR}$ fraksi C ekstrak dietil eter	56
9. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan in-fus terhadap <u>Streptococcus faecalis</u> masa inkubasi 48 jam	57

10. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus terhadap Pseudomonas cocovenenans masa inkubasi 48 jam 58
11. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus terhadap Staphylococcus aureus masa inkubasi 48 jam 59
12. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B dan C terhadap Streptococcus faecalis masa inkubasi 48 jam 60
13. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B dan C terhadap Pseudomonas cocovenenans masa inkubasi 48 jam 61
14. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B dan C terhadap Staphylococcus aureus masa inkubasi 48 jam 62

DAFTAR TABEL

TABEL	HALAMAN
I. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak metanol secara maserasi	63
IIa. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter	64
IIb. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter	65
III. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak n-butanol	66
IV. Hasil kromatografi lapis tipis fraksi- fraksi pada kromatografi kolom ekstrak dietil eter	67
V. Hasil pengamatan diameter hambatan	68
VI. Perhitungan untuk Histogram	69

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
<p>A. Hasil perhitungan statistik diameter daerah hambatan ekstrak dan isolat terhadap bakteri <u>Streptococcus faecalis</u>, <u>Staphylococcus aureus</u> <u>Pseudomonas cocovenenans</u> masa inkubasi 24 jam dan 48 jam dengan menggunakan rancangan faktorial $3 \times 2 \times 7$</p>	71
<p>B. Tanaman jarak kosta merah (<u>Jatropha gossypifolia</u> Linn.)</p>	85
<p>C. Kolom kromatografi</p>	86
<p>D1. Histogram antara Sampel dengan Bakteri untuk masa inkubasi 24 jam</p>	87
<p>D2. Histogram antara Sampel dan Bakteri untuk masa inkubasi 48 jam</p>	88

PENDAHULUAN

Di Indonesia cukup banyak terdapat bahan obat alam, dimana tumbuh-tumbuhan merupakan bagian yang terbesar yang digunakan sebagai bahan baku obat disamping bahan alam mineral dan hewani, sehingga dalam upaya peningkatan penggunaan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan sebagai obat tradisional, perlu diadakan penelitian terhadap tumbuhan yang bermanfaat di kalangan masyarakat, khususnya yang berkhasiat dalam bidang pengobatan. (1)

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional adalah jarak kosta merah. Selain tumbuhan tersebut ditemukan di beberapa tempat di wilayah Indonesia juga ditemukan di Desa Bonde Kecamatan Campalagian, Kabupaten Polewali Mamasa. Secara tradisional daun jarak kosta merah digunakan untuk mengobati luka pada kulit, utamanya luka yang masih baru. Selain itu juga biasa digunakan sebagai obat sembelit dengan cara memasak daun jarak kosta merah kemudian sarinya diminum. (2,3)

Kulit sebagai organ tubuh yang terletak paling luar terutama berfungsi sebagai proteksi yaitu menjaga bagian dalam tubuh terhadap gangguan fisis atau mekanis seperti tekanan, gesekan, gangguan kimiawi, gangguan infeksi luar terutama bakteri maupun jamur. Bila terjadi kerusakan di kulit, maka fungsi kulit sebagai pelindung akan terganggu sehingga memudahkan terjadinya infeksi. Infeksi kulit dapat disebabkan oleh kuman gram negatif, Pseudomonas

dan Escherchia coli. Penyebab utama adalah kuman gram positif yaitu, Streptococcus dan Staphylococcus. (4)

Penelitian kandungan kimia dari daun jarak kosta merah telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, meliputi ekstraksi secara maserasi dengan pengekstraksi metanol dan diikuti teknik pemisahan, identifikasi. Dari hasil isolasi diperoleh satu komponen tunggal. Tetapi penentuan daya hambat terhadap bakteri dari daun jarak kosta merah belum pernah dilakukan.

Sehubungan dengan hal tersebut di atas dan dengan melihat khasiat dari tumbuhan jarak kosta merah, dapat diasumsikan bahwa daun jarak kosta merah mempunyai khasiat antibakteri, sehingga dilakukan penelitian tentang daya antibakteri dari ekstrak dan senyawa murni hasil isolasi terhadap beberapa bakteri uji.

Penelitian ini menggunakan beberapa bakteri uji yaitu : Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis dan Pseudomonas cocovenenans. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah data mikrobiologis terhadap tumbuhan jarak kosta merah dengan tujuan membantupemerintah dalam usaha meningkatkan mutu obat tradisional, sehingga penggunaannya sebagai obat dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tumbuhan

II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan (2,5,6)

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Jatropha</i>
Jenis	: <u><i>Jatropha gossypifolia</i></u> Linn. Var. <i>Elegans</i> Mucll. Arg.

II.1.2 Nama Daerah (2,6)

Jawa	: Jarak Abang
Madura	: Kaleke dacu, Kangean
Sunda	: Kaleke Jarak
Lampung	: Jarak ulung
Bugis	: Pelle kaliki cella
Makassar	: Tangang - tangang Kanjoli

II.1.3 Morfologi Tumbuhan (2,5,6)

Tanaman jarak kosta merah (*Jatropha gossypifolia* Linn. Var. *Elegans* Mucll. Arg.) adalah tumbuhan dari Amerika Tropis yang tumbuh pada tempat - tempat terbuka seperti pada tanggul-tanggul, lapangan rumput, semak, jalur sampah. Tumbuhan ini termasuk perdu yang

kerap kali bercabang melebar dengan rambut kelenjar yang kebanyakan berbentuk bintang yang bercabang, dari suku euphorbiaceae. Pertumbuhannya masih bersifat alami atau tumbuh liar, daunnya bertangkai panjang, helaian bulat telur terbalik sampai bulat lingkaran, 6 - 20 kali 7 - 22 cm, bercangab atau berbagi 3 - 5, tajuk bentuk elips, terutama daun muda berwarna merah, berbintik transparan. Bunga dalam bentuk malai rata bertangkai, bercangap berhadapan dengan daun. Daun kelopak 5, bentuk lanset, keungu-unguan pada pangkal, sedikit bersatu, tepi dengan rambut kelenjar. Kelopak 4 - 5 mm panjangnya, bentuk corong dengan tajuk 5, bulat, merah tua. Bunga jantan, benang sari dalam berkas yang berhubungan satu dengan yang lain, pada pangkalnya dikelilingi oleh 5 kelenjar berbentuk jantung. Bunga betina terdapat pada garpu yang bawah daripada karangan, tangkai putik 3, Kepala putik bentuk tapal kuda lebar. Buah berkendaga 3, bulat memanjang, sedikit berlekuk 3, dengan 6 alur memanjang.

II.1.4 Daerah Asal (2,3,5)

Tumbuhan ini berasal dari Hawaii dan Florida Selatan.

II.1.5 Penggunaan (2,3)

Daunnya digunakan sebagai obat sembelit juga sebagai obat luka utamanya luka yang masih

baru dan obat sakit gigi khususnya gigi yang berlubang akibat infeksi.

II.1.6 Kandungan Kimia (7)

Tumbuhan jarak kosta merah ini mengandung saponin, resin dan tannin.

II.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam (8,9,10,11)

II.2.1 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen - komponen zat padat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian terdifusi masuk ke dalam pelarut.

II.2.2 Jenis-jenis Ekstraksi

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin dan secara panas. Ekstraksi secara dingin ialah maserasi dan perkolasi, ekstraksi secara panas yaitu dengan cara refluks, sokletasi dan destilasi uap air.

II.2.3 Ekstraksi secara maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari. Sepuluh bagian simplisia dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan tujuh puluh lima bagian cairan

penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari dikerai ampas ditambah cairan penyari secukupnya lalu diaduk dan dikerai, sampai diperoleh seratus bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup dan biarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama dua hari, kemudian diempuahkan.

II.2.4 Ekstraksi secara infudasi

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati, yang dilakukan dengan cara membasahi bahan dengan air, biasanya 2 kali bobot bahan, kemudian ditambah dengan air secukupnya dan dipanaskan dalam tangas air selama 15 menit pada suhu 90°C - 98°C sambil sekali-sekali diaduk. Infus dikerai selagi masih panas melalui kain flanel. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambahkan air mendidih melalui ampasnya. Umumnya untuk 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan.

II.3 Metode isolasi dan pemurnian (12,13,14)

Isolasi adalah proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak. Pemisahan ini didasarkan adsorpsi dan partisi dari senyawa yang dipisahkan terhadap adsorben dan cairan

penyari yang digunakan. Isolasi biasanya dilakukan dengan cara kromatografi. Ada beberapa macam kromatografi yang sering digunakan yaitu kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi gas, kromatografi lapis tipis, sebagai zat penyerap selain dari kertas juga biasa digunakan aluminium oksida, silika gel, kiselgur, sellulosa dan harsa sintetik.

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis (10,13,14,15)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik analisis sederhana, waktu pengerjaan untuk menyelesaikan analisis relatif singkat (15 - 60 menit) dan memiliki daya sifat yang cukup baik. Kromatografi ini menggunakan plat gelas, logam atau lapisan yang cocok sebagai penyangga dengan zat penyerap berupa bubuk halus yang dilapiskan serba rata dengan ketebalan 0,1 - 0,3 mm, umumnya 0,2 mm di atas permukaan penyangga tersebut.

Perpindahan komponen suatu senyawa yang dipisahkan pada kromatografi ini tergantung pada jenis pelarut, zat penyerap dan sifat daya serapnya terhadap masing-masing komponen yang terlarut akan terbawa oleh fase gerak (pelarut) melalui fase diam (penyerap) dengan kecepatan perpindahan berbeda. Perbandingan kecepatan bergerak pelarut pada permukaan zat penyerap merupakan dasar untuk identifikasi komponen yang akan dipisahkan.

Perbandingan kecepatan ini dinyatakan dengan Rf (Rate of Flow).

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

Harga Rf dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni ukuran partikel, derajat keaktifan lapisan penyerap, kemurnian pelarut, kejenuhan ruang elusi dan lain-lain.

II.3.2 Kromatografi Kolom (12,14,15,16)

Kromatografi kolom merupakan suatu metode kromatografi yang umum digunakan untuk pemisahan campuran dalam jumlah yang besar (lebih dari 1 gram ekstrak). Pemisahan komponen secara kromatografi kolom berdasarkan atas adsorpsi, partisi dan penukar ion. Zat penyerap yang digunakan adalah silika gel, kiselgur, aluminium oksida, poliamida dan selite. Zat penyerap tersebut dapat digunakan dalam keadaan kering atau dicampur dengan sejumlah cairan pengelusi, kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Senyawa yang akan dipisahkan dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dibiarkan mengalir dan memisah dengan membentuk suatu pita yang disebut kromatogram sepanjang adsorben di dalam kolom. Hasil pemisahan kemudian dikumpulkan dalam bentuk fraksi-fraksi.



II.3.3 Pengujian Kemurnian (8, 16)

Pengujian kemurnian suatu zat yang biasa dilakukan antara lain :

- a. Kromatografi lapis tipis dua dimensi
- b. Pemurnian dengan kristalisasi

II.4 Metode Identifikasi dan Karakterisasi (8, 11, 16)

Identifikasi dapat dilakukan jika senyawa murni telah diperoleh dan telah diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi dan kristalisasi.

Spektroskopi

Spektroskopi adalah studi mengenai antaraksi antara energi cahaya dan materi. Warna-warna yang tampak adalah akibat absorpsi energi oleh senyawa organik maupun anorganik.

Spektroskopi dapat dianggap sebagai perluasan suatu pemeriksaan visual yang lebih mendalam dari absorpsi energi radiasi oleh macam-macam senyawa kimia, dengan memperkenankan dilakukannya pengukuran ciri-cirinya serta kuantitatifnya dengan ketelitian yang lebih besar.

Data hasil analisis spektroskopi memberikan informasi spektrum untuk penentuan struktur suatu senyawa yang belum diketahui dan mempelajari karakteristik ikatan dari suatu senyawa yang telah diketahui.

Ada beberapa tipe spektroskopi yang satu sama lain tak dapat dipisahkan dalam penentuan struktur

senyawa yang dianalisis yaitu spektroskopi inframerah, spektroskopi resonansi magnetik inti, spektroskopi ultraviolet dan spektroskopi massa.

II.4.1 Spektroskopi Inframerah (11, 17, 18)

Spektroskopi inframerah memberikan informasi spektrum gugus fungsional suatu senyawa yang berdasarkan atas interaksi dari radiasi elektromagnetik dengan resonansi vibrasi atau rotasi dalam suatu struktur molekul.

Pada umumnya radiasi inframerah pada daerah sekitar 2,5 - 50 μm , yang setara dengan bilangan gelombang 4000 - 2000 cm^{-1} .

Dalam suatu molekul, massa atom yang mengalami vibrasi atau rotasi demikian juga kuat ikatan dan kesimetrisan molekul menentukan frekuensi dan panjang gelombang dari absorpsi inframerah. Absorpsi dari radiasi inframerah terjadi hanya jika momen dipol permanen dari molekul berubah dengan suatu resonansi vibrasi atau rotasi. Kesimetrisan molekul secara langsung mempengaruhi momen dipol permanen, resonansi ikatan stretching dan bonding dapat mempengaruhi kesimetrisan ini, sehingga memperbesar absorpsi inframerah pada suatu molekul akibat pergeseran momen dipol tersebut.

Peralatan spektrometer inframerah terdiri atas 4 bagian utama yakni : sumber radiasi,

kisi difraksi (monokromator), daerah cuplikan dan detektor. Cahaya dari sumber dilewatkan melalui cuplikan, dipecah menjadi frekwensi - frekwensi individunya oleh monokromator dan intensitas relatif frekwensi individu diukur oleh detektor.

II.4.2 Spektroskopi resonansi magnetik inti (17,18,19)

Spektroskopi resonansi magnetik inti, adalah suatu analisis untuk menentukan struktur senyawa organik melalui pengukuran momen magnetik dari atom karbon dan proton inti.

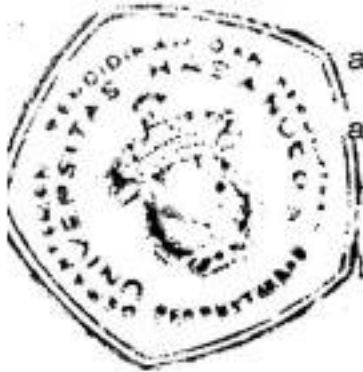
Spektroskopi ^1H NMR memberikan keterangan tentang jumlah proton serta sifat dari setiap proton tersebut, sedang spektroskopi ^{13}C NMR memberikan keterangan tentang jumlah atom karbon serta sifat dari setiap tipe atom tersebut.

Peralatan spektrometer NMR terdiri atas sebuah magnet yang kuat, sebuah generator geser, sumber frekwensi radio, detektor isyarat dan sistem pencatat serta dilengkapi dengan wadah cuplikan untuk menampung sampel dalam pelarut tertentu.

II.5 Uraian Umum Antimikroba (20,21,22)

Antimikroba adalah obat untuk membasmi mikroba, khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia.

Dalam antimikroba dikenal juga istilah antibiotika, kemoterapetika, antiseptika, desinfektansia,



sanitizer dan germisida.

- a. Antibiotika adalah suatu obat yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme dan bekerja menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme lainnya.
- b. Kemoterapetika adalah obat yang digunakan untuk membasmi mikroba dan biasanya digunakan secara sistemik.
- c. Antiseptika adalah zat antimikroba yang biasanya digunakan secara topikal atau lokal pada tubuh manusia.
- d. Desinfektansia adalah antimikroba yang biasanya digunakan pada berbagai peralatan kesehatan dengan tujuan mencegah terjadinya infeksi pada manusia.
- e. Sanitizer adalah merupakan desinfektansia khusus yang digunakan untuk mengurangi jumlah (populasi) mikroba sampai ke suatu tingkat yang dinilai aman untuk kesehatan masyarakat.

II.6. Uraian Umum Tentang Uji Mikrobiologis (23,24,25)

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam rangka pemeriksaan dan pengujian secara biologis terhadap kemampuan antimikroba dari bahan-bahan kemoterapetika, antibiotika, antiseptika dan desinfektansia.

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, maka secara umum dapat dilakukan dengan cara :

II.6.1 Metode Difusi (Diffusion Method)

Pada metode ini kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang terjadi. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah :

1. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh (sampel) terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding.

2. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan cara silinder pipih. Perbedaannya di sini menggunakan alat berupa " Cup Plate " yaitu lubang yang dibuat langsung pada medium agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Perbedaan cara ini dengan cara-cara tersebut di atas yaitu pada cara ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya membentuk bulat dengan diameter 0,7 - 1 cm yang nantinya akan dicelup ke dalam larutan contoh

(sampel) dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa eram dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

II.6.2 Metode Pengenceran (Dilution Method)

Pada metode ini digunakan sejumlah bahan antimikroba dengan kadar berbeda-beda sesuai dengan yang ditetapkan.

Pengenceran secara seri dalam medium kaldu (serial dilution method in broth). Dengan cara ini, digunakan sejumlah bahan antimikroba dalam kadar yang berbeda, kemudian ditanami dengan mikroba uji. Kekeruhan akan berbeda-beda sesuai dengan kadar antimikroba serta dapat diukur dengan menggunakan alat fotoelektrik kolorimeter. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan yang terjadi pada zat antimikroba pembanding yang mendapat perlakuan yang sama.

II.7 Uraian Bakteri Uji Yang Digunakan (26,27,28)

II.7.1 Staphylococcus aureus

Sistematika :

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Micrococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : Staphylococcus aureus

Sifat dan morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat, dengan diameter 0,8 - 0,9 μm atau 0,8 - 1,0 μm , terdapat bergerombol seperti buah anggur, ada juga letaknya berserakan, tidak bergerak, tidak tahan asam, di atas perbenihan padat berupa koloni bulat dengan diameter 1 - 2 mm, sedikit cembung, amorf dan tidak transparan, suhu pertumbuhan 6,5°C - 46°C, optimum 30°C - 37°C. Dapat tumbuh pada pH 4,2 - 9,3, optimum 7,0 - 7,5. Biasanya peka terhadap panas. Terutama ditemukan pada kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir.

II.7.2 Pseudomonas cocovenenans

Sistematika :

Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Pseudomonadales
 Suku : Pseudomonadaceae
 Marga : Pseudomonas
 Jenis : Pseudomonas cocovenenans

Sifat dan morfologi

Pseudomonas cocovenenans adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, dengan diameter 0,3 - 0,5 μm , tunggal, bergerak dengan flagella polar, monotrik, biasanya terdapat dalam

tanah, air segar dan air laut. Berperan penting dalam proses mineralisasi bahan organik, parasit, dapat menyebabkan penyakit pada tumbuhan. Kadang-kadang bersifat patogen terhadap binatang dan manusia. Tidak memerlukan faktor pertumbuhan khusus dan dapat tumbuh dalam media mineral dengan satu komponen organik sebagai sumber karbon dan energi, dapat tumbuh pada suhu $4^{\circ}\text{C} - 43^{\circ}\text{C}$, suhu optimum 30°C . Dapat tumbuh pada pH 7,0 - 8,5.

II.7.3 Streptococcus faecalis

Sistematika :

- Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Eubacteriales
 Suku : Streptococcaceae
 Marga : Streptococcus
 Jenis : Streptococcus faecalis

Sifat dan morfologi

Streptococcus faecalis adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat telur memanjang dengan diameter 0,5 - 1,0 μm , kebanyakan dalam bentuk berpasang-pasangan atau bentuk rantai pendek, koloni halus dan merata, pada umumnya tidak bergerak, di atas perbenihan padat koloni kebanyakan berukuran lebih besar. Glukosa difermentasi terutama menghasilkan asam laktat

jika kenetralan kultur dipertahankan akan didapatkan bentuk asetat dan etanol dalam jumlah yang lebih besar. Kultur menghasilkan asam dari glukosa, sukrosa, mannososa, fruktosa, galaktosa, maltosa, sellobiosa, trehalosa, laktosa, gliserol dan mannitol. Umumnya arabinosa, inulin, melibiosa dan raffinosa tidak difermentasi. Bisanya terdapat pada kotoran manusia dan binatang berdarah panas, di atas permukaan kulit, kadang-kadang dalam infeksi saluran kemih dan infeksi saluran cerna, dapat tumbuh pada suhu $10^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$, suhu optimum 37°C .



BAB III
PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat-alat yang digunakan

1. Bejana maserasi
2. Cakram silinder
3. Cawan petri
4. Corong pisah (Duran)
5. Disposable syringe 2G (Terumo)
6. Erlenmeyer (Pyrex)
7. Gelas piala (Pyrex)
8. Gelas ukur (Pyrex)
9. Jarum penanam (ose)
10. Kolom kromatografi
11. Laminar Air Flow (Germany)
12. Lampu sinar Ultraviolet (Maspion)
13. Lampu spiritus
14. Lemari pendingin (Hitachi)
15. Lemari pengeram (inkubator) (Memmert)
16. Mistar geser (Germany)
17. Otoklaf
18. Oven listrik (Memmert)
19. Penangas air (Memmert)
20. Rotavapor (Buchi)
21. Seperangkat alat kromatografi lapis tipis
22. Spektrometer ^1H -NMR (Jeol)
23. Spektrometer Inframerah
24. Pencadang

- | | |
|------------------------|-------------|
| 25. Timbangan kasar | (O'haus) |
| 26. Timbangan analitik | (Sartorius) |
| 27. Tabung reaksi | |
| 28. Vial | |

III.2 Bahan-bahan yang digunakan

- | | |
|--|------------|
| 1. Alkohol 70% | |
| 2. Asam sulfat p.a | (E. Merck) |
| 3. Daun jarak kosta merah | |
| 4. Dietil eter p.a dan teknis | (E. Merck) |
| 5. Indikator universal | (Whatman) |
| 6. Kapas | |
| 7. Karet gelang | |
| 8. Kertas saring | |
| 9. Medium Fluid Thioglycolate (FTM) | |
| 10. Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) | |
| 11. Metanol p.a dan teknis | (E. Merck) |
| 12. Mikroba <u>Pseudomonas cocovenennans</u> | |
| 13. Mikroba <u>Staphylococcus aureus</u> | |
| 14. Mikroba <u>Streptococcus faecalis</u> | |
| 15. n-Hexan teknis | |
| 16. n-Butanol p.a | (E. Merck) |
| 17. Sabun | (Asepso) |
| 18. Silika gel G 60 F-254 | (E. Merck) |

III.3 Cara Kerja

III.3.1 Pengambilan dan pengolahan bahan

Bahan yang akan digunakan adalah daun tua (daun ke-5 sampai 10 dari pucuk tanaman) dari tanaman jarak kosta merah (Jatropha gossypifolia Linn) yang berasal dari Desa Bonde, Kecamatan Campalagian, Kabupaten Polewali Mamasa, Provinsi Sulawesi Selatan.

Daun tersebut diambil dan dikumpulkan dalam suatu wadah, kemudian dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selanjutnya dipotong kecil-kecil dengan ukuran kira-kira 1 cm^2 .

III.3.2 Ekstraksi bahan (9, 11, 16)

III.3.2.1 Ekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol

Daun jarak kosta merah yang telah dipotong kecil-kecil ditimbang 300 gram, kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Dimasukkan cairan penyari hingga 1 cm di atas sampel. Penyarian dilakukan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Disaring, ampasnya diperas kemudian dicuci dengan metanol. Ampasnya direndam

lagi dengan 6 liter metanol dan dibiarkan selama 3 hari di tempat yang terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Setelah itu disaring dan dibilas dengan metanol sampai filtrat yang terakhir jernih. Filtrat ini diuji dengan kromatografi lapis tipis, jika tidak memberikan noda lagi menandakan bahwa sudah terekstraksi sempurna. Ekstrak metanol dikisatkan dengan rotavapor dan diambil sebagian untuk dipisahkan komponen kimianya dengan metode kromatografi lapis tipis (hasilnya dapat dilihat pada gambar I dan tabel I). Ekstrak sisa diuapkan hingga kering dan ditimbang, diperoleh ekstrak sebanyak 14,5 gram, selanjutnya diekstraksi dengan dietil eter dan lapisan air diekstraksi dengan n-butanol jenuh air dalam corong pisah.

III.3.2.2 Ekstraksi dengan dietil eter

Ekstrak metanol yang telah kering ditambah sedikit air, kemudian diekstraksi dengan dietil

eter dalam corong pisah, dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak dietil eter selanjutnya dikisatkan sampai kering dan diperoleh ekstrak eter sebanyak 9,5 gram. Ekstrak eter dipisahkan sebagian untuk diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis dengan cairan pengelusi Hexan. : Etil . asetat (9:1, 8:2, 7:3), hasilnya dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel II. Ekstrak eter sisa selanjutnya dipisahkan komponen kimianya dengan metode kromatografi kolom.

III.3.2.3 Ekstraksi dengan n-butanol jenuh air

Lapisan air dari pemisahan ekstrak eter, diekstraksi kembali dengan n-butanol jenuh air dalam corong pisah, dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak n-butanol dikisatkan sampai kering dan diperoleh ekstrak n-butanol sebanyak 3 gram. Ekstrak n-butanol dipisahkan sebagian untuk diidentifikasi komponen kimianya dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan cairan pengelusi

kloroform : metanol : air
(15 : 6 : 1) dan etil asetat : etanol : (8 : 2 : 1), hasilnya dapat dilihat pada gambar 3 dan tabel III.

III.3.2.4 Ekstraksi secara infudasi dengan pelarut air suling

Ditimbang sebanyak 25 gram serbuk (5/8) daun jarak kosta merah, kemudian dimasukkan ke dalam bejana infus. Dibasahkan dengan air suling sebanyak 50 ml, dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan air suling sebanyak 250ml kemudian dipanaskan dalam tangas air pada suhu 90°C - 98°C selama 15 menit, sambil sekali - sekali diaduk. Infus diserukai selagi masih panas menggunakan kain flanel. Untuk mencukupi kekurangan air, ditambahkan air mendidih melalui ampasnya hingga diperoleh ekstrak sebanyak 250 ml.

III.3.3 Pemisahan dan pemurnian (10,12,14,15)

III.3.3.1 Pemisahan komponen kimia dengan metode kromatografi kolom

Pemisahan komponen kimia ekstrak dietil eter dengan metode kromatografi kolom, mengikuti langkah - langkah sebagai berikut :

a. Persiapan cairan pengelusi

Digunakan 4 macam campuran cairan pengelusi yaitu :

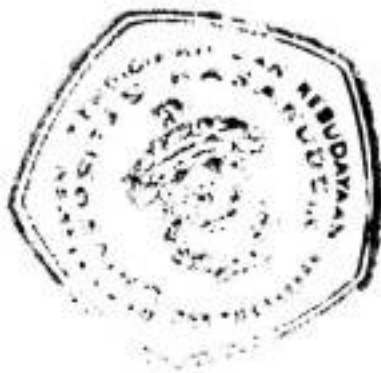
1. Heksan - etil asetat (9 : 1)
2. Heksan - etil asetat (8 : 2)
3. Heksan - etil asetat (7 : 3)
4. Heksan - etil asetat (6 : 4)

b. Persiapan kolom

Kolom dibersihkan kemudian dipasang tegak lurus dan kuat pada statif. Pada ujung bawah kolom diletakkan kapas sebagai penahan adsorben, kapas tersebut ditekan dengan batang pengaduk, sementara itu kolom diisi dengan cairan pengelusi yang telah dipersiapkan.

c. Persiapan adsorben

Adsorben silika gel G 60 untuk kromatografi kolom ditimbang sebanyak 350 gram, kemudian



dicampur dengan cairan pengelusi yang tersedia dalam erlenmeyer. Selanjutnya dituang secara perlahan-lahan ke dalam kolom yang berdiameter 5 cm dan panjang 60 cm, sampai terisi kurang lebih $3/4$ bagian kolom, kran dibuka agar cairan pengelusi turun tepat rata dengan permukaan atas adsorben.

d. Pemisahan komponen

Ekstrak eter yang akan dipisahkan ditimbang sebanyak 7 gram, kemudian dilarutkan dalam cairan pengelusi yang pertama. Selanjutnya dimasukkan ke dalam kolom yang sudah diisi dengan adsorben dengan menggunakan pipet yang digerakkan secara berputar pada pinggir kolom bagian atas, kran dibuka secara perlahan-lahan untuk membiarkan cairan pengelusi ke luar sampai lapisan ekstrak tepat pada bagian atas adsorben, selanjutnya ditambahkan cairan pengelusi pertama secara perlahan - lahan

melalui dinding kolom dengan memakai pipet yang digerakkan secara berputar. Cairan yang keluar ditampung dalam wadah sebanyak 5 ml tiap fraksi sampai fraksi ke-170 dan ditambahkan cairan pengelusi kedua sampai fraksi ke-310 tertampung, selanjutnya ditambahkan cairan pengelusi ketiga sampai fraksi ke-470, dan terakhir ditambahkan cairan pengelusi keempat sampai diperoleh fraksi yang ke-640.

e. Kromatografi lapis tipis setiap fraksi

Tiap-tiap fraksi ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis silika gel G 60 F 254 dengan cairan pengelusi Heksan: etil asetat (8:2). Fraksi yang mempunyai noda yang sama dikumpulkan kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (hasilnya dapat dilihat pada gambar IV dan tabel 4).

III.3.3.2 Pemurnian dengan kristalisasi

Hasil pemisahan kromatografi kolom fraksi ke-176 - 293, fraksi ke-318 - 404 dan fraksi ke-476 - 557, diuapkan hingga kering, kemudian ditambahkan pelarut heksan dan disimpan dalam lemari pendingin selama 3 hari, ternyata fraksi ke-176 - 293 dan 476 - 557 yang dapat mengkristal, dan selanjutnya dilakukan rekristalisasi dengan pelarut heksan, kemudian diidentifikasi secara spektroskopi dan hasilnya dapat dilihat pada gambar 5, 6, 7 dan 8.

III.3.4 Sterilisasi alat (27, 29, 30)

Semua alat yang digunakan dibersihkan terlebih dahulu, khususnya alat-alat dari kaca seperti cawan petri, tabung reaksi, pipet, labu erlenmeyer, pencadangan, gelas piala dan gelas ukur direndam dalam larutan Na_3PO_4 1 % mendidih selama 5 menit. Kemudian dicuci dengan air hingga bersih selanjutnya direndam dalam larutan HCl 1% selama 24 jam. Kemudian dicuci kembali dengan air, selanjutnya dibilas kembali dengan air suling dan dikeringkan dalam oven atau dengan sinar matahari langsung

Tabung reaksi, gelas ukur, labu erlenmeyer disumbat dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas dan diikat dengan benang. Pipet, cawan petri, gelas piala dan pencadangan dibungkus dengan kertas perkamen. Kemudian disterilkan dalam oven pada suhu 180 °C selama 2 jam.

III.3.5 Pembuatan medium perbenihan (24, 31)

a. Pembuatan medium glukosa nutrien agar

Bahan yang digunakan :

Glukosa		10 gram
Sari daging		5 gram
Pepton		10 gram
NaCl		2,5 gram
Agar		15 gram
Air suling	sampai	1000 ml

pH 7,0 ± 0,2

Cara pembuatan :

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air suling, kemudian dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan larut. Kecuali glukosa. Kemudian pH nya diukur. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai 1000 ml. Disaring dengan kapas, kemudian media tersebut disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Kemudian glukosa disterilkan dengan eter dan dibiarkan sampai kering pada suhu kamar. Setelah itu keduanya dicampur secara aseptik.

b. Medium Nutrien Agar

Bahan yang digunakan :

Sari daging		3 gram
Pepton		5 gram
Agar		15 gram
Air suling	sampai	1000 ml
pH 7,0 ± 0,2		

Cara pembuatan :

Masing-masing bahan tersebut dilarutkan dalam air suling kemudian dipanaskan hingga mendidih sampai semua bahan larut, kemudian diperiksa pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan penambahan air suling sampai volume 1000 ml. Selanjutnya disaring dengan kertas saring, atau kapas yang bersih. Disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121 ° C selama 15 menit.

c. Medium Fluid thioglycolate

Bahan yang digunakan :

Fluid thioglycolate		29,8 gram
Air suling	sampai	1000 ml

Cara pembuatan :

Fluid thioglycolate medium ditimbang sebanyak 29,8 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan air suling sampai 1000 ml. Selanjutnya dididihkan selama 5 menit dan air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling, setelah pH nya diukur ($\text{pH } 7,0 \pm 0,2$). Selanjutnya dimasukkan ke dalam sejumlah tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml. Mulut tabung reaksi disumbat dengan kapas dan dibungkus dengan kertas perkamen. Kemudian disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.3.6 Pembuatan suspensi bakteri uji

Diinokulasi sebanyak satu ose bakteri uji yang berasal dari kultur murni bakteri ke dalam biakan agar miring nutrien agar secara aseptis, setelah itu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diinokulasikan kembali dari biakan agar miring nutrien agar yang berumur 24 jam sebanyak satu ose ke dalam tabung reaksi yang berisi medium fluid thioglycolate secara aseptis, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C .

III.3.7 Uji Mikrobiologis

Pengujian secara mikrobiologis ekstrak (metanol, eter, n-butanol, infus) dan senyawa isolat (A, B dan C), dilakukan dengan metode difusi menggunakan pencadangan dengan diameter luar 8 mm, diameter dalam 6 mm.

Medium glukosa nutrien agar dipanaskan di atas tangas air sampai seluruhnya mencair, kemudian didinginkan hingga suhu 40°C - 45°C . Kemudian dituangkan ke dalam sejumlah cawan petri steril sebanyak 10 ml, tutup dan didiamkan hingga membeku (sebagai "base layers").

Medium glukosa nutrien agar yang lain dipanaskan hingga mencair, kemudian didinginkan sampai suhu 40°C - 45°C . Ditambahkan masing-masing 1 ml suspensi bakteri uji (Staphylococcus aureus, Pseudomonas cocovenenans, Streptococcus faecalis) dari hasil pengenceran 10^{-3} ke dalam setiap 5 ml medium glukosa nutrien agar lalu dihomogenkan (sebagai "seed layers"). Selanjutnya dituangkan secara aseptis ke dalam cawan petri yang telah berisi "base layers".

Ditutup dan digoyangkan hingga membentuk lapisan yang rata dan dibiarkan membeku selama satu jam.

Pencadang diletakkan secara aseptis pada permukaan medium. Jarak antara pencadang yang satu dengan pencadang yang lainnya kurang lebih 3 cm dan 2 cm dari pinggir cawan petri. Kemudian ekstrak metanol, ekstrak eter, ekstrak n-butanol dan infus serta senyawa isolat A, isolat B dan isolat C dari daun jarak kosta merah dimasukkan ke dalam pencadang sebanyak 0,5 ml secara aseptis, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam.

Pengukuran diameter hambatan yang terjadi dilakukan pada waktu 24 jam dan 48 jam. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel V. Kemudian data dikumpulkan dan dianalisis secara statistik dengan menggunakan rancangan faktorial seperti pada lampiran A.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol hasil maserasi dari daun jarak kos-
ta merah (Jatropha gossypifolia Linn) dikisatkan dan disus-
pensikan dengan air kemudian diekstraksi dengan pengeks -
traksi dietil eter dan n-butanol dalam corong pisah, se -
lanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian.

Dari hasil pemisahan komponen kimia ekstrak meta -
nol menggunakan kromatografi lapis tipis dengan cairan pe-
ngelusi kloroform - metanol - air (15:6:1) diperoleh 10
noda dengan penampak noda larutan H_2SO_4 10% dan diperoleh
11 noda dengan menggunakan cairan pengelusi heksan - etil
asetat (7:3) penampak noda larutan H_2SO_4 10% (gambar 1 ta-
bel I). Ekstrak dietil eter dipisahkan komponen kimianya
dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan cairan
pengelusi heksan - etil asetat (9:1) diperoleh 11 noda,
dengan penampak noda larutan H_2SO_4 10% dan penampak noda
sinar UV λ 254 nm diperoleh 5 noda. Dengan cairan pengelu-
si heksan - etil asetat (8:2) diperoleh 11 noda dengan pe-
nampak noda larutan H_2SO_4 10% dan penampak noda sinar UV
 λ 254 nm diperoleh 5 noda. Dengan cairan pengelusi hek-
san - etil asetat (7:3) diperoleh 10 noda dengan penampak
noda larutan H_2SO_4 10% dan penampak noda sinar UV λ 254 nm
diperoleh 5 noda (gambar 2a, 2b dan tabel IIa, IIb). Eks-
trak n-butanol dipisahkan komponen kimianya dengan meng -
gunakan kromatografi lapis tipis dengan cairan pengelusi
kloroform - metanol - air (15 : 6 : 1) diperoleh 6 noda,

sedangkan dengan cairan pengelusi etil asetat - etanol - air (8:2:1) diperoleh 7 noda, masing-masing dengan penampak noda larutan H_2SO_4 10% (gambar 3 dan tabel III). Banyaknya noda yang dihasilkan pada pemisahan komponen kimia dengan kromatografi lapis tipis disebabkan oleh daya elusi dari cairan pengelusi yang bervariasi sesuai dengan kepolaran cairan pengelusi.

Ekstrak dietil eter yang diperoleh selanjutnya dipisahkan komponen kimianya dengan kromatografi kolom menggunakan adsorben silika gel G 60 dengan cairan pengelusi heksan - etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4), menghasilkan 3 isolat murni yaitu fraksi A, B dan C serta fraksi yang belum murni. Ketiga isolat murni tersebut dikristalkan dengan pelarut heksan dan ternyata isolat murni fraksi A dan C yang dapat mengkristal sedangkan isolat murni fraksi B tidak dapat mengkristal, hal ini mungkin disebabkan isolat murni fraksi B kadarnya terlalu kecil atau karena sifat dari senyawa tersebut yang tidak dapat mengkristal.

Analisis senyawa murni fraksi A dengan spektroskopi inframerah diperoleh adanya gugus -OH dengan pita lebar pada bilangan gelombang 3350 cm^{-1} , gugus C=O pada bilangan gelombang 1740 cm^{-1} , pita-pita pada bilangan gelombang 2900 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} dan 1450 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus alkil, sedangkan pita pada bilangan gelombang 1380 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-CH_3$. Sedangkan pada spektroskopi 1H -NMR menunjukkan adanya gugus $-CH_3$ pada δ 0,80 ppm, δ 0,93 ppm, δ 1,67 ppm (gambar 5 dan 7).

Analisis senyawa murni fraksi C dengan spektroskopi inframerah diperoleh adanya gugus -OH dengan pita kuat lebar pada bilangan gelombang 3400 cm^{-1} , gugus C=O pada bilangan gelombang 1750 cm^{-1} , ikatan rangkap C = C pada bilangan gelombang 1640 cm^{-1} , pita-pita pada bilangan gelombang 2900 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} dan 1450 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus alkil, gugus $-\text{CH}_3$ pada bilangan gelombang 1390 cm^{-1} . Sedangkan pada spektroskopi $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$ pada δ 0,77 ppm dan δ 0,86 ppm, gugus -OH pada δ 3,66 ppm dan gugus C=C pada δ 4,75 ppm (gambar 6 dan 8).

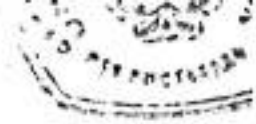
Penentuan struktur isolat murni fraksi A dan C belum dapat ditentukan secara tuntas, karena untuk penentuan struktur suatu senyawa diperlukan data yang lengkap dari spektroskopi lainnya sebagai pembandingan, misalnya data spektroskopi $^{13}\text{C-NMR}$ untuk menentukan jumlah dan sifat atom karbon dan spektroskopi massa untuk menentukan berat molekul suatu senyawa (M^+).

Selanjutnya isolat murni (fraksi A, B dan C) dan ekstrak metanol, ekstrak dietil eter, ekstrak n- butanol serta infus dilakukan uji daya hambat terhadap bakteri Streptococcus faecalis, Pseudomonas cocovenenans, serta Staphylococcus aureus dengan metode difusi menggunakan pencadangan besi dengan diameter 6 mm. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi bakteri 10^{-3} , berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dimana pengenceran suspensi bakteri 10^{-3} merupakan pengenceran terbaik, yang memperlihatkan

pertumbuhan koloni bakteri yang merata dan homogen setelah masa inkubasi 24 jam dan 48 jam.

Dari hasil uji daya hambat ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus (ekstrak air) serta isolat murni fraksi A, B dan C terhadap bakteri uji terlihat bahwa semua bakteri dapat dihambat pertumbuhannya (lihat tabel V), sedangkan daerah hambatan terbesar yang diberikan oleh setiap ekstrak dan senyawa murni terhadap bakteri uji dapat dilihat pada daftar di bawah ini (pengukuran dilakukan dalam mm).

Bahan	<u>Streptococcus</u> <u>faecalis</u>		<u>Pseudomonas</u> <u>cocovenenans</u>		<u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u>	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
	Ekstrak metanol	11,55	11,40	10,70	10,55	12,80
Ekstrak eter	10,25	10,15	10,70	10,55	13,15	13,15
Ekstrak n-butanol	9,75	9,60	11,25	11,35	11,85	11,75
Infus	10,25	10,20	12,15	12,00	11,30	11,25
Isolat A	12,25	12,20	12,90	12,90	15,15	15,15
Isolat B	11,15	11,05	8,65	8,60	10,85	10,75
Isolat C	11,10	10,95	12,45	12,35	12,95	12,95



Berdasarkan hasil uji mikrobiologis, ternyata semua ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang menghambat termasuk senyawa polar dan senyawa non polar. Demikian juga pada isolat murni fraksi A, B dan C dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan. Selanjutnya dari hasil uji tersebut terlihat bahwa ekstrak yang memberikan daerah hambatan yang terbesar adalah ekstrak dietil eter terhadap bakteri uji Staphylococcus aureus (13,15 mm), sedangkan untuk ekstrak metanol memberikan daerah hambatan yang terbesar pada bakteri uji Staphylococcus aureus (12,80 mm). Ekstrak n-butanol memberikan daerah hambatan yang terbesar pada bakteri uji Staphylococcus aureus (11,85 mm) dan infus (ekstrak air) memberikan daerah hambatan yang terbesar pada bakteri uji Pseudomonas cocovenenans (12,00 mm).

Dari hasil uji daya hambat senyawa murni fraksi A, B dan C terhadap bakteri uji terlihat bahwa senyawa murni fraksi A memberikan daerah hambatan yang terbesar terhadap bakteri uji Staphylococcus aureus (15,15 mm), selanjutnya senyawa murni fraksi B memberikan daerah hambatan yang terbesar terhadap bakteri uji Streptococcus faecalis (11,15mm), dan senyawa murni fraksi C memberikan daerah hambatan yang terbesar terhadap bakteri uji Staphylococcus aureus (12,95 mm).

Dari hasil perhitungan statistik menggunakan rancangan faktorial diperoleh hasil signifikan atau berbeda nyata pada derajat kepercayaan 5% dan 1% untuk perlakuan

bakteri, sampel dan interaksi antara bakteri dengan sampel. Sedangkan untuk perlakuan masa inkubasi, interaksi antara bakteri dengan masa inkubasi dan interaksi antara sampel dengan masa inkubasi diperoleh hasil non signifikan pada derajat kepercayaan 5% dan 1% (lampiran A). Hal ini berarti bahwa faktor bakteri, sampel dan interaksi antara bakteri dengan sampel berpengaruh sangat nyata terhadap diameter daerah hambatan.

Selanjutnya pada uji rentang Newman - Keuls diperoleh hasil, untuk perlakuan bakteri menunjukkan bahwa diameter daerah hambatan berbeda nyata pada setiap bakteri uji yang digunakan. Pada perlakuan sampel (ekstrak dan senyawa murni) menunjukkan hasil non signifikan atau tidak berbeda nyata pada S_4 lawan S_2 sedangkan antara perlakuan lainnya diperoleh hasil signifikan atau berbeda nyata. Selanjutnya pada perlakuan interaksi antara bakteri dan sampel menunjukkan bahwa pengaruh faktor B_1 dalam S_2 tidak berbeda nyata dengan faktor B_1 dalam S_4 pada diameter daerah hambatan yang diberikan, demikian juga halnya dengan B_1S_2 lawan B_1S_7 , B_2S_1 lawan B_2S_2 , B_3S_3 lawan B_3S_7 , sedangkan bentuk interaksi lainnya menunjukkan hasil signifikan atau berbeda nyata pada diameter daerah hambatan yang diberikan. Adanya beda nyata menunjukkan bahwa setiap bakteri berbeda kepekaannya terhadap setiap antibakteri, demikian juga setiap antibakteri mempunyai sifat menghambat bakteri yang berbeda

pula. Tidak berbeda nyata menunjukkan bahwa bakteri yang diinkubasi 24 jam dan 48 jam tidak berbeda kepekaannya terhadap antibakteri.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pada pengujian mikrobiologis ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Demikian juga pada isolat murni komponen fraksi A, B dan C dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.
2. Ekstrak dietil eter memberikan daerah hambatan yang terbesar pada Staphylococcus aureus (13,15 mm), demikian juga ekstrak metanol pada Staphylococcus aureus (12,80 mm), ekstrak n - butanol pada Staphylococcus aureus (11,85 mm) dan infus pada Pseudomonas cocovenenans (12,00 mm).
3. Isolat murni fraksi A memberikan daerah hambatan yang terbesar pada Staphylococcus aureus (15,15 mm), isolat murni fraksi B pada Streptococcus faecalis (11,15 mm) dan isolat murni fraksi C pada Staphylococcus aureus (12,95 mm).
4. Hasil kromatografi kolom dengan menggunakan adsorben silika gel G₆₀ dengan cairan pengelusi heksan - etil asetat (9:1 - 6:4) menghasilkan 3 isolat murni komponen fraksi A (176 - 293), fraksi B (318 - 404) dan fraksi C (476 - 557).

5. Komponen fraksi A mempunyai gugus $-OH$, gugus $-CH_3$, gugus $-CH_2-CH_2-$, gugus $C=O$, sedangkan komponen fraksi C mempunyai gugus $-OH$, gugus $C=O$, gugus $-C=C-$, gugus $-CH_3$, gugus $-CH_2-CH_2-$.

V.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa murni dari ekstrak n-butanol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dharma, A.P., (1985), " Tanaman Obat Tradisional Indonesia ", Penerbit PN Balai Pustaka, Jakarta, 14 - 19.
2. Heyne, K., (1950), " De Nuttige Planten Van Indonesia", Deel I, 3 e Druk, N.V. Uitgeverijw Van Hoeve's- Graven Hage, Bandung, 938.
3. Hardin, W.J., (1974), " Human Poisoning From Negative and Cultivated Plants ", Second edition, Durhan, North Carolina, 117.
4. Djuanda, A. dkk., (1987), " Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin ", Edisi pertama, Balai Penerbit FKUI, Jakarta, 20 - 21, 47.
5. Backer, C.A., (1965), " Flora of Java ", Volume II, N. V.P. Noordhoof Groningen - The Netherlands, 494
6. Steenis, C.G.G.J. Van, (1951), " Flora Voor De Scholen in Indonesia ", N.V. Noordhoof-Koeff, Jakarta, 234-244.
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1979), " Tanaman Obat Indonesia ", Jilid I, Jakarta, 29.
8. Darise, M., (1985), " Studies of Chemical Constituents of Natural Bitter and Sweet Principles ", Disertasi Doktor, Hiroshima University, Japan, 18, 19, 114, 115.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1986), " Sediaan Galenik ", Bakti Husada, Jakarta, 4 - 9.
10. Sudjadi, (1988), " Metode Pemisahan ", Penerbit Kani-sius, Yokyakarta, 60 - 62, 73 - 75, 167 - 173.

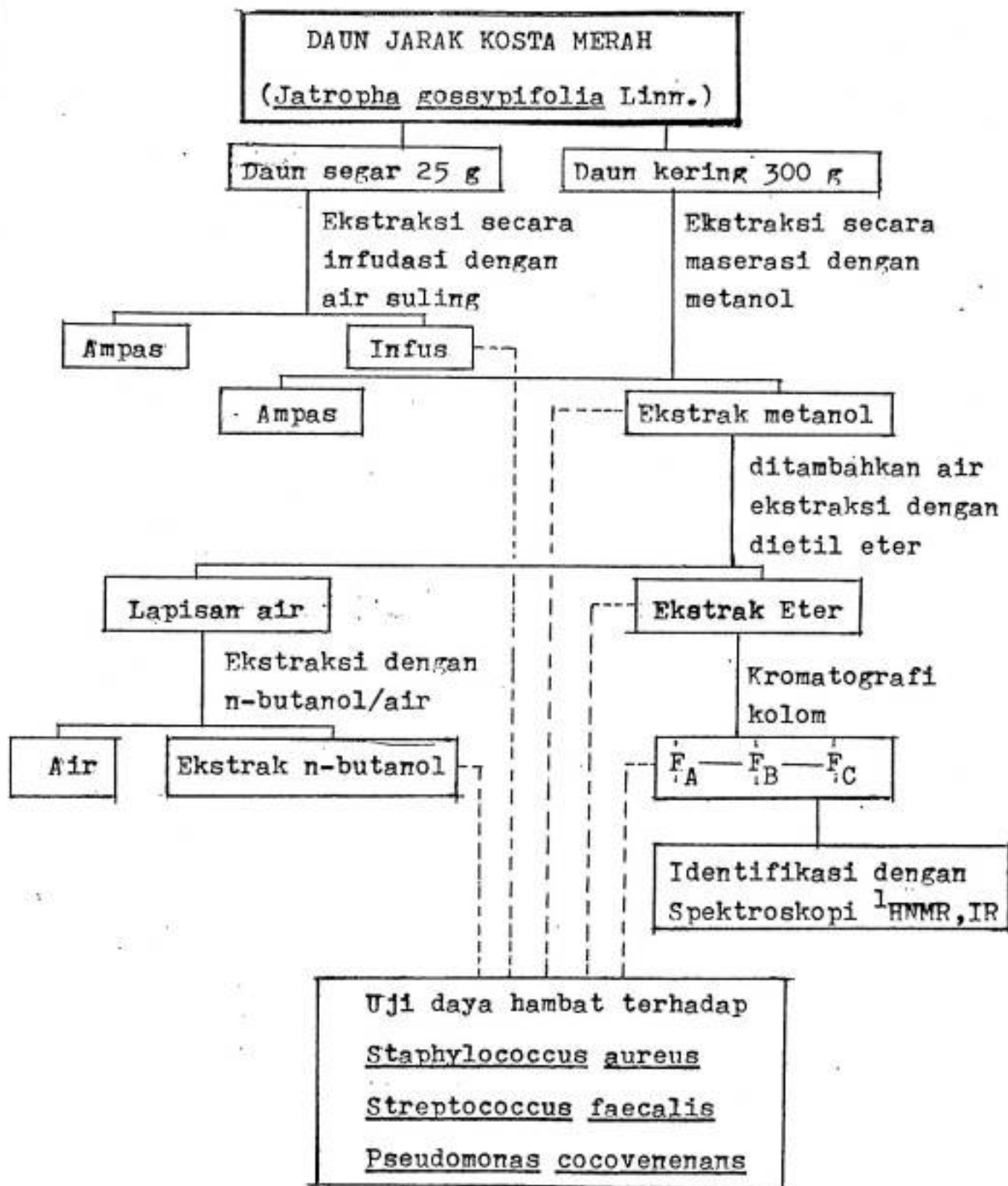


11. Harborne, J.B., (1973), " Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, Chapman and Hall, London, 4 - 12.
12. Sastrohamidjojo, H., (1985), " Kromatografi ", Penerbit Liberty, Yogyakarta, 6 - 12, 26 - 40.
13. Stahl, E., (1969), " Thin Layer Chromatography ", Laboratory Hand Book, Second edition, Springe Verlag Berlin Heidelberg, New York, 687 - 710.
14. Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Schwarting, A.E., (1985), " Pengantar Kromatografi ", Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi II, Penerbit ITB, Bandung, 1 - 10, 82 - 140, 160 - 170.
15. Dit.Jen.POM., (1979), " Farmakope Indonesia ", Edisi III, Departemen Kesehatan RI., Jakarta, hal 780-783.
16. Darise, M., (1985), " Chemical Constituents of Flowers of Stevia rebaudiana Bertoni, Agric. Biol. Chem. 47, 133 - 135.
17. Sudjadi, (1985), " Penentuan struktur senyawa organik ", Edisi IV, Penerbit Ghalia Indonesia, Jakarta, 128 - 174.
18. Sastrohamidjojo, H., (1985), " Spektroskopi ", Edisi I, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 45 - 183.
19. Jr, R.A. Day., dan Underwood, A.L. (1980), " Analisa Kimia Kuantitatif ", Edisi IV, Terjemahan oleh R.Soendoro (Eds), Penerbit Erlangga, Jakarta, 404, 416 - 421.
20. Gan, S. dkk., (1980), " Farmakologi dan Terapi ", Edisi 2, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 443.

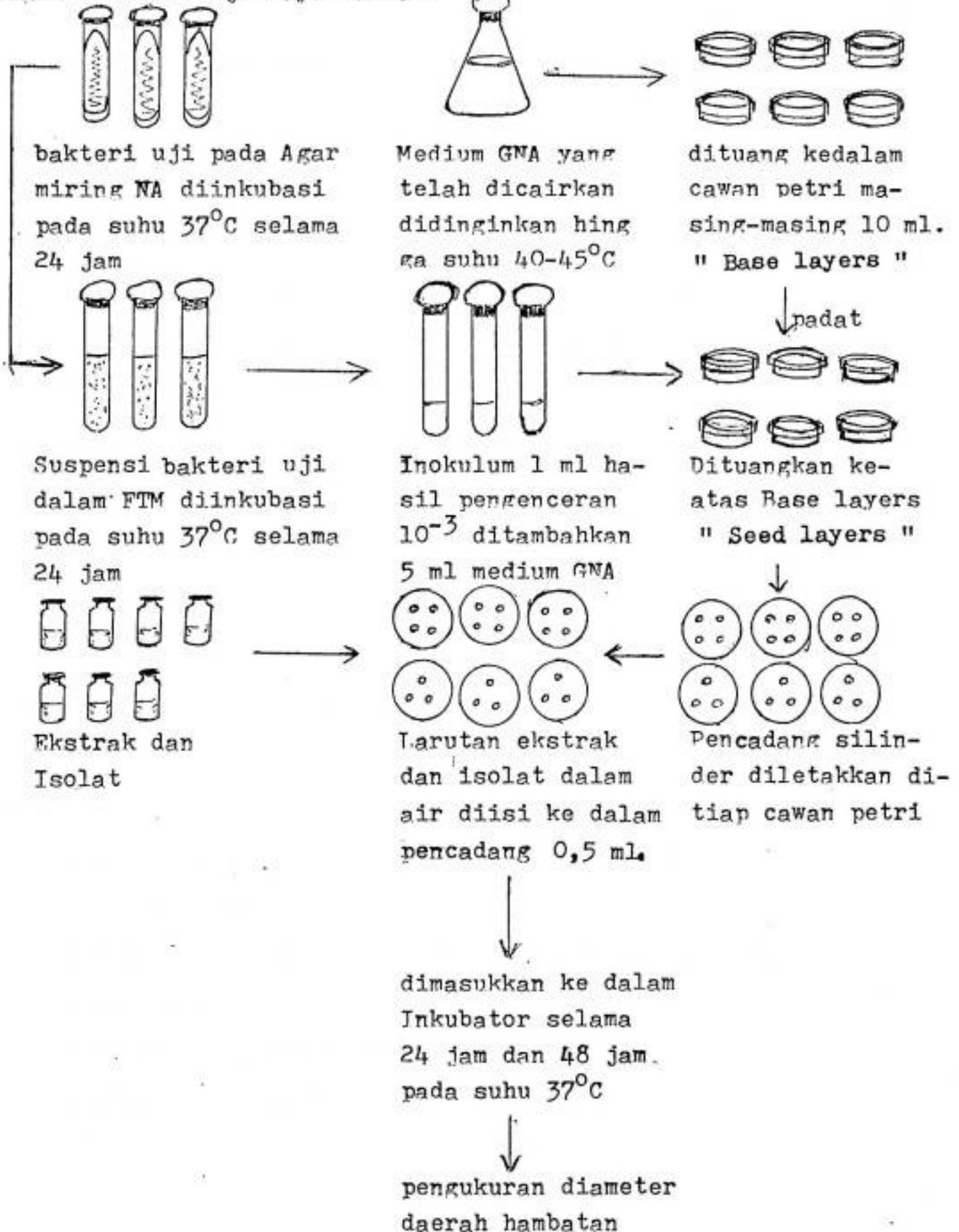
21. Barrows, W., (1968), " Text Book of Microbiology ", 19th Edition, W.B. Sanders Co., 187 - 207.
22. Hunter, P., (1977), " General Microbiology The Students Text Book ", The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 197 - 201.
23. Pelczar, M. dan Chan, E.C.S., (1977), " Laboratory Exercises in Microbiology ", 4th Edition, Mc - Graw Hill Book Company, New York, 243 - 250, 405 - 410.
24. Djide, M.M dan Sartini, (1990), " Mikrobiologi Farmasi Dalam Praktek ", Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, 3 - 5, 23 - 25.
25. Cappucino, J.G. dan Sherman, N., (1983), " Microbiology a Laboratory Manual ", Addison-Wesley Publishing Company, Menlo Park, California, 263 - 266.
26. Buchanan, R.E. et. al., (1974), " Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ", 8th Edition, The Williams and Wilkins Company-Baltimore, 290,296,320-321.
27. Dwijosoeputro, D., (1982), " Dasar-dasar Mikrobiologi ", Penerbit Djambatan, Malang, 108 - 109, 34 - 36.
28. Davis, B.D. dan Dulbecco, R., (1980), " Microbiology", Third Edition, Harper and Row Publisher, Inc., Philadelphia, 607, 623, 673.
29. Djide, M.N. dan Gobel, R.B., (1980), " Mikrobiologi Pangan ", Penuntun Praktek Laboratorium, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, ujung Pandang, 4 - 5.

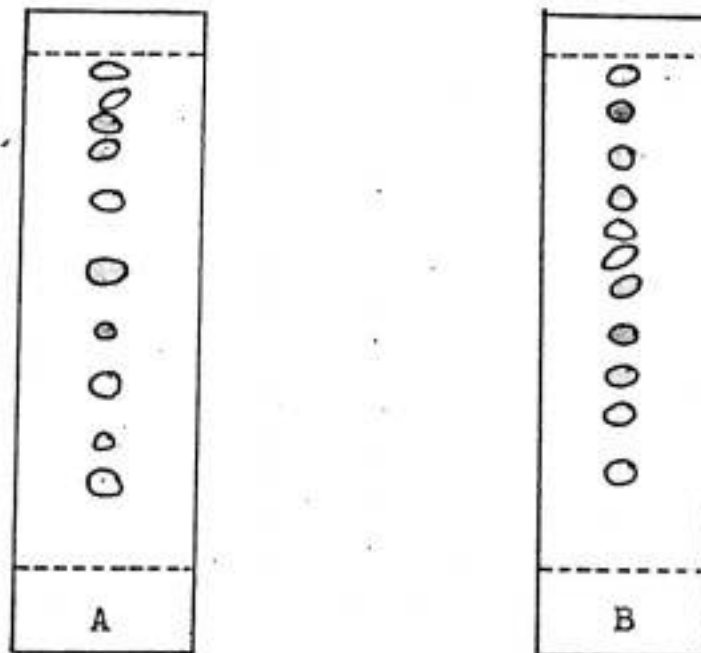
30. Hadioetomo, R.S., (1985), " Mikrobiologi Dalam Praktek ", Penerbit PT. Gramedia, Jakarta, 53 - 56, 124-133, 153.
31. Wattimena, J.R dan Siregar, C.J.P., (1986), "Beberapa Aspek Pokok Pengujian Mutu Perbekalan Farmasi ", Penerbit PT. Intergrafika, Bandung, 209, 236.

SKEMA PENGGERJAAN



Bagan Prosedur Uji Daya Hambat





Gambar 1. Hasil kromatografi lapis tipis
ekstrak metanol secara maserasi

Keterangan :

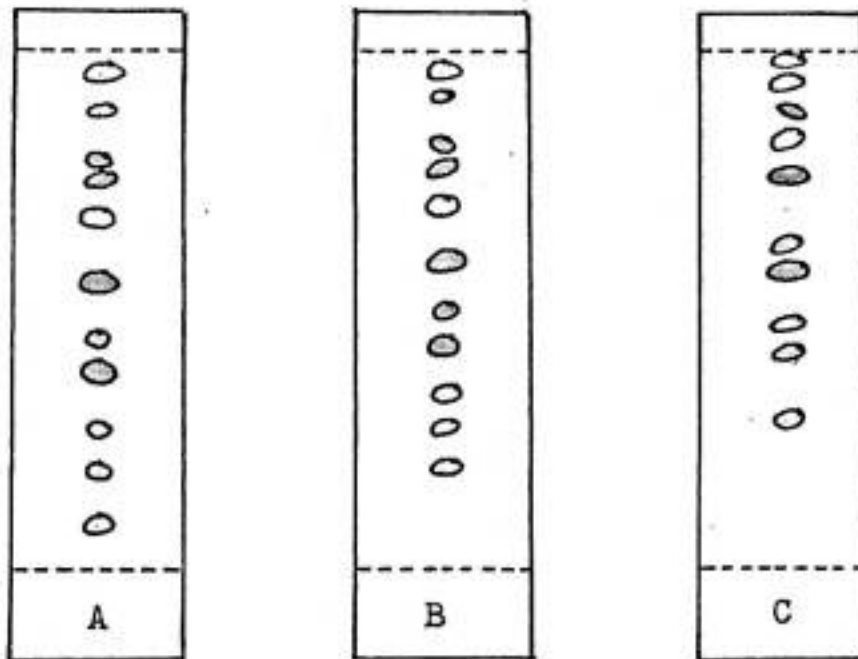
A = Cairan pengelusi Kloroform - metanol - air
(15 : 6 : 1)

B = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (7 : 3)

Penampak noda H_2SO_4 10 %

Adsorben silika gel 60 F-254

Ukuran lempeng 7,5 x 2 cm



Gambar 2a. Hasil kromatografi lapis tipis
Ekstrak Dietil eter

Keterangan :

A = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (9 : 1)

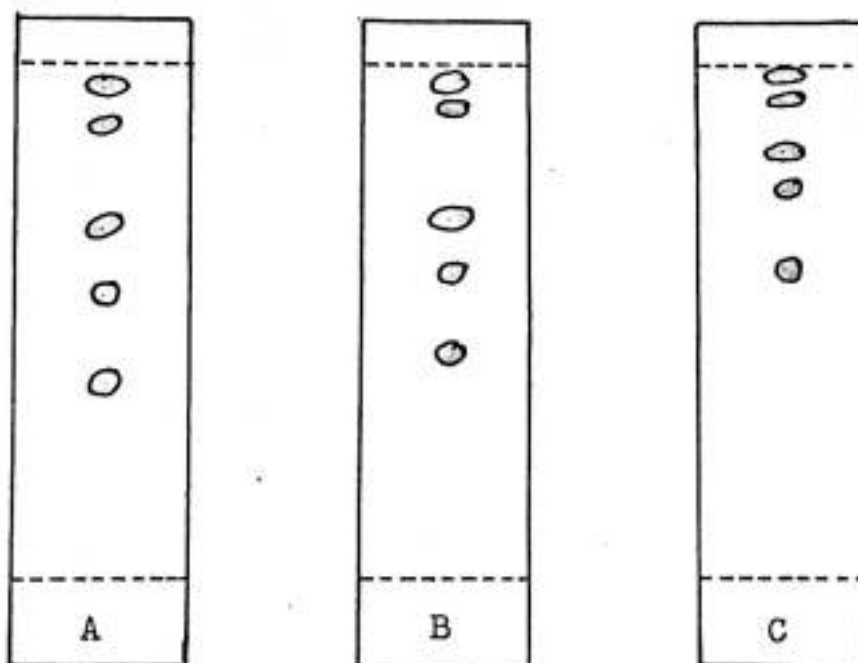
B = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (8 : 2)

C = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (7 : 3)

Penampak noda H_2SO_4 10 %

Adsorben silika gel 60 F-254

Ukuran lempeng 7,5 x 2 cm



Gambar 2b. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter

Keterangan :

A = Cairan pengelusi heksan - etil asetat (9 : 1)

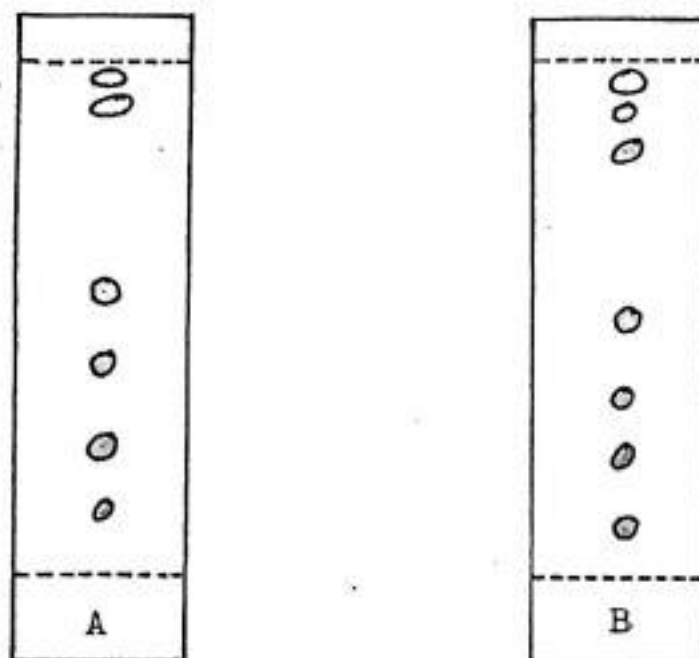
B = Cairan pengelusi heksan - etil asetat (8 : 22)

C = Cairan pengelusi heksan - etil asetat (7 : 3)

Penampak noda sinar UV λ - 254 nm

Adsorben silika gel 60 F-254

Ukuran lempeng 7,5 x 2 cm



Gambar 3. Hasil kromatografi lapis tipis
ekstrak n-butanol

Keterangan :

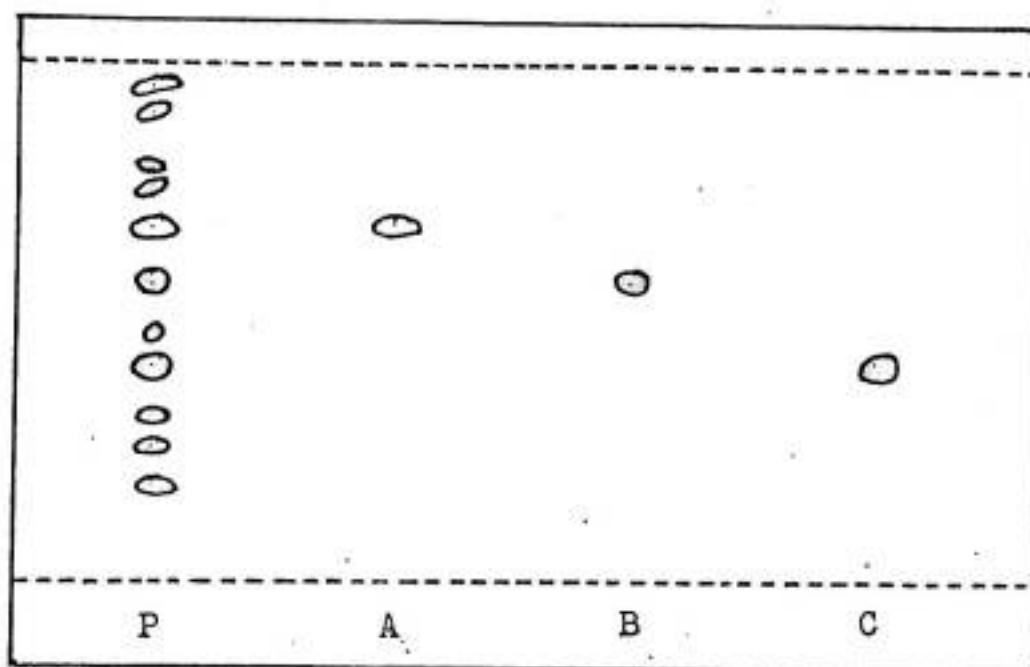
A = Cairan pengelusi Kloroform - metanol - air
(15 : 6 : 1)

B = Cairan pengelusi etil asetat - etanol - air
(8 : 2 : 1)

Penampak noda H_2SO_4 10 %

Adsorben silika gel 60 F-254

Ukuran lempeng 7,5 x 2 cm



Gambar 4. Hasil kromatografi lapis tipis fraksi-fraksi pada kromatografi kolom ekstrak eter

Keterangan :

A = Fraksi 176 - 293

B = Fraksi 318 - 404

C = Fraksi 476 - 557

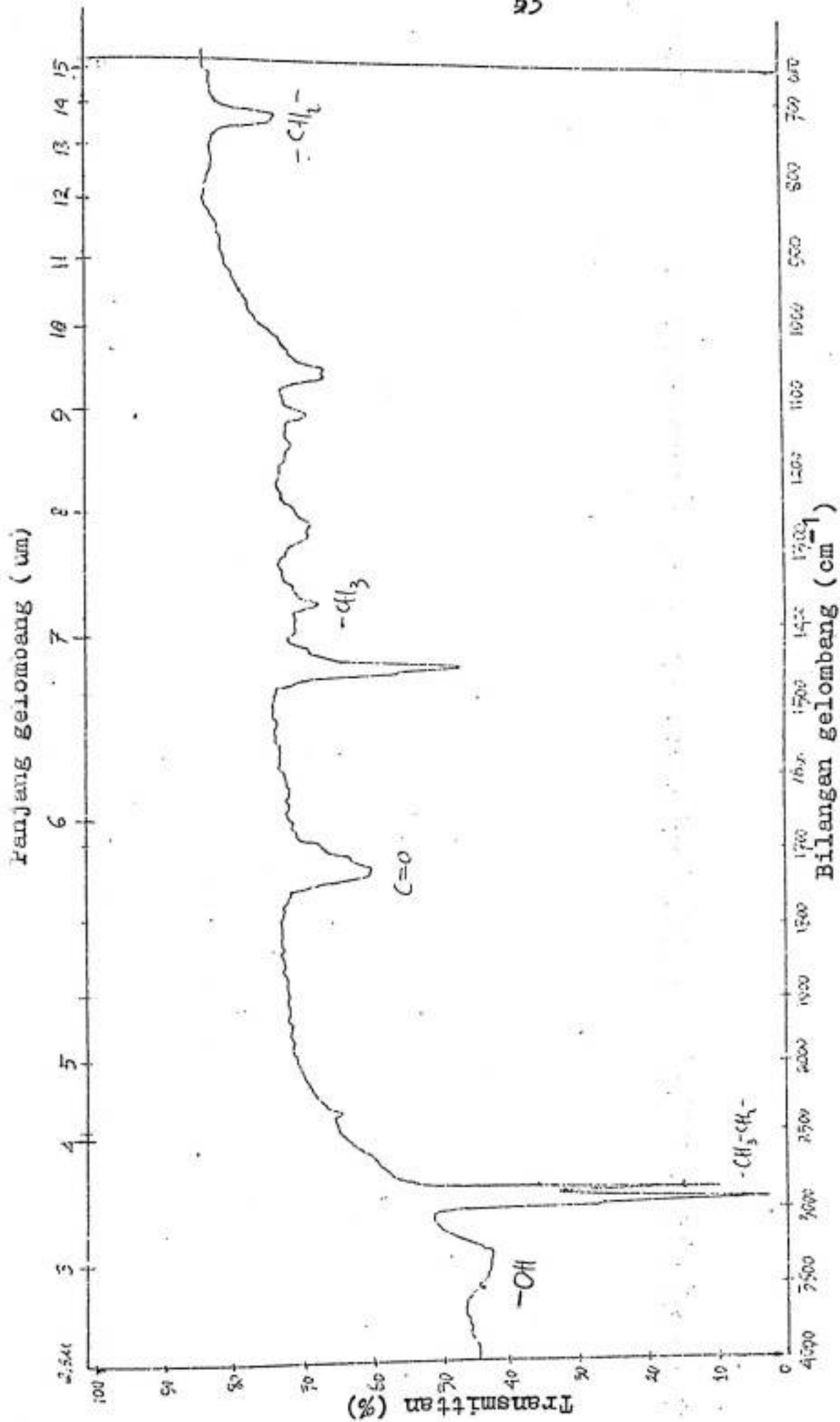
P = Pembanding

Cairan pengelusi heksan - etil asetat (8 : 2)

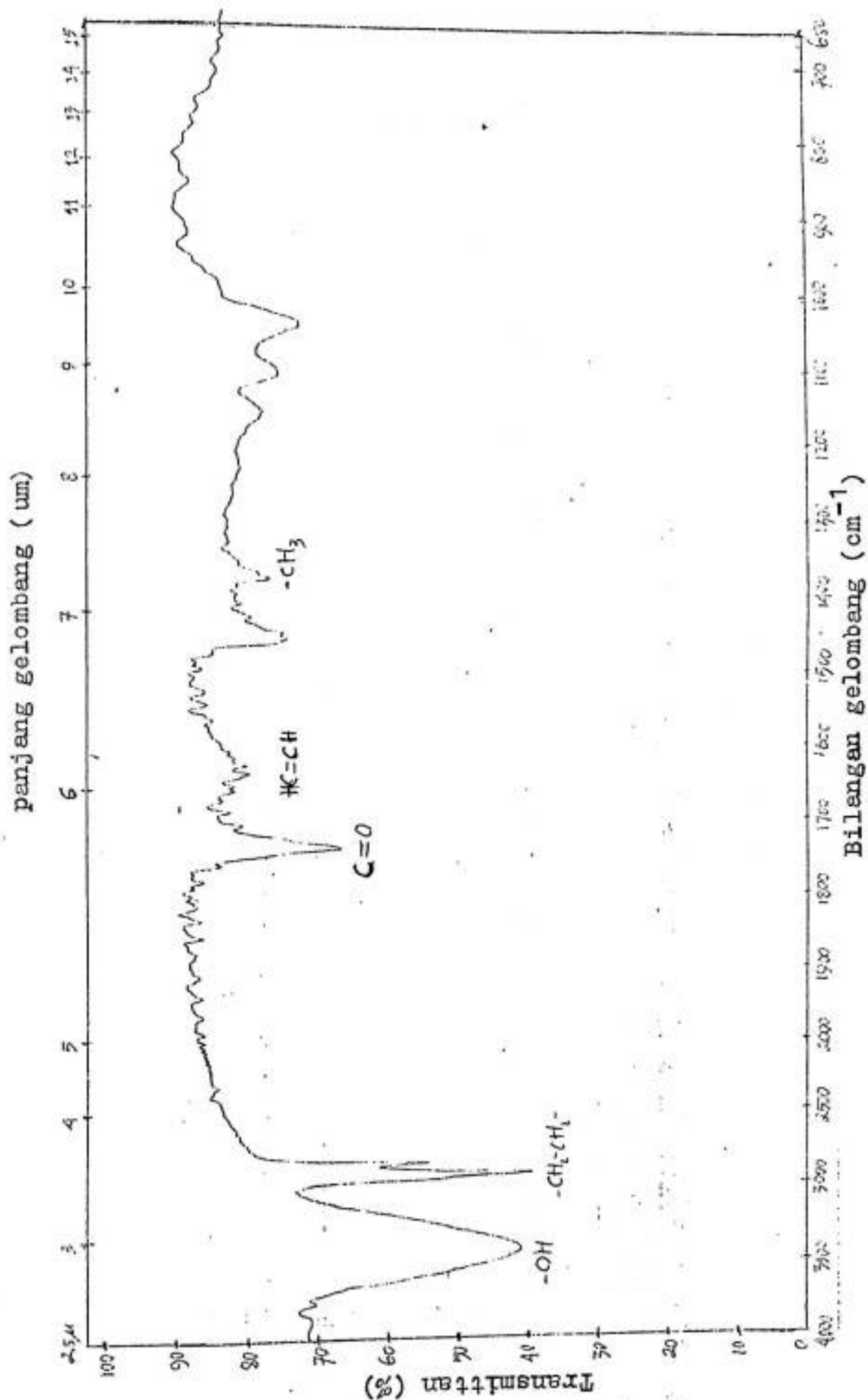
Penampak noda H_2SO_4 10 %

Adsorben silika gel 60 F-254

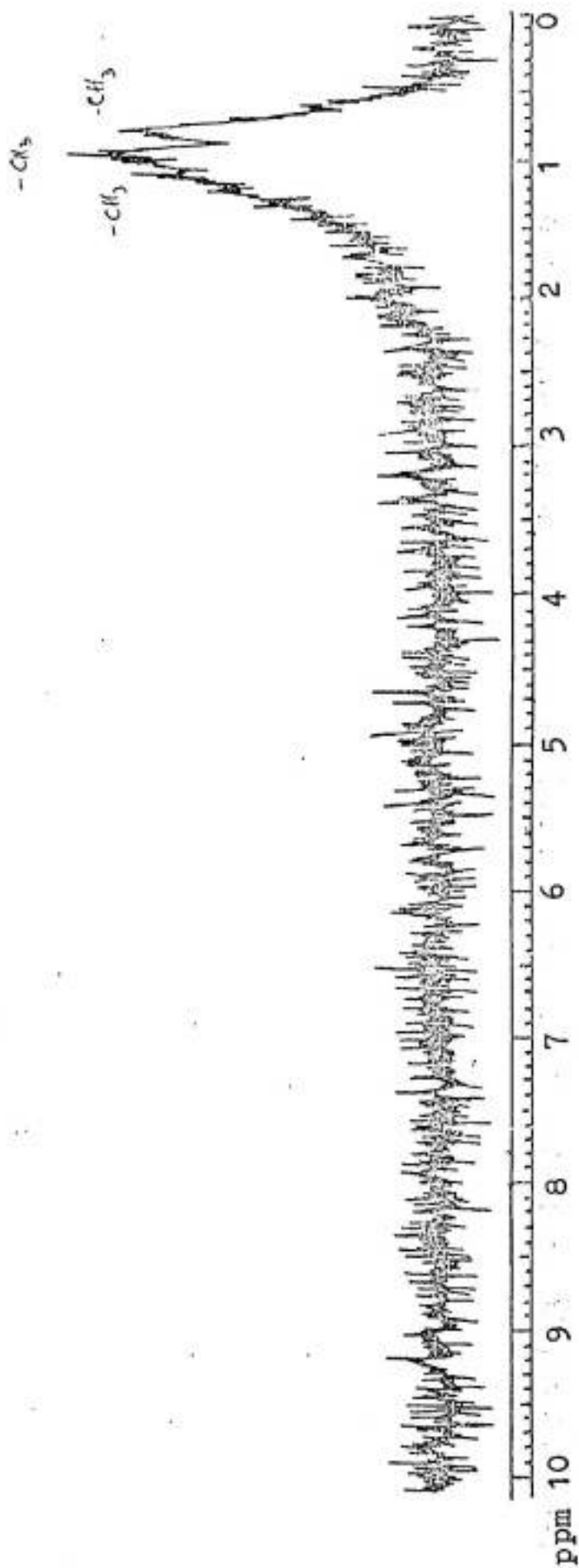
Ukuran lempeng 7,5 x 12



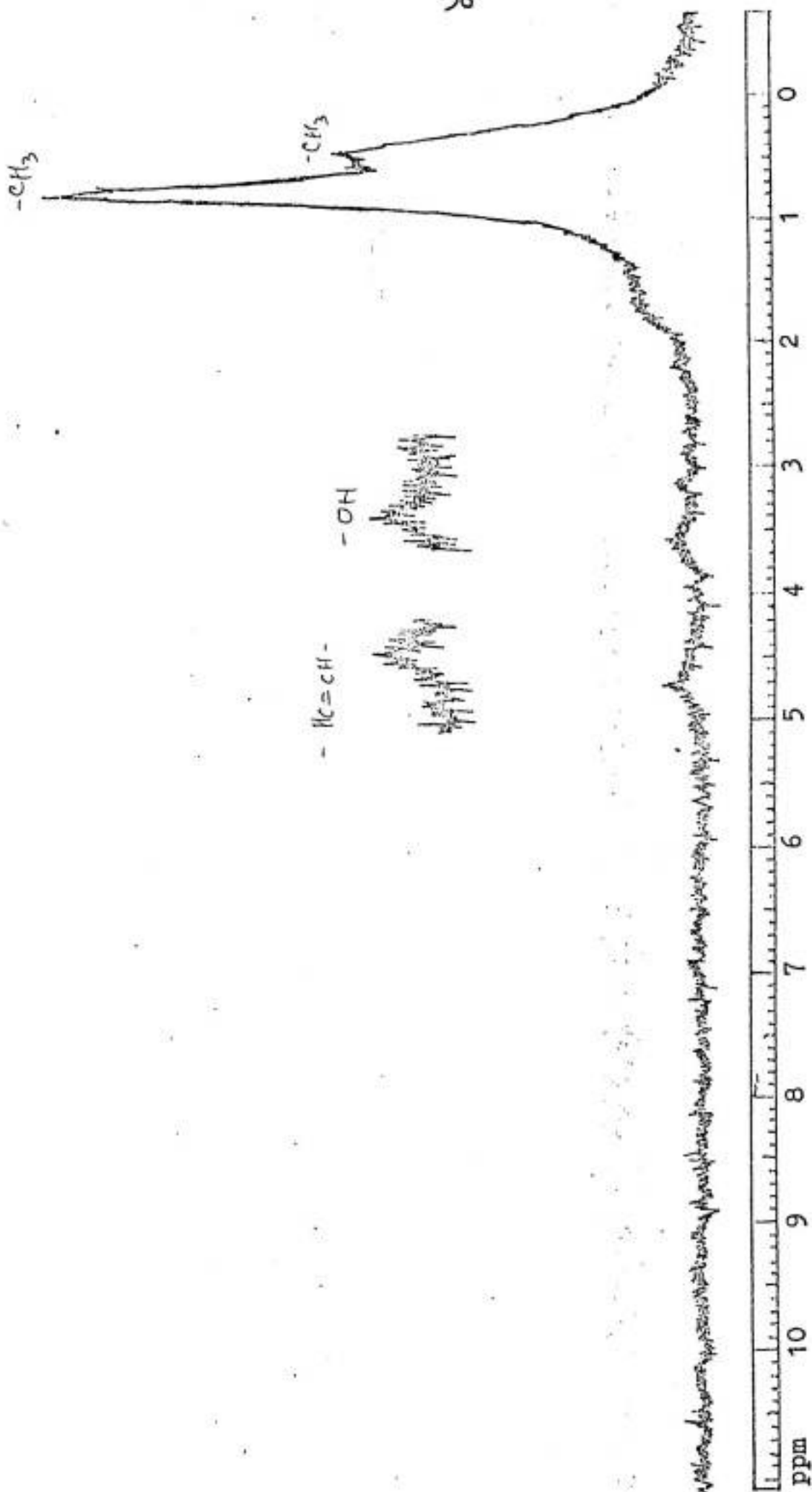
Gambar 5. Data spektrum spektroskopi inframerah fraksi A ekstrak dietil eter dalam pelet KBr



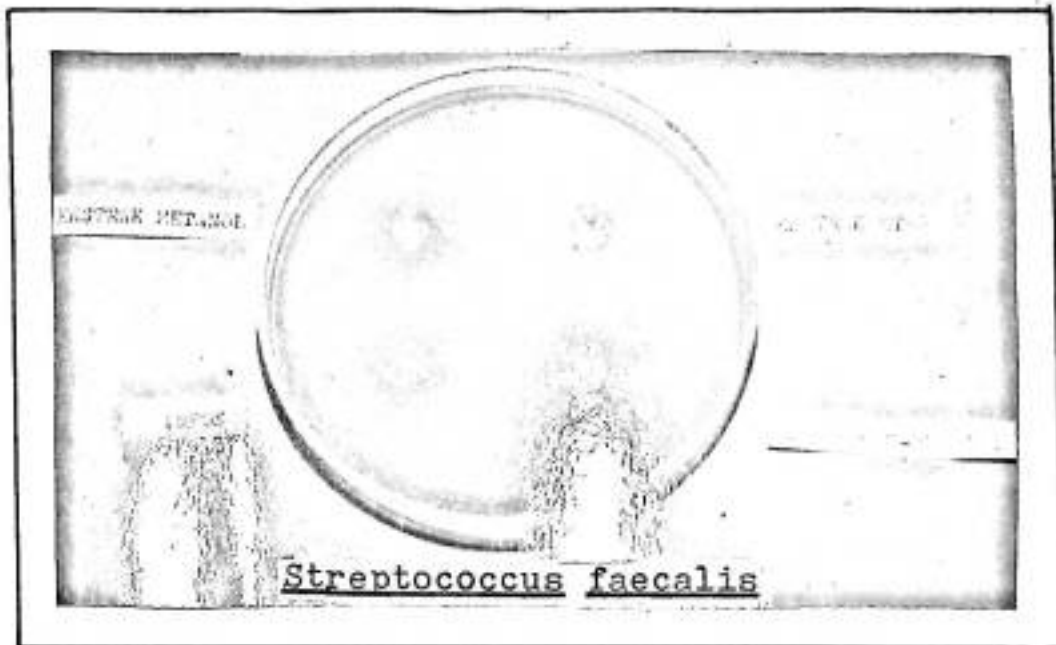
Gambar 6. Data spektrum spektroskopi inframerah fraksi C ekstrak dietil eter dalam pelet KBr



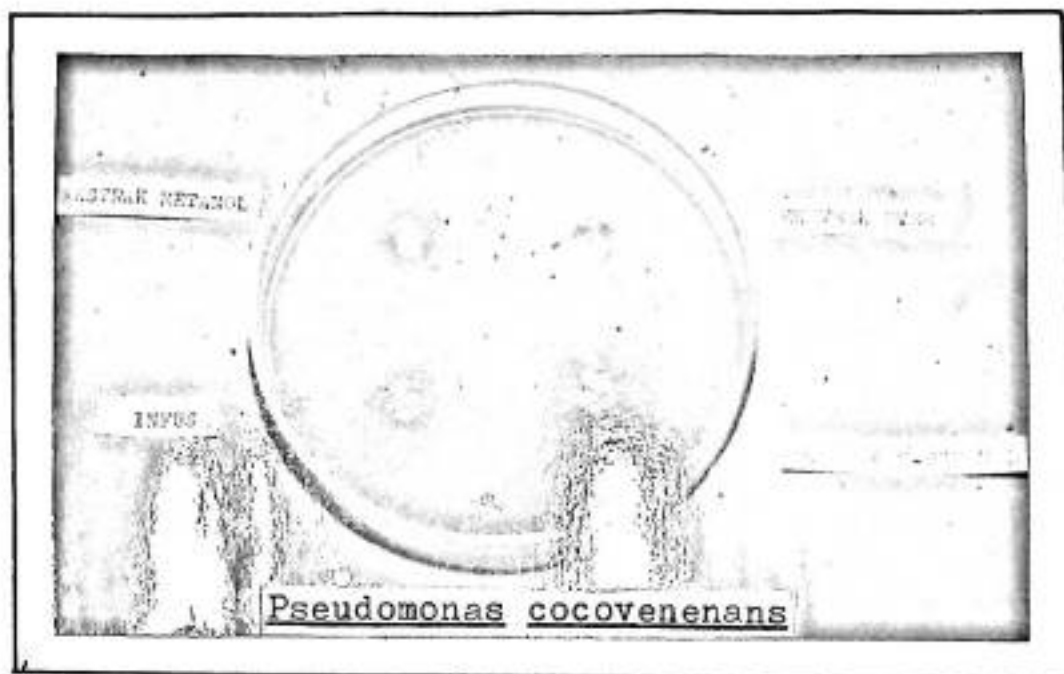
Gambar 7. Data spektrum spektroskopi ^1H NMR fraksi A
ekstrak dietil eter dalam pelarut CCl_4



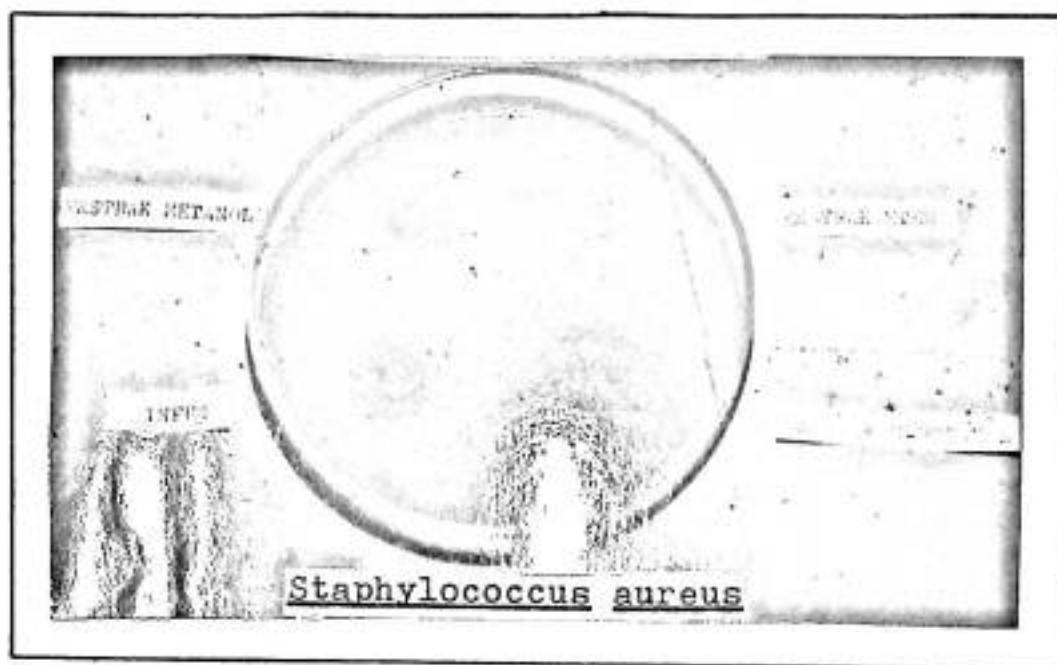
Gambar 8. Data spektrum spektroskopi ^1H NMR fraksi C ekstrak dietil eter dalam pelarut CCl_4 .



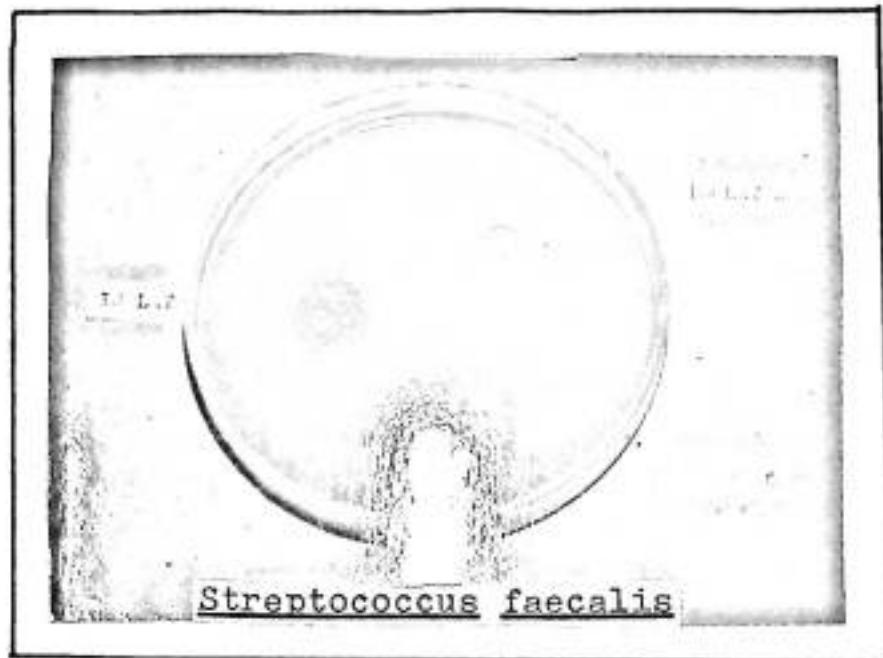
Gambar 9. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus terhadap Streptococcus faecalis masa inkubasi 48 jam.



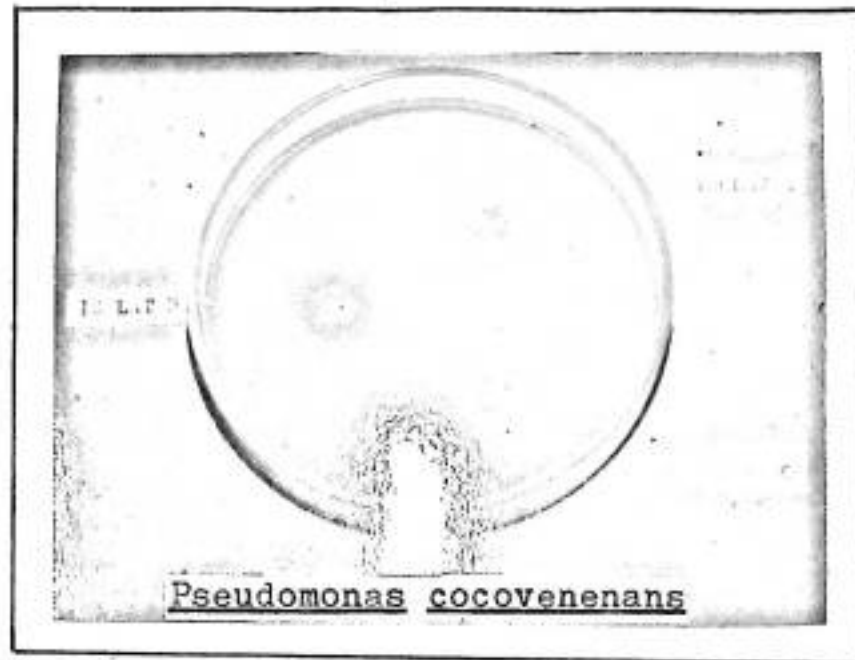
Gambar 10. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus terhadap Pseudomonas cocovenenans masa inkubasi 48 jam.



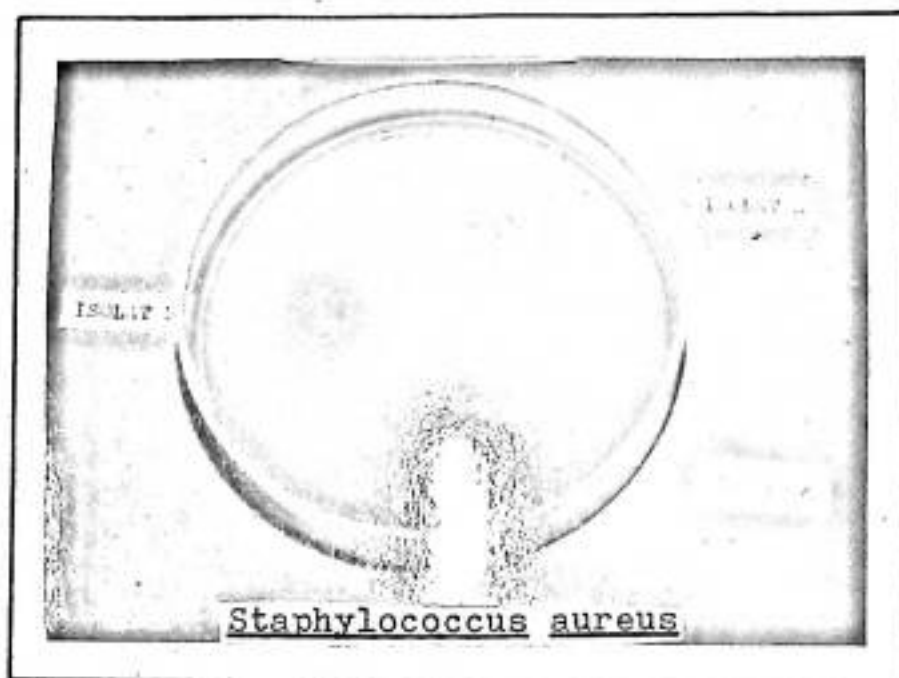
Gambar 11. Hasil pengamatan daerah hambatan ekstrak metanol, dietil eter, n-butanol dan infus terhadap Staphylococcus aureus masa inkubasi 48 jam.



Gambar 12. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B, dan C terhadap Streptococcus faecalis masa inkubasi 48 jam.



Gambar 13. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B dan C terhadap Pseudomonas cocovenenans masa inkubasi 48 jam.



Gambar 14. Hasil pengamatan daerah hambatan isolat A, B dan C terhadap Staphylococcus aureus masa inkubasi 48 jam.

Tabel I. Hasil kromatografi lapis tipis
ekstrak metanol secara maserasi

Nomor noda	Penampak noda H ₂ SO ₄ 10 %			
	Rf		Warna noda	
	A	B	A	B
1.	0,96	0,96	Hijau	Hijau muda
2.	0,91	0,89	Hijau	Hijau tua
3.	0,86	0,80	Hijau tua	Ungu
4.	0,81	0,72	Ungu	Ungu
5.	0,71	0,66	Kuning	Kuning
6.	0,56	0,61	Merah	Merah
7.	0,45	0,55	Ungu	Ungu
8.	0,35	0,46	Kuning	Merah
9.	0,25	0,38	Kuning	Hijau
10.	0,16	0,30	Hijau	Hijau
11.		0,19		Hijau

Keterangan :

A = Cairan pengelusi Kloroform - metanol - air
(15 : 6 : 1)

B = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (7 : 3)

Tabel IIa. Hasil kromatografi lapis tipis
ekstrak dietil eter

Nomor noda	Penampak noda H ₂ SO ₄ 10 %					
	Rf			Warna noda		
	A	B	C	A	B	C
1.	0,96	0,96	0,98	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda
2.	0,88	0,90	0,93	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda
3.	0,78	0,80	0,88	Hijau tua	Hijau tua	Hijau tua
4.	0,73	0,76	0,83	Hijau tua	Hijau tua	Kuning
5.	0,67	0,69	0,75	Kuning	Kuning	Merah
6.	0,55	0,58	0,68	Merah	Merah	Ungu
7.	0,43	0,48	0,60	Ungu	Ungu	Merah
8.	0,37	0,42	0,54	Merah	Merah	Hijau
9.	0,27	0,33	0,48	Hijau	Hijau	Hijau
10.	0,19	0,26	0,44	Hijau	Hijau	Hijau
11.	0,08	0,18		Hijau	Hijau	

Keterangan :

A = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (9 : 1)

B = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (8 : 2)

C = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (7 : 3)

Tabel IIB. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak dietil eter

Nomor noda	Penampak noda sinar UV					
	Rf			Warna noda		
	A	B	C	A	B	C
1.	0,96	0,96	0,98	Ungu	Ungu	Ungu
2.	0,88	0,90	0,93	Ungu	Ungu	Ungu
3.	0,67	0,69	0,83	Ungu	Ungu	Ungu
4.	0,55	0,58	0,75	Ungu	Ungu	Ungu
5.	0,37	0,42	0,60	Ungu	Ungu	Ungu

Keterangan :

A = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (9 : 1)

B = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (8 : 2)

C = Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (7 : 3)

Tabel III. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak n-butanol

Nomor noda	Penampak noda H_2SO_4 10 %			
	Rf		Warna noda	
	A	B	A	B
1.	0,96	0,96	Hijau	Hijau
2.	0,93	0,90	Kuning	Kuning
3.	0,55	0,83	Merah	Ungu
4.	0,41	0,48	Ungu	Merah
5.	0,25	0,35	Hijau tua	Ungu
6.	0,12	0,23	Hijau tua	Hijau tua
7.		0,10		Hijau tua

Keterangan :

A = Cairan pengelusi Kloroform - metanol - air
(15 : 6 : 1)

B = Cairan pengelusi Etil asetat - etanol - air
(8 : 2 : 1)

Tabel IV. Hasil kromatografi lapis tipis
fraksi-fraksi pada kromatografi
kolom ekstrak dietil eter

Fraksi	Jumlah noda	Rf	Warna noda
A.	1	0,69	Kuning
B.	1	0,58	Merah
C.	1	0,42	Merah

Keterangan :

A = Fraksi 176 - 293

B = Fraksi 318 - 404

C = Fraksi 476 - 557

Cairan pengelusi Heksan - etil asetat (8 : 2)

Penampak noda H_2SO_4 10 %

Adsorben silika gel 60 F-254

Tabel V. Hasil pengamatan diameter hambatan (mm).

Molase	p 1		p 2		p 3		Jumlah	Rata-rata
	W 1	W 2	W 1	W 2	W 1	W 2		
S ₁	I. 11,55	11,40	10,70	10,95	12,80	12,65		
	II. 11,35	11,25	10,65	10,50	12,60	12,50		
	III. 11,35	11,30	10,65	10,55	12,80	12,75		
Jumlah	34,25	33,95	32,00	32,00	38,20	37,90	207,50	
Rata-rata	11,416	11,316	10,66	10,666	12,733	12,633		11,527
S ₂	I. 10,15	10,10	10,60	10,50	13,05	12,95		
	II. 9,95	9,85	10,70	10,55	13,15	13,10		
	III. 10,25	10,15	10,45	10,40	13,15	13,15		
Jumlah	30,35	30,10	31,75	31,45	39,35	39,20	207,20	
Rata-rata	10,116	10,033	10,583	10,483	13,116	13,066		11,232
S ₃	I. 9,75	9,60	10,50	11,35	11,80	11,60		
	II. 9,55	9,45	11,25	11,10	11,65	11,50		
	III. 9,55	9,40	11,00	10,95	11,85	11,75		
Jumlah	28,85	28,45	32,75	33,40	35,30	34,85	194,60	
Rata-rata	9,616	9,483	10,916	11,133	11,766	11,616		10,755
S ₄	I. 10,20	10,05	11,85	11,80	11,90	11,75		
	II. 10,25	10,15	12,15	12,00	11,20	11,05		
	III. 10,20	10,20	11,65	11,65	11,10	11,05		
Jumlah	30,65	30,40	35,65	35,45	33,60	33,85	109,1	
Rata-rata	10,216	10,133	11,883	11,816	11,20	11,116		11,060
S ₅	I. 12,20	12,15	12,90	12,90	15,15	15,15		
	II. 12,25	12,20	12,80	12,75	15,00	14,95		
	III. 12,10	12,00	12,80	12,80	14,90	14,85		
Jumlah	36,55	36,35	38,50	38,45	45,05	44,95	239,85	
Rata-rata	12,183	12,116	12,833	12,816	15,016	14,983		17,324
S ₆	I. 11,05	10,95	8,65	8,45	10,85	10,75		
	II. 11,10	11,00	8,60	8,50	10,70	10,65		
	III. 11,15	11,05	8,65	8,60	10,95	10,90		
Jumlah	33,30	33,00	25,90	25,55	32,50	32,30	181,65	
Rata-rata	11,10	11,00	8,63	8,516	10,83	10,766		10,891
S ₇	I. 11,10	10,95	12,60	12,30	12,85	12,85		
	II. 10,95	10,85	12,65	12,60	12,85	12,85		
	III. 10,90	10,85	12,65	12,35	12,95	12,95		
Jumlah	32,95	32,65	37,90	37,25	38,65	38,65	239,20	
Rata-rata	10,983	10,883	12,633	12,416	12,883	12,883		12,066
Jumlah	226,00	229,2	232,55	232,72	261,25	260,72		
berat	451,6		466,3		523		1661,1	
Rata-rata	10,804	10,709	11,121	11,082	12,487	12,416		11,436

Keterangan : P 1 : *Sirapatorococcus faecalis* S₁ : Molase MolaseP 2 : *Enterococcus faecium* S₂ : Molase KlerP 3 : *Staphylococcus aureus* S₃ : Molase n-butanolW 1 : Waktu 20 jam S₄ : InfusW 2 : Waktu 48 jam S₅ : Isolet AS₇ : Isolet C S₆ : Isolet B

Tabel VI. Perhitungan untuk Histogram

Rata-rata diameter hambatan yang terbesar 15,016 mm,
 $\frac{15,016}{150} = 0,1001$; jadi harga tiap skala grafik = 0,1001
 untuk 11,416 yaitu $11,416/0,1001 = 114$ dan seterusnya.

Pengamatan 24 jam

	B_1	B_2	B_3
S_1	11,416 = 114	10,60 = 105,8	12,733 = 127,2
S_2	10,116 = 101	10,583 = 105,7	13,116 = 131
S_3	9,616 = 96	10,916 = 109	11,766 = 117,5
S_4	10,216 = 102	11,883 = 118,7	11,20 = 111,8
S_5	12,183 = 121,7	12,833 = 128,2	15,016 = 150
S_6	11,10 = 110,8	8,60 = 85,9	10,70 = 106,8
S_7	10,983 = 109,7	12,433 = 124,2	12,883 = 128,7



Pengamatan 48 jam

	B ₁	B ₂	B ₃
S ₁	11,316 = 113	10,466 = 104,5	12,633 = 126,2
S ₂	10,033 = 100,2	10,483 = 104,7	13,066 = 130,5
S ₃	9,483 = 94,7	11,133 = 111,2	11,616 = 116
S ₄	10,133 = 101,2	11,816 = 118	11,116 = 111
S ₅	12,116 = 121	12,816 = 128	14,983 = 149,7
S ₆	11,00 = 109,9	8,516 = 85	10,633 = 106,2
S ₇	10,883 = 108,7	12,35 = 123,3	12,866 = 128,5

Keterangan :

- B₁ : Streptococcus faecalis S₃ : Ekstrak n-butanol
 B₂ : Pseudomonas cocovenenans S₄ : Infus
 B₃ : Staphylococcus aureus S₅ : Isolat A
 S₁ : Ekstrak Metanol S₆ : Isolat B
 S₂ : Ekstrak Eter S₇ : Isolat C

LAMPIRAN A

Hasil perhitungan statistik diameter zone hambatan ekstrak dan isolat terhadap bakteri Streptococcus faecalis, Pseudomonas cocovenenans dan Staphylococcus aureus masa inkubasi 24 jam dan 48 jam dengan menggunakan rancangan faktorial $3 \times 2 \times 7$

Daftar b x w x s

S	B ₁		B ₂		B ₃	
	W ₁	W ₂	W ₁	W ₂	W ₁	W ₂
S ₁	34,25	33,95	31,80	31,40	38,20	37,90
S ₂	30,35	30,10	31,75	31,45	39,35	39,20
S ₃	28,85	28,45	32,75	33,40	35,30	34,85
S ₄	30,65	30,40	35,65	35,45	33,60	33,35
S ₅	36,55	36,35	38,50	38,45	45,05	44,95
S ₆	33,30	33,00	25,80	25,55	32,10	31,90
S ₇	32,95	32,65	37,30	37,05	38,65	38,60

Daftar b x s

S \ B	B ₁	B ₂	B ₃
S ₁	68,20	63,20	76,10
S ₂	60,45	63,20	78,55
S ₃	57,30	66,15	70,15
S ₄	61,05	71,10	66,95
S ₅	72,90	76,95	90,00
S ₆	66,30	51,35	64,00
S ₇	65,60	74,35	77,25

Daftar w x s

S \ W	W ₁	W ₂
S ₁	104,25	103,25
S ₂	101,45	100,75
S ₃	96,90	96,70
S ₄	99,90	99,20
S ₅	120,10	119,75
S ₆	91,20	90,45
S ₇	108,90	108,30

Daftar b x w

W \ B	B ₁	B ₂	B ₃
W ₁	226,90	233,55	262,25
W ₂	224,90	232,75	260,75

Keterangan :

B₁ = Bakteri Streptococcus faecalis

B₂ = Bakteri Pseudomonas cocovenenans

B₃ = Bakteri Staphylococcus aureus

W₁ = masa inkubasi 24 jam

W₂ = masa inkubasi 48 jam

S₁ = Ekstrak metanol

S₂ = Ekstrak dietil eter

S₃ = Ekstrak n-butanol

S₄ = Infus

S₅ = Isolat A

S₆ = Isolat B

S₇ = Isolat C

$$\begin{aligned}
Y^2 &= \sum_{ijk} Y^2_{ijk} \\
&= (11,55)^2 + (11,35)^2 + (11,35)^2 + \dots + (12,80)^2 + \\
&\quad (12,85)^2 + (12,95)^2 \\
&= 16728,82 \\
RY &= \frac{J^2_{\dots}}{rbs} = \frac{(1441,1)^2}{3 \times 3 \times 2 \times 7} = 16482,295 \\
BY &= \frac{J^2_{i..}}{rws} - RY \\
&= \frac{(451,8)^2 + (466,3)^2 + (532)^2}{3 \times 2 \times 7} - 16482,295 \\
&= 16549,712 - 16482,295 = 67,417 \\
WY &= \frac{J^2_{.j.}}{rbs} - RY \\
&= \frac{(722,7)^2 + (718,4)^2}{3 \times 3 \times 7} - 16482,295 \\
&= 16482,342 - 16482,295 = 0,046 \\
SY &= \frac{J^2_{\dots k}}{rbw} - RY \\
&= \frac{(207,5)^2 + (202,2)^2 + \dots + (181,5)^2 + (217,2)^2}{3 \times 3 \times 2} - RY \\
&= 16597,969 - 16482,295 \\
&= 115,674 \\
JBW &= \frac{J^2_{ij.}}{rs} - RY \\
&= \frac{(226,9)^2 + (233,55)^2 + \dots + (232,75)^2 + (260,75)^2}{3 \times 7} - RY \\
&= 16549,876 - 16482,295 \\
&= 67,581
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBS} &= \frac{J^2_{1,k}}{r_w} - RY \\
 &= \frac{(68,2)^2 + (60,45)^2 + \dots + (64)^2 + (77,25)^2}{3 \times 2} - RY \\
 &= 16727,175 - 16482,295 \\
 &= 244,88
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JWS} &= \frac{J^2_{1,k}}{r_b} - RY \\
 &= \frac{(104,25)^2 + (101,45)^2 + \dots + (90,45)^2 + (108,3)^2}{3 \times 3} - RY \\
 &= 16598,139 - 16482,295 \\
 &= 115,844
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JBWS} &= \frac{J^2_{1,k}}{r} - RY \\
 &= \frac{(34,25)^2 + (30,35)^2 + \dots + (31,9)^2 + (38,6)^2}{3} - RY \\
 &= 16727,468 - 16482,295 \\
 &= 245,191
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BWY} &= \text{JBW} - \text{BY} - \text{WY} \\
 &= 67,581 - 67,417 - 0,147 \\
 &= 0,017
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BSY} &= \text{JBS} - \text{BY} - \text{SY} \\
 &= 244,88 - 67,417 - 115,674 \\
 &= 61,789
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{WSY} &= \text{JWS} - \text{WY} - \text{SY} \\
 &= 115,844 - 0,147 - 115,674 \\
 &= 0,023
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BWSY &= JBWS - BY - WY - SY - BWY - BSY - WSY \\
 &= 245,191 - 67,417 - 0,147 - 115,674 - 0,017 - \\
 &\quad 61,789 - 0,023 \\
 &= 0,124
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 EY &= Y^2 - RY - BY - WY - SY - BWY - BSY - WSY - BWSY \\
 &= 16728,82 - 16482,295 - 67,417 - 0,147 - 115,674 - \\
 &\quad 0,017 - 61,789 - 0,023 - 0,124 \\
 &= 1,334
 \end{aligned}$$

Keterangan :

- RY = Jumlah kuadrat-kuadrat untuk rata-rata
 BY = Jumlah kuadrat-kuadrat antar perlakuan B
 WY = Jumlah kuadrat-kuadrat antar perlakuan W
 SY = Jumlah kuadrat-kuadrat antar perlakuan S
 JBW = Jumlah kuadrat-kuadrat antara sel untuk daftar BxW
 JBS = Jumlah kuadrat-kuadrat antara sel untuk daftar BxS
 JWS = Jumlah kuadrat-kuadrat antara sel untuk daftar WxS
 JBWS = Jumlah kuadrat-kuadrat antara sel untuk daftar BxWxS
 J... = Jumlah nilai semua pengamatan
 Ji.. = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf ke-
 i faktor B
 J.j. = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf
 ke j faktor W
 J..k = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf
 ke k faktor S
 Jij. = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf
 ke i faktor B dan dalam taraf ke j faktor W
 Ji.k = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf
 ke i faktor B dan dalam taraf ke k faktor S
 J.jk = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf
 ke j faktor W dan dalam taraf ke k faktor S
 Jijk = Jumlah nilai pengamatan yang terdapat dalam taraf ke-
 i faktor B, dalam taraf ke j faktor W dan dalam
 taraf ke k faktor S

TABEL ANOVA

Sumber Variasi	dk	JK	RJK	FH	FT	
					5%	1%
Rata-rata	1	16482,295	16482,295			
Perlakuan B	2	67,417	33,7085	1971,25 ^{**}	3,11	4,87
W	1	0,046	0,046	2,690	3,96	6,95
S	6	115,674	19,279	1127,427 ^{**}	2,21	3,03
BW	2	0,017	0,0085	0,537	3,11	4,87
BS	12	61,789	5,149	301,111 ^{**}	1,87	2,40
WS	6	0,023	0,0038	0,240	2,21	3,03
BWS	12	0,124	0,0103	0,602	1,87	2,40
Kekeliruan (E)	84	1,435	0,0171			
Jumlah total	1126	16728,82				

FB (2,84) 5% = 3,11 < 1971,25

1% = 4,87 < 1971,25

Signifikan

FW (1,84) 5% = 3,96 > 2,690

1% = 6,95 > 2,690

Non signifikan.

FS (6,84) 5% = 2,21 < 1127,427

1% = 3,03 < 1127,427

Signifikan

FBW (2,84) 5% = 3,11 > 0,537

1% = 4,87 > 0,537

Non signifikan.

FBS (12,84) 5% = 1,87 < 301,111

1% = 2,40 < 301,111

Signifikan

FWS (6,84) 5% = 2,21 > 0,240

1% = 3,03 > 0,240

Non signifikan

FBWS (12,84) 5% = 1,87 > 0,602

1% = 2,40 > 0,602

Non signifikan

Dari hasil perhitungan statistik, dapat dijelaskan sebagai berikut :

1. Pada perlakuan B (faktor bakteri) menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
2. Pada perlakuan W (faktor masa inkubasi) tidak menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
3. Pada perlakuan S (faktor sampel) menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
4. Pada perlakuan BW (interaksi antara bakteri dan masa inkubasi) tidak menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
5. Pada perlakuan BS (interaksi antara bakteri dan sampel) menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
6. Pada perlakuan WS (interaksi antara masa inkubasi dan sampel) tidak menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.
7. Pada perlakuan BWS (interaksi antara bakteri, masa inkubasi dan sampel) tidak menunjukkan adanya beda nyata pada taraf 5% maupun 1%.

Uji Rentang Newmann-Keuls

1. Dari tabel Anova RJK kekeliruan (E) = 0,0158 dengan
dk = 84

2. Kekeliruan baku rata-rata

$$S_y = \sqrt{\frac{\text{RJK kekeliruan}}{n}} = \sqrt{\frac{0,0158}{3}} = 0,0725$$

3. Dari tabel F dengan dk = 84 dan $\alpha = 0,05$ dan 0,1 diperoleh :

P	2	3	4	5	6	7
$\alpha 0,05$	2,82	3,38	3,72	3,95	4,13	4,28
$\alpha 0,1$	3,74	4,25	4,56	4,77	4,94	5,08

4. Hasil kali rentang dengan S_y , maka diperoleh rentang signifikan terkecil (RST) untuk tiap P adalah :

P	2	3	4	5	6	7
$\alpha 0,05$	0,204	0,245	0,269	0,286	0,299	0,310
$\alpha 0,1$	0,251	0,308	0,330	0,345	0,358	0,368

5. Perbandingan perlakuan :

a. Uji antar perlakuan B (faktor bakteri)

	B ₁	B ₂	B ₃
Rata-rata perlakuan =	10,756	11,101	12,457
B ₁ lawan B ₂ =	11,101 - 10,756 =	0,345	> 0,251
B ₁ lawan B ₃ =	12,457 - 10,756 =	1,701	> 0,308
B ₂ lawan B ₃ =	12,457 - 11,101 =	1,356	> 0,251

b. Uji antar perlakuan S (faktor ekstrak dan isolat)

	S ₆	S ₃	S ₄	S ₂	S ₁	S ₇	S ₅
RP =	10,091	10,755	11,06	11,232	11,527	12,066	13,324

$$S_6 \text{ lawan } S_3 = 10,755 - 10,091 = 0,654 > 0,251$$

$$\begin{aligned}
S_6 \text{ lawan } S_4 &= 11,06 - 10,091 = 0,969 > 0,308 \\
S_6 \text{ lawan } S_1 &= 11,527 - 10,091 = 1,436 > 0,345 \\
S_6 \text{ lawan } S_2 &= 11,232 - 10,091 = 1,141 > 0,330 \\
S_6 \text{ lawan } S_5 &= 13,324 - 10,091 = 3,233 > 0,368 \\
S_6 \text{ lawan } S_7 &= 12,066 - 10,091 = 1,975 > 0,358 \\
S_5 \text{ lawan } S_1 &= 13,324 - 11,527 = 1,797 > 0,308 \\
S_5 \text{ lawan } S_2 &= 13,324 - 11,232 = 2,092 > 0,330 \\
S_5 \text{ lawan } S_3 &= 13,324 - 10,755 = 2,569 > 0,358 \\
S_5 \text{ lawan } S_4 &= 13,324 - 11,06 = 2,264 > 0,345 \\
S_5 \text{ lawan } S_7 &= 13,324 - 12,066 = 1,258 > 0,251 \\
S_4 \text{ lawan } S_1 &= 11,527 - 11,06 = 0,467 > 0,308 \\
S_4 \text{ lawan } S_2 &= 11,232 - 11,06 = 0,172 < 0,251 \\
S_4 \text{ lawan } S_3 &= 11,06 - 10,755 = 0,305 > 0,251 \\
S_4 \text{ lawan } S_7 &= 12,066 - 11,06 = 1,006 > 0,330 \\
S_3 \text{ lawan } S_1 &= 11,527 - 10,755 = 0,772 > 0,330 \\
S_3 \text{ lawan } S_2 &= 11,232 - 10,755 = 0,477 > 0,308 \\
S_3 \text{ lawan } S_7 &= 12,066 - 10,755 = 1,311 > 0,345 \\
S_2 \text{ lawan } S_1 &= 11,527 - 11,232 = 0,295 > 0,251 \\
S_2 \text{ lawan } S_7 &= 12,066 - 11,232 = 0,834 > 0,308 \\
S_1 \text{ lawan } S_7 &= 12,066 - 11,527 = 0,539 > 0,251
\end{aligned}$$

c. Uji antar perlakuan BS (interaksi bakteri dan sampel)
 Pengaruh interaksi taraf ke i dari faktor B dan taraf
 ke l dari faktor S ($B_i S_l$)

	$B_2 S_1$	$B_1 S_1$	$B_3 S_1$
rata-rata perlakuan =	10,533	11,366	12,683

perbandingan :

$$B_1 S_1 \text{ lawan } B_2 S_1 = 11,366 - 10,533 = 0,833 > 0,251$$

$$B_1S_1 \text{ lawan } B_3S_1 = 12,683 - 11,366 = 1,317 > 0,251$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_3S_1 = 12,683 - 10,533 = 2,15 > 0,308$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 faktor B dan taraf ke 2 dari faktor S (B_iS_2)

B_1S_2	B_2S_2	B_3S_2
rata-rata perlakuan = 10,074	10,533	13,091

Perbandingan :

$$B_1S_2 \text{ lawan } B_2S_2 = 10,533 - 10,074 = 0,459 > 0,251$$

$$B_1S_2 \text{ lawan } B_3S_2 = 13,091 - 10,074 = 3,017 > 0,308$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_3S_2 = 13,091 - 10,533 = 2,558 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 3 dari faktor S (B_iS_3)

B_1S_3	B_2S_3	B_3S_3
Rata-rata perlakuan = 9,549	11,024	11,691

Perbandingan :

$$B_1S_3 \text{ lawan } B_2S_3 = 11,024 - 9,549 = 1,475 > 0,251$$

$$B_1S_3 \text{ lawan } B_3S_3 = 11,691 - 9,549 = 2,142 > 0,308$$

$$B_2S_3 \text{ lawan } B_3S_3 = 11,691 - 11,024 = 0,667 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 4 dari faktor S (B_iS_4)

B_1S_4	B_3S_4	B_2S_4
Rata-rata perlakuan = 10,174	11,158	11,849

Perbandingan :

$$B_1S_4 \text{ lawan } B_2S_4 = 11,849 - 10,174 = 1,675 > 0,308$$

$$B_1S_4 \text{ lawan } B_3S_4 = 11,158 - 10,174 = 0,984 > 0,251$$

$$B_2S_4 \text{ lawan } B_3S_4 = 11,849 - 11,158 = 0,691 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 5 dari faktor S ($B_i S_5$)

	$B_1 S_5$	$B_2 S_5$	$B_3 S_5$
Rata-rata perlakuan =	12,149	12,824	14,999

Perbandingan :

$$B_1 S_5 \text{ lawan } B_2 S_5 = 12,824 - 12,149 = 0,675 > 0,251$$

$$B_1 S_5 \text{ lawan } B_3 S_5 = 14,999 - 12,149 = 2,850 > 0,308$$

$$B_2 S_5 \text{ lawan } B_3 S_5 = 14,999 - 12,824 = 2,175 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 6 dari faktor S ($B_i S_6$)

	$B_2 S_6$	$B_3 S_6$	$B_1 S_6$
Rata-rata perlakuan =	8,558	10,666	11,05

Perbandingan :

$$B_1 S_6 \text{ lawan } B_2 S_6 = 11,05 - 8,558 = 2,492 > 0,308$$

$$B_1 S_6 \text{ lawan } B_3 S_6 = 11,05 - 10,666 = 0,384 > 0,251$$

$$B_2 S_6 \text{ lawan } B_3 S_6 = 10,666 - 8,558 = 2,108 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 7 dari faktor S ($B_i S_7$)

	$B_1 S_7$	$B_2 S_7$	$B_3 S_7$
Rata-rata perlakuan =	10,933	12,391	12,874

Perbandingan :

$$B_1 S_7 \text{ lawan } B_2 S_7 = 12,391 - 10,933 = 1,458 > 0,251$$

$$B_1 S_7 \text{ lawan } B_3 S_7 = 12,874 - 10,933 = 1,941 > 0,308$$

$$B_2 S_7 \text{ lawan } B_3 S_7 = 12,874 - 12,391 = 0,483 > 0,251$$

Pengaruh interaksi taraf ke 1 dari faktor B dan taraf ke 1 dari faktor S (B_1S_1)

B_1S_3 B_1S_2 B_1S_4 B_1S_7 B_1S_6 B_1S_1 B_1S_5

RP = 9,549 10,074 10,174 10,933 11,05 11,366 12,149

Perbandingan :

B_1S_1 lawan B_1S_2 = 11,366 - 10,074 = 1,292 > 0,345

B_1S_1 lawan B_1S_3 = 11,366 - 9,549 = 1,817 > 0,358

B_1S_1 lawan B_1S_4 = 11,366 - 10,174 = 1,192 > 0,330

B_1S_1 lawan B_1S_5 = 12,149 - 11,366 = 0,783 > 0,251

B_1S_1 lawan B_1S_6 = 11,366 - 11,05 = 0,316 > 0,251

B_1S_1 lawan B_1S_7 = 11,366 - 10,933 = 0,433 > 0,308

B_1S_2 lawan B_1S_3 = 10,074 - 9,549 = 0,525 > 0,251

B_1S_2 lawan B_1S_4 = 10,174 - 10,074 = 0,100 < 0,204 5%
0,251 1%

B_1S_2 lawan B_1S_5 = 12,149 - 10,074 = 2,075 > 0,358

B_1S_2 lawan B_1S_6 = 11,05 - 10,074 = 0,976 > 0,330

B_1S_2 lawan B_1S_7 = 10,933 - 10,074 = 0,859 > 0,308

B_1S_3 lawan B_1S_4 = 10,174 - 9,549 = 0,625 > 0,308

B_1S_3 lawan B_1S_5 = 12,149 - 9,549 = 2,600 > 0,368

B_1S_3 lawan B_1S_6 = 11,05 - 9,549 = 1,501 > 0,345

B_1S_3 lawan B_1S_7 = 10,933 - 9,549 = 1,384 > 0,330

B_1S_4 lawan B_1S_5 = 12,149 - 10,174 = 1,975 > 0,345

B_1S_4 lawan B_1S_6 = 11,05 - 10,174 = 0,876 > 0,308

B_1S_4 lawan B_1S_7 = 10,933 - 10,174 = 0,759 > 0,251

B_1S_5 lawan B_1S_6 = 12,149 - 11,05 = 1,099 > 0,308

B_1S_5 lawan B_1S_7 = 12,149 - 10,933 = 1,216 > 0,330

B_1S_6 lawan B_1S_7 = 11,05 - 10,933 = 0,117 < 0,204 5%
0,251 1%



Pengaruh interaksi taraf ke 2 dari faktor B dan taraf ke 1 dari faktor S (B_2S_1)

B_2S_6 B_2S_1 B_2S_2 B_2S_3 B_2S_4 B_2S_7 B_2S_5

RP = 8,558 10,533 10,533 11,024 11,849 12,391 12,824

Perbandingan :

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_2 = 10,533 - 10,533 = 0 < \begin{matrix} 0,204 \\ 0,251 \end{matrix}$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_3 = 11,024 - 10,533 = 0,491 > 0,308$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_4 = 11,849 - 10,533 = 1,316 > 0,330$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_5 = 12,824 - 10,533 = 2,291 > 0,358$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_6 = 10,533 - 8,558 = 1,975 > 0,251$$

$$B_2S_1 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,391 - 10,533 = 1,858 > 0,345$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_2S_3 = 11,024 - 10,533 = 0,491 > 0,251$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_2S_4 = 11,849 - 10,533 = 1,316 > 0,308$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_2S_5 = 12,824 - 10,533 = 2,291 > 0,345$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_2S_6 = 10,533 - 8,558 = 1,975 > 0,308$$

$$B_2S_2 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,391 - 10,533 = 1,858 > 0,330$$

$$B_2S_3 \text{ lawan } B_2S_4 = 11,849 - 11,024 = 0,825 > 0,251$$

$$B_2S_3 \text{ lawan } B_2S_5 = 12,824 - 11,024 = 1,800 > 0,330$$

$$B_2S_3 \text{ lawan } B_2S_6 = 11,024 - 8,558 = 2,466 > 0,330$$

$$B_2S_3 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,391 - 10,024 = 1,367 > 0,308$$

$$B_2S_4 \text{ lawan } B_2S_5 = 12,824 - 11,849 = 0,975 > 0,308$$

$$B_2S_4 \text{ lawan } B_2S_6 = 11,849 - 8,558 = 3,291 > 0,345$$

$$B_2S_4 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,391 - 11,849 = 0,524 > 0,251$$

$$B_2S_5 \text{ lawan } B_2S_6 = 12,824 - 8,558 = 4,266 > 0,368$$

$$B_2S_5 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,824 - 12,391 = 0,433 > 0,251$$

$$B_2S_6 \text{ lawan } B_2S_7 = 12,391 - 8,558 = 3,833 > 0,358$$

Pengaruh interaksi taraf ke 3 dari faktor B dan taraf ke 1 dari faktor S (B_3S_1)

B_3S_4	B_3S_3	B_3S_1	B_3S_7	B_3S_2	B_3S_5
11,158	11,691	12,683	12,874	13,091	14,999

Perbandingan :

B_3S_1	lawan	B_3S_2	=	13,091 - 12,683 = 0,408	> 0,308	
B_3S_1	lawan	B_3S_3	=	12,683 - 11,691 = 0,992	> 0,251	
B_3S_1	lawan	B_3S_4	=	12,683 - 11,158 = 1,525	> 0,308	
B_3S_1	lawan	B_3S_5	=	14,999 - 12,683 = 2,316	> 0,330	
B_3S_1	lawan	B_3S_6	=	12,683 - 10,666 = 2,017	> 0,330	
B_3S_1	lawan	B_3S_7	=	12,874 - 12,683 = 0,191	< 0,204	5%
					< 0,251	1%
B_3S_2	lawan	B_3S_3	=	13,091 - 11,691 = 1,400	> 0,330	
B_3S_2	lawan	B_3S_4	=	13,091 - 11,158 = 1,933	> 0,345	
B_3S_2	lawan	B_3S_5	=	14,999 - 13,091 = 1,908	> 0,251	
B_3S_2	lawan	B_3S_6	=	13,091 - 10,666 = 2,425	> 0,358	
B_3S_2	lawan	B_3S_7	=	13,091 - 12,874 = 0,217	> 0,204	5%
					< 0,251	1%
B_3S_3	lawan	B_3S_4	=	11,691 - 11,158 = 0,533	> 0,251	
B_3S_3	lawan	B_3S_5	=	14,999 - 11,691 = 3,308	> 0,345	
B_3S_3	lawan	B_3S_6	=	11,691 - 10,666 = 1,025	> 0,308	
B_3S_3	lawan	B_3S_7	=	12,874 - 11,691 = 1,183	> 0,308	
B_3S_4	lawan	B_3S_5	=	14,999 - 11,158 = 3,841	> 0,358	
B_3S_4	lawan	B_3S_6	=	11,158 - 10,666 = 0,492	> 0,251	
B_3S_4	lawan	B_3S_7	=	12,874 - 11,158 = 1,716	> 0,330	
B_3S_5	lawan	B_3S_6	=	14,999 - 10,666 = 4,333	> 0,368	
B_3S_5	lawan	B_3S_7	=	14,999 - 12,874 = 2,125	> 0,308	
B_3S_6	lawan	B_3S_7	=	12,874 - 10,666 = 2,208	> 0,345	

LAMPIRAN. B

TANAMAN JARAK KOSTA MERAH (JATROPHA GOSSYPIFOLIA LINN.)



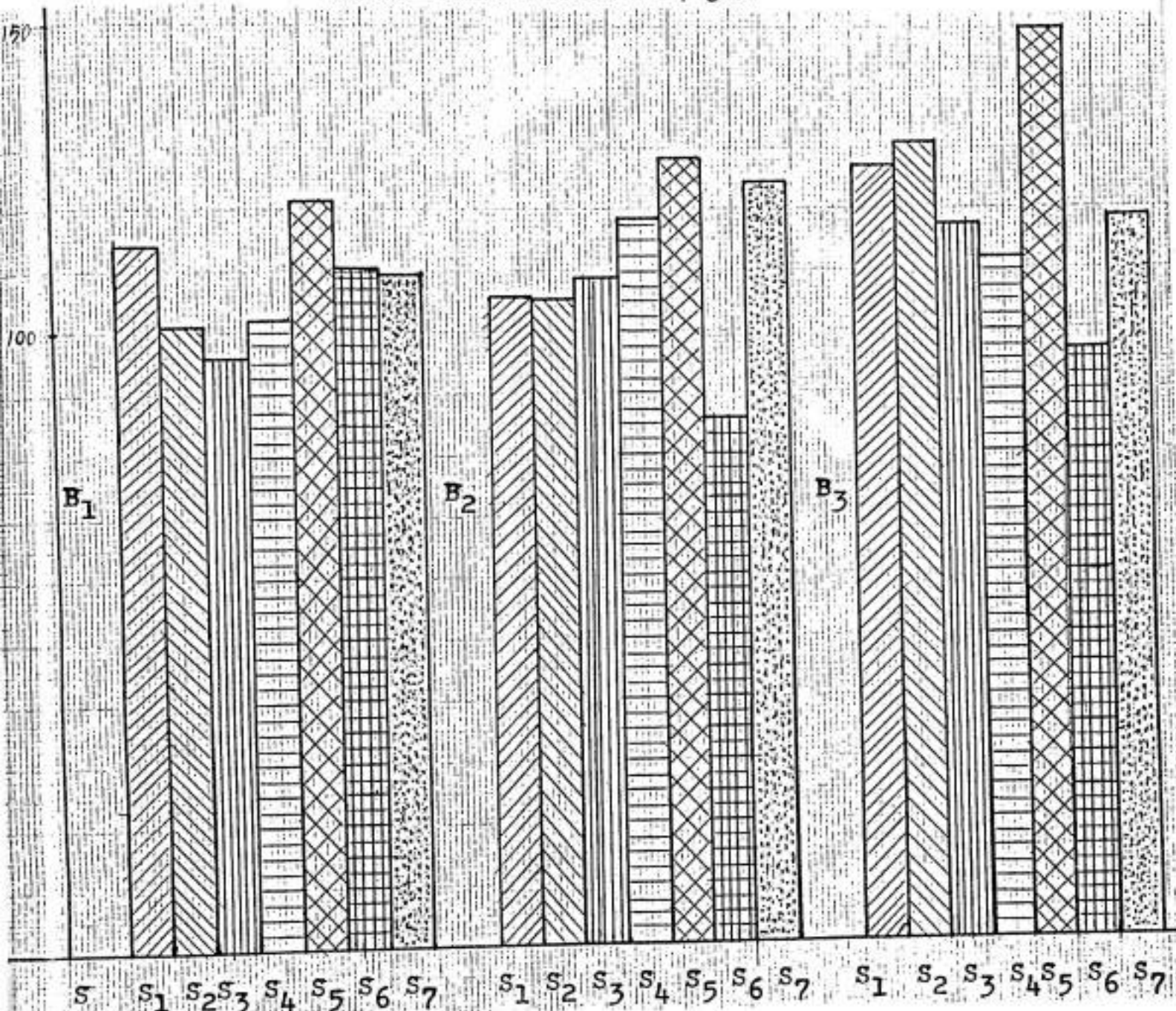
LAMPIRAN C

KOLOM KROMATOGRAFI



LAMPIRAN DI

Histogram antara Sampel dan Bakteri
 untuk masa inkubasi 24 jam



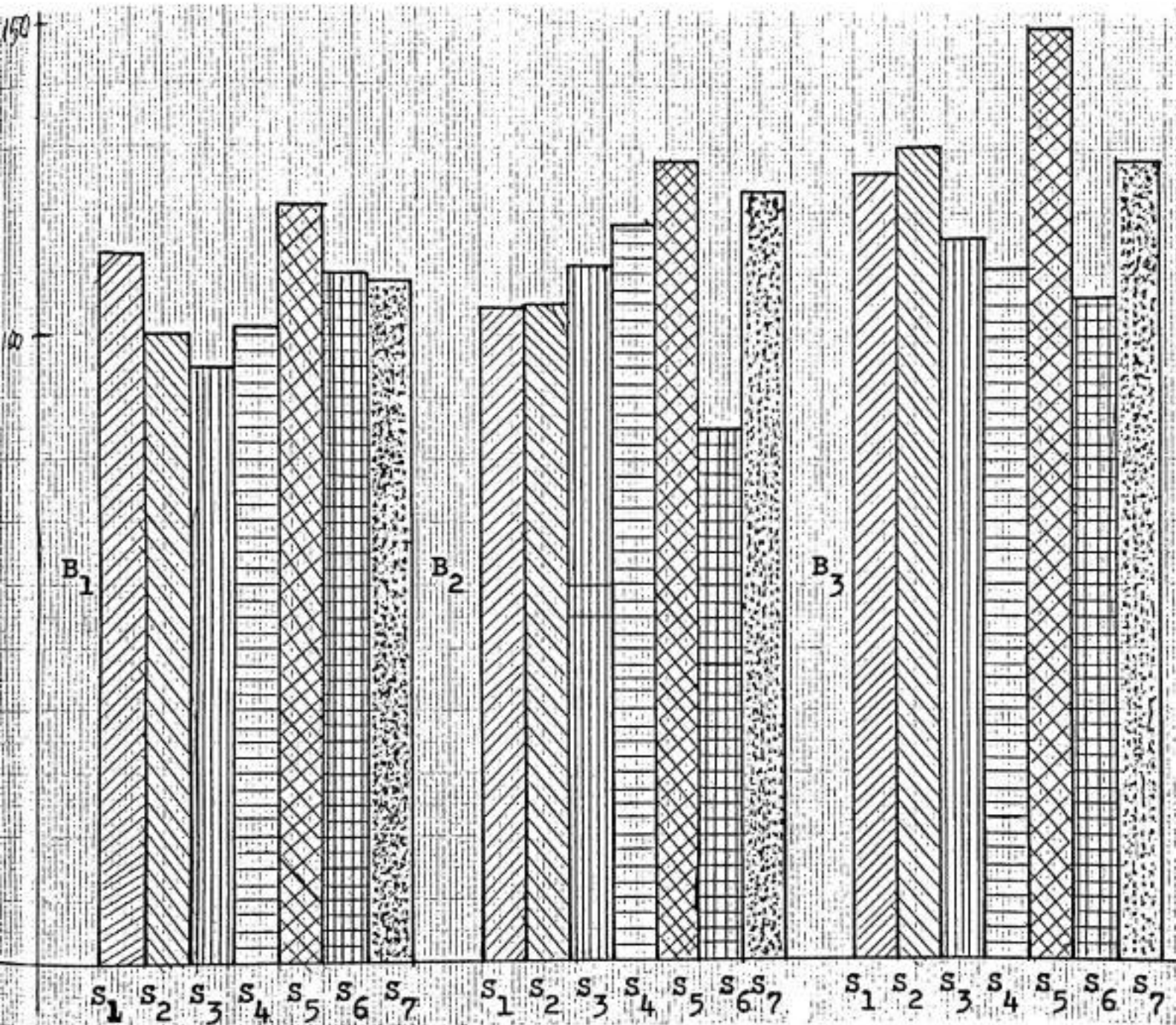
Keterangan :

- S₁ = Ekstrak metanol
- S₂ = Ekstrak dietil eter
- S₃ = Ekstrak n-butanol
- S₄ = Infus
- S₅ = Isolat A

- S₆ = Isolat B
- S₇ = Isolat C
- B₁ = Bakteri Streptococcus faecalis
- B₂ = Bakteri Pseudomonas cocovenenans
- B₃ = Bakteri Staphylococcus aureus

LAMPIRAN D2

Histogram antara Sampel dan Bakteri
 untuk masa inkubasi 48 jam



Keterangan :

- S₁ = Ekstrak metanol
- S₂ = Ekstrak dietil eter
- S₃ = Ekstrak n-butanol
- S₄ = Infus
- S₅ = Isolat A

- S₆ = Isolat B
- S₇ = Isolat C
- B₁ = Bakteri Streptococcus faecalis
- B₂ = Bakteri Pseudomonas cocovenenans
- B₃ = Bakteri Staphylococcus aureus