



UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT – BIOAUTOGRAFI

EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam.)

TERHADAP BEBERAPA BAKTERI UJI

OLEH

MUSDALIFA

H51102854 – 1



Penyakit	HASANUDDIN
Tgl. Pengantar	19-6-06
Nama Pengantar	Fale. Mpa.
Alamat	(satu) ds
Hubungan	H
No. Pendaftaran	684/19.6.06
No. Surat	

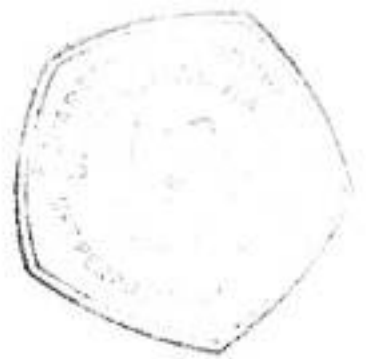
JURUSAN FARMASI NON REGULER

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2006



SKRIPSI

OLEH

MUSDALIFA

H51102854-1



JURUSAN FARMASI NON REGULER

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUANALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2006

UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT BIOAUTOGRAFI
EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam.)
TERHADAP BEBERAPA BAKTERI UJI

OLEH
MUSDALIFA
H51102854 – 1

Skripsi untuk melengkapi tugas dan syarat untuk mencapai gelar sarjana

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

2006

LEMBAR PENGESAHAN

UJI DAYA HAMBAT DAN ANALISIS KLT – BIOAUTOGRAFI
EKSTRAK ETANOL BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam.)
TERHADAP BEBERAPA BAKTERI UJI

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Pertama



(Dra. Rahmawaty Syukur, M.Si)
Nip. 132 012 988

Pembimbing Kedua



(Drs. Hasyim Bariun, M.Si)
Nip. 130 878 519

Pada tanggal : Juni 2006

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, Puji syukur yang tak terhingga penulis panjatkan kepada Allah *swt*, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Skripsi dengan judul “ Uji Daya Hambat dan Analisis KLT- Bioautografi ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). Terhadap Beberapa bakteri Uji” ini disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada Jurusan Farmasi , Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini tak lupa penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada ibu Dra. Sartini M.Si, selaku pembimbing utama, Ibu Dra. Rahmawati Syukur M.Si selaku pembimbing pertama dan Bapak Drs. Hasyim Bariun M.Si selaku pembimbing kedua, yang selama ini telah meluangkan waktu dalam memberikan petunjuk, bimbingan dan arahan kepada penulis dalam menjalankan penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Ucapan rasa syukur dan terima kasih juga tak lupa penulis persembakan kepada

1. Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS, Bapak Ibu Dosen jurusan Farmasi FMIPA UNHAS, atas segala ilmu yang selama ini penulis terima dalam menjalani proses perkuliahan.
2. Ketua Program Non Reguler Farmasi FMIPA UNHAS
3. Ibu Dra. Aliyah M.S., selaku penasehat Akademik yang selalu membimbing dan mengarahkan selama proses studi.

4. Laboran Mikrobiologi dan Farmakognosi Fitokimia serta staff pegawai jurusan Farmasi (Special buat Kak Lia, kak Feby, Bu Iis, Pak Suaib), yang telah banyak membantu selama penelitian berlangsung).
5. Kak Arsyik yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan petunjuk dan arahan selama pengerjaan penelitian.
6. Rekan – rekan ku angkatan 2001 Farmasi, yang telah banyak berbagi suka dan duka semoga kebersamaan ini terus terjalin.
7. Buat Adik-adik terkasih yang telah banyak mengajarkan arti hidup n buatku lebih dewasa (Lya, Dian, Ma'wa, Deby, Fery, Endah, Fikri, Irman, Fayz, Ichal,n Memet),dan telah mau mendengar keluh kesahku, kalian sumber Inspirasiku wat lebih maju lagi, thanks wat kritikan gratisnya.
8. Sahabatku Deasy, Panca, Irma, Ani, Imhe yang begitu sabar mendampingi dalam melewati penelitian yang begitu berat dan melelahkan.

Rasa terimakasih yang tak terhingga kepada semua keluargaku, yang telah buat keberadaanku di dunia ini lebih berarti, kepada Ayahanda tercinta H. Muh. Isa atas segala doa yang begitu tulus serta harapan yang membuatku kuat untuk terus berpijak diatas dunia ini, Ibunda Hj. Jumati atas segala linangan air mata dan doa untuk ananda hingga sekarang ini, begitu besar pengorbanan yang selama ini bunda berikan untukku, senyum bunda adalah penyejuk jiwaku, semoga ananda mampu membuat bunda untuk selalu tersenyum, Maafkan ananda belum bisa memberikan yang terbaik selama ini, semoga hari esok lebih baik dari hari ini agar semua pengorbanan tak berlalu dengan sia-sia, walau ananda takkan bisa menggantikan segala yang telah bunda berikan hingga kapan pun, Adinda Marwa semoga ktia bisa menjadi lentera untuk kedua orang tua kita,

maafkan jika selama ini kakak tidak bisa menjadi inspirasi bagimu, semoga segala doamu tetap terus mengiringi perjalanan dalam kehidupanku. Juga wat ade Lya atas segala dukungan yang tak terbatas dan tak ternilai selama ini, yang setia menemani saat-saat berat dalam hidupku, makasih dah mau berbagi ade tersayang.

Begitu banyak orang yang telah begitu baik memberi warna dalam kehidupanku yang tak dapat penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah *swt* senantiasa memberikan Rahmat serta Hidayahnya , agar kita semua tetap mempunyai sebuah pengharapan di kehidupan ini, akhir kata penulis menyadari segala kesempurnaan hanyalah milik Allah semata, maka penyusunan skripsi ini tentulah jauh dari kesempurnaan, namun harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amien.

Makassar, Maret 2006

Penulis



ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap pertumbuhan beberapa bakteri uji. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui adanya daya antibakteri dari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*; dan untuk mengetahui apakah senyawa yang telah dipisahkan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) yang dilanjutkan dengan Bioautografi tetap mempunyai aktifitas antibakteri. Konsentrasi ekstrak hasil maserasi yang digunakan adalah 0,25% b/v, 0,5% b/v, 2% b/v, 4% b/v. Hasil pemisahan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan larutan Hexan : Etil asetat (7 : 2) diperoleh beberapa noda. Hasil penelitian dengan metode KLT- Bioautografi menggunakan difusi agar menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan nilai RF 0,2 memberikan zona penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

A research about the antibacterial activity assay ethanol extract of red froot (*Pandanus conoideus* Lam.) against some bacteria. This research aimed to know the antibacterial effect of red froot (*Pandanus conoideus* Lam.) against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*; also to verify some chemical compounds which separated through thin layer chromatography method (TLC) and Bioautography still to have the same antibacterial activity. The extract's concentrations were used in this research was 0.25% w/v; 0.5% w/v; 2% w/v; 4% w/v. Chemical separation through thin layer chromatography method (TLC) using hexane : ethyl acetate (7 : 2) resulted some compounds. The TLC - Bioautography using agar difusion showed that ethanol extract of red froot (*Pandanus conoideus* Lam.) with RF 0.2 showing inhibition area for *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II POLA PENELITIAN.....	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA.....	7
III.1 Uraian Tanaman.....	7
III.2 Metode Penyarian.....	9
III.3 Metode Pemisahan	10
III.4 Tinjauan Umum Mikroba.....	15
III.5 Uraian Bakteri Uji yang Digunakan	18
III.6 Pengujian Secara Mikrobiologi.....	21

BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN.....	23
IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan	23
IV.2 Sterilisasi Alat.....	26
IV.3 Pembuatan Medium.....	26
IV.4 Penyiapan Bakteri.....	28
IV.5 Pengujian Ekstrak Sampel	30
IV.6 Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis.....	31
IV.7 Pengujian Secara KLT – Bioautografi.....	31
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
V.1 Hasil Penelitian.....	33
V.2 Pembahasan.....	33
BAB VI PENUTUP.....	38
VI.1 Kesimpulan.....	38
VI.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	19

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan Bakteri Uji Yang dihasilkan oleh ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam).....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan Diameter Hambatan Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus epidermis</i> , <i>Pseudomonasaeruginosa</i>	46
2. Foto Diameter Daerah Hambatan ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
3. Foto Diameter Daerah Hambatan Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	48
4. Foto Diameter Daerah Hambatan Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
5. Foto Diameter Daerah Hambatan Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Terhadap Bakteri <i>Streptococcus epidermis</i>	50
6. Kromatogram Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat 7 : 2 Dengan Penampak Noda Lampu UV 366 nm.....	51
7. Gambar Kromatogram Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.) Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat 7 : 2 Dengan Penampak Noda Lampu UV 254 nm.....	52
8. Foto Bioautografi Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.). Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	53
9. Foto Bioautografi Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.). Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
10. Foto Bioautografi Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.). Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 Terhadap Bakteri <i>Streptococcus epidermis</i>	55

11. Foto Bioautogram Ekstrak Ectanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam.). Dengan Cairan Pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	56
12. Foto Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam).....	57
13. Foto Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam).....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Analisis Rancangan Acak Kelompok (RAK) Ekstrak etanol Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam) Terhadap Beberapa Bakteri Uji.....	42

BAB I PENDAHULUAN



Beberapa tahun yang lalu, obat-obatan dari bahan sintesis kimia berkembang dengan pesat. Ini dikarenakan kemajuan teknologi dan peradaban manusia berkembang dengan pesat. Dengan demikian obat-obatan alami sempat mengalami keterpurukan. Namun demikian seiring dengan kesadaran manusia untuk kembali ke alam (*back to nature*) membuat obat alami kembali dilirik. Masyarakat pun secara beramai-ramai terus memburu berbagai jenis obat alami. Pamor obat-obatan alami pun kembali terangkat (1).

Sejak zaman nenek moyang buah merah sudah dimanfaatkan oleh masyarakat Papua, terutama yang tinggal dipedalaman. Hingga sekarang pun buah merah masih digunakan oleh masyarakat Papua. Secara garis besar, buah merah dimanfaatkan dalam empat hal pokok, yaitu sebagai bahan pangan, bahan pewarna alami, bahan kerajinan, dan sebagai bahan obat untuk berbagai jenis penyakit (1).

Buah merah (*Pandanus conoides* Lam) suku *pandanaceae* sebagai salah satu tanaman obat yang memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan. Salah satu alasan pengembangannya adalah kandungan bahan aktifnya beragam dan cukup tinggi sehingga mampu mencegah berbagai macam penyakit. Disamping itu, buah merah yang baru diperkenalkan secara luas sekitar tahun 2001 mendapat

respon positif dari masyarakat sehingga popularitasnya pun terus meningkat. Dari penggunaannya pun tidak sedikit yang membuktikan keampuhan buah merah ini (1).

Dari analisis kimia yang dilakukan oleh I Made Budi bahwa buah merah mengandung komposisi gizi lengkap dalam kadar tinggi, yaitu betakaroten, tokoferol, serta asam lemak seperti asam oleat, asam linoleat, asam linolenat dan asam dekanat, asam lemak itulah yang merupakan antibiotik dan antivirus. Mereka aktif melemahkan dan meluruhkan lipid membran mikroba serta mematikannya (2).

Beberapa penelitian tentang buah merah seperti yang dilakukan oleh Sukandar (2005) dari FMIPA ITB . Penelitian dilakukan dengan menggunakan 3 kelinci jantan yang kulit punggungnya dikerok dan disuntikkan beberapa mikroba uji yaitu *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Microsporium gypseum*. Setelah luka diolesi dengan ekstrak buah merah, iritasi berkurang dan akhirnya sembuh. Penelitian lain yang dilakukan Harahap dan Siregar (2005) dari FMIPA UI juga melakukan uji toksisitas, hasil uji toksisitas menunjukkan LD₅₀ mencit jantan sekitar 2, 687 g/kg BB, mencit betina 6,714 g/kg BB. Potensi ketoksikan pada jantan, sedikit toksik dan pada betina hampir tidak toksik , kemudian penelitian yang dilakukan oleh Suwendar (2005) dari FMIPA ITB yaitu uji antiinflamasi pada 3 kelompok mencit dan hasilnya menunjukkan bahwa buah merah tidak terlalu signifikan sebagai obat antiinflamasi (3).

Berdasarkan hal tersebut , permasalahan yang timbul apakah ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoides* Lam), terdapat komponen aktif yang dapat bersifat sebagai antibakteri. Sehubungan dengan hal tersebut maka telah dilakukan uji daya

hambat ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap beberapa bakteri uji dengan metode difusi, sedangkan isolasi komponen antibakteri dilakukan dengan KLT-Bioautografi.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap beberapa bakteri uji, dengan tujuan untuk mengetahui komponen anti bakteri dari ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) sehingga penggunaannya sebagai obat tradisional dapat dipertanggung jawabkan.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

II.1.1 Alat dan Bahan disiapkan sesuai dengan keperluan.

II.1.2 Sterilisasi alat-alat

Alat-alat yang digunakan disterilkan sesuai dengan metode masing-masing.

II.1.3 Pembuatan Medium

Medium Nutrien Agar (NA), sebagai media peremajaan bakteri uji dan medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) sebagai media pangujian daya hambat.

II.2 Penyiapan Bakteri

II.2.1 Penyiapan Bakteri Uji

Mikroba uji ditumbuhkan pada medium yang cocok

II.2.2 Peremajaan Biakan Murni Bakteri Uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Escherichia Coli* ATCC 255923, *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 063 dan *Streptococcus epidermis* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dibiakkan dalam Medium NA yang baru.

II.3.2 Pembuatan Suspensi Biakan Murni Bakteri Uji

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

II.3 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

II.3.1 Pengambilan Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) yang berasal dari Nabire, Papua.

II.3.2 Pengolahan Sampel

Buah merah yang telah dibersihkan, diolah dengan cara membuka biji dari empulurnya kemudian dipisah-pisahkan dan dikeringkan dengan cara di angin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung.

II.3.3 Pembuatan ekstrak

Buah merah dibuat ekstrak Etanol dengan cara maserasi.

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

II.4 Pengujian Ekstrak

II.4.1 Penentuan daerah Hambat

Penentuan daerah hambatan ekstrak etanol buah merah dilakukan dengan metode difusi agar berlapis dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Daerah hambatan terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

II.4.2 Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Konsentrasi ekstrak yang memiliki diameter hambatan terbesar ditotolkan diatas lempeng KLT. Kemudian lempeng dikembangkan dengan larutan pengembang dan noda yang terbentuk diamati dibawah lampu UV.

II.4.3 Pengujian secara KLT-Bioautografi

Medium GNA steril diinokulasikan dengan bakteri. Setelah medium memadat. Lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium. Diamati zona hambatan yang terbentuk.

II.4.4 Pengolahan dan Analisis Data

Semua data pengamatan dikumpulkan dan dianalisis secara statistika dengan metode rancangan acak kelompok

II.4.5 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pembahasan

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Uraian Tanaman

III.1.1 Klasifikasi Buah Merah (1)

Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Sub kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Pandanales
Familia	: Pandanaceae
Genus	: Pandanus
Species	: <i>Pandanus conoideus</i> Lam

III.1.2 Nama Asing dan Daerah (1, 25)

Inggris	: Red froot
Papua	: Sauk eken (Wamena),Tawi (Lembah Baliem), Bitam (Suku Amungme), Kain (Suku katengban), Kaef (Suku Ngalum).

III.1.3 Morfologi Tanaman (1)

Tanaman buah merah termasuk terna berbentuk semak, perdu, atau pohon. Daun tunggal berbentuk lanset sungsang (*oblanceolate*), berwarna hijau tua, dan letaknya berseling. Ujung daun runcing (*acute*). Pangkal daun memeluk batang. Permukaan daun licin. Tepi daun berduri

atau tidak berduri tergantung jenisnya. Batang tanaman bercabang banyak, tegak, bergetah dan berwarna coklat berbercak putih. Tinggi tanaman mencapai 16 m dengan tinggi batang bebas cabang, 5 – 8 m di atas permukaan tanah. Akar tanaman berfungsi sebagai penyokong tegaknya tanaman. Akar tanaman buah merah tergolong akar serabut dengan tipe perakaran dangkal. Akar tanaman cenderung masuk hingga kedalaman tanah sekitar 94 cm. Akar- akar tunjang (*prop – root*) muncul dari bagian batang dekat permukaan tanah. Akar ini berfungsi sebagai penguat batang. Diameter akar terbesar berkisar 6,6 – 8 cm, sedangkan diameter akar terkecil sekitar 1,5 – 2,8 cm. Buah muda berwarna merah bata, setelah matang berubah menjadi merah cerah. Buah matang ditandai adanya sebagian biji yang terlepas dari sinkarp, buah dibungkus daun pelindung berbentuk memanjang.

III.1.4 Kandungan kimia (1,2,4,5, 6)

Total karotenoid	: 12.000 ppm
Total tokoferol	: 11.000 ppm
Betakaroten	: 700 ppm
Alfa – tokoferol	: 500 ppm
Asam oleat	: 58%
Asam linoleat	: 8,8%
Asam linolenat	: 7,8%
Dekanoat	: 2,0%

III.1.5 Kegunaan Buah Merah (1,2, 7, 8).

Buah merah dapat digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit seperti kanker, tumor, HIV / AIDS, kista, hepatitis, diabetes mellitus, asam urat, hipertensi, gangguan saluran pernafasan, stroke, jantung, kolesterol, gangguan prostate, osteoporosis, maag, wasir, gangguan mata, meningkatkan kecerdasan, meningkatkan gairah dan kesuburan, kencing batu, leukimia dan penyakit kulit.

III.2 Metode Penyarian

III.2.1 Tujuan Penyarian (9)

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari, dihasilkan larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Proses penyarian pada sel yang dindingnya masih utuh, sehingga zat aktif harus melewati dinding sel supaya dapat keluar dari sel. Peristiwa osmosa dan difusi berperan pada proses penyarian tersebut, namun difusi jauh lebih berpengaruh bila dibandingkan dengan osmosa.

III.2.2 Penyarian dengan metode maserasi (9, 10)

Maserasi adalah salah satu cara ekstraksi bahan alam dengan merendam 10 bagian simplisia atau campuran simplisia di dalam bejana tertutup, dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya. Pindahkan

ke dalam bejana tertutup dan biarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, saring, peras, dan cuci dengan cairan penyari.

III. 3 Metode Pemisahan (11,12, 13, 14)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan, yang pertama kali dipakai untuk memisahkan zat-zat warna tanaman, meskipun demikian pembatasan untuk senyawa-senyawa yang berwarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan secara kromatografi sekarang diperuntukkan untuk senyawa-senyawa tak berwarna, termasuk gas.

III.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu cara memisahkan suatu komponen berdasarkan adsorpsi dan partisi, adsorben yang digunakan berupa bubuk halus dari silika gel yang dibuat serba rata di atas lempeng kaca, komponen yang dipisahkan naik mengikuti pelarutnya sesuai dengan kecepatan elusinya masing-masing sehingga terjadi pemisahan. Ukuran partikel adsorben harus halus, agar lapisan adsorben pada lempeng kaca terbentuk rata dan homogen, sehingga rembesan dari cairan pengelusi cepat dan rata, dengan demikian komponen dapat terpisah dengan baik.

Nilai R_f (Rate of Flow) merupakan parameter karakteristik kromatografi lapis tipis. Nilai ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Nilai R_f didefinisikan sebagai

perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh larutan pengembang.

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

Beberapa faktor yang mempengaruhi nilai R_f adalah :

1. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
2. Sifat dari penyerap (adsorben) dan derajat aktifitasnya
3. Pelarut sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya
4. Derajat kejenuhan dalam bejana chamber
5. jumlah cuplikan yang digunakan .

III.3.2 Metode Bioautografi (15, 16, 17)

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

Metode ini didasarkan pada efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, anti tumor, dll) dari suatu substansi yang teliti. Dibandingkan dengan 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 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 disebarakan diatas 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 37⁰C.

b. Bioautografi Kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi ini ditempatkan diatas 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 kedalam medium agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan temperatur yang cepat hingga noda yang menghambat mikroorganisme tampak pada permukaan. Zona ini dapat lebih jelas dengan tampak dengan penggunaan indikator aktifitas dehidrogenase.

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 agak 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 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 pembedahan.

Beberapa prosedur yang dikembangkan diatas masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan, menurut Horman dan Fuchs, bioautografi kontak merupakan tipe yang paling sering digunakan masalah perbedaan difusi dari senyawa-senyawa dari kromatogram ke plat agar dipermudah dengan deteksi bioautografi yang cukup rumit. Sedangkan Land Lyon menyatakan bioautografi secara langsung untuk aktifitas antibakteri sangat sensitif dan melokalisir senyawa-senyawa aktif tetapi mempunyai kekurangan keterbatasan mikroorganisme yang dapat tumbuh secara langsung diatas lapisan kromatografi, ketersebaran bakteri diatas lempeng dan memungkinkan terjadinya kontaminasi. Sedangkan metode kromatografi pencelupan merupakan metode yang paling tepat sebab tidak dipengaruhi oleh kemungkinan adanya kontaminasi.

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

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

III.4 Tinjauan umum Antimikroba (17)

Antimikroba adalah zat untuk membasmi mikroba khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia atau bersifat patogen. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktifitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunhu minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM.

Pemusnahan mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakteriostatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Peranan lamanya kontak antara mikroba dengan antimikroba dalam kadar efektif juga sangat menentukan untuk mendapatkan efek.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi lima kelompok :

1. Antimikroba yang mengganggu metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk

kebutuhan hidupnya. Apabila sulfonamid atau sulfon menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Berdasarkan sifat kompetisi, efek sulfonamid dapat diatasi dengan meningkatkan kadar PABA.

2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri, terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel, diikuti berturut-turut oleh basitrasin, vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin, yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidasi) dalam rangkaian reaksi tersebut. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada sel di luar maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

3. Antimikroba yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba

Polimiksin sebagai senyawa amonium-kuarterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Polimiksin tidak efektif terhadap kuman gram positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah. Kuman gram-negatif yang menjadi resisten terhadap polimiksin, ternyata jumlah fosfornya menurun. Antibiotik polien bereaksi dengan struktur sterol yang terdapat pada membran sel fungus sehingga mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Bakteri tidak sensitif

terhadap antibiotik polien, karena tidak memiliki struktur sterol pada membran selnya. Antiseptik yang mengubah tegangan permukaan (surface-active agents), dapat merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain.

4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom bakteri terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan sintesis protein terjadi berbagai cara, salah satunya adalah :

- a. Zat antimikroba berikatan dengan 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba.
- b. Dapat pula zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptide dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA asam amino yang baru.

5. Antimikroba yang menghambat sintesa atau merusak asam nukleat sel mikroba.

Antimikroba yang termasuk dalam kelompok ini ialah rifampisin dan golongan kuinolon.

Rifampisin salah satu derivat rifamisin, berikatan dengan enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat enzim DNA girase pada kuman yang fungsinya menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral hingga bisa muat dalam sel kuman yang kecil.

III.5 Uraian bakteri Uji yang digunakan

III.5.1 *Escherichia coli* (16)

a. Klasifikasi

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Klas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

b. Sifat dan Morfologi

Escherichia coli adalah berbentuk batang lurus. Berukuran 1,1 – 1,5 μm x 2,0 – 6,0 μm terdapat dalam bentuk berpasangan atau tunggal, gram negatif, non motil, fakultatif anaerobik, dan kemoorganotropik. Memiliki metabolisme tipe fermentatif dan respirasi. Suhu optimum

37⁰ C tidak mempunyai spora dan kapsul, dapat meragikan dekstrosa, maltosa, dan laktosa dengan produksi asam dan gas mengandung enterotoksin dan faktor- faktor virulen, termasuk faktor perpindahan dan faktor kolonisasi, menyebabkan diare.

III.5.2 *Staphylococcus aureus* (18, 19)

a. Klasifikasi

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Protphyta
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Euobacterales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

b. Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif, berbetuk bulat dengan diameter 0,8 – 1,0 µm. Biasanya hidup bergerombol membentuk koloni yang mirip dengan kumpulan buah anggur, ada juga yang letaknya berserakan, tidak bergerak, dan tidak tahan asam.

Pada tubuh manusia, biasanya terdapat diatas permukaan kulit, saluran pernafasan bagian atas, bagian kulit

terinfeksi, selaput lendir dan tempat lainnya. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 10 – 45⁰C dan pH optimum untuk pertumbuhannya 7 – 7,5.

III.5.3 *Streptococcus epidermis* (18, 19)

a. Klasifikasi

Divisi	: Protphyta
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Streptococcus
Species	: <i>Streptococcus epidermis</i>

b. Morfologi

Streptococcus epidermis adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,5 – 1,5 µm, terdapat dalam lebih dari satu bentuk sampai membentuk kelompok yang tak beraturan. Koloni bulat, cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar, dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan. Biasanya berwarna putih atau kuning, adakalanya berwarna ungu. Bersifat fakultatif anaerob, tumbuh pada suhu 45⁰C. Diisolasi dari bisul bernanah, luka jahitan kecil dan luka lainnya pada kulit dan mukosa hewan berdarah panas, bersifat komensal dan parasit.

III.5.4 *Pseudomonas aeruginosa* (18,20)

a. Klasifikasi

Kingdom	: Procaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Klass	: Scotobacteria
Ordo	: Spirochtales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

b. Morfologi

Ukuran sel bervariasi tetapi biasanya berbentuk kecil, batangan ramping panjang 1,5 – 3 μm dan lebar 0,5 μm biasanya berpasangan dan berantai pendek. Terdapat 1 – 3 flagella pada kutubnya, bakteri ini bergerak secara aktif, tidak membentuk kapsul atau spora. Koloni luas dan menyebar tetapi tidak beraturan dan konsistensinya kasar, tipe gram negatif.

III.6 Pengujian secara Mikrobiologi

Meskipun pada umumnya pengujian ini dilakukan terhadap kebanyakan antibiotika, namun cara ini dapat pula dipakai untuk bahan-bahan lain yang diduga mempunyai daya hambat atau membunuh mikroorganisme. Secara umum dapat dilakukan dengan cara :

III.6.1 Metode difusi

Pada metode ini kemampuan antimikroba ditentukan berdasarkan luasnya daerah hambatan yang terjadi. Metode ini dapat dilakukan dengan cara :

a. Cara difusi dengan plat silinder

Cara ini didasarkan pada perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan bakteri dengan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan pembanding.

b. Cara difusi dengan plat mangkuk

Prinsip kerjanya sama dengan plat silinder namun perbedaannya disini menggunakan lubang yang dibuat langsung pada medium.

c. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan garis tengah 0,7 1 cm, yang nantinya akan dicelupkan ke dalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

d. Cara difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara kertas saring. Perbedaannya pada cara ini menggunakan dua lapisan agar, lapisan

pertama (base layer) tidak mengandung mikroba sedangkan lapisan kedua (seed layer) mengandung mikroba.

III.6.2 Metode pengenceran (21)

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi atau penetapan dengan cara turbidimetri. Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat dari pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi tertentu. Tetapi cara ini tidak praktis dan jarang dipakai.

Namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate* keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (21).

BAB IV
PELAKSANAAN PENELITIAN

IV. 1 Penyiapan Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan :

1. Batang pengaduk
2. Cawan petri
3. Corong
4. Gelas Erlenmeyer 250 ml
5. Gelas piala 250 ml
6. Gelas ukur 100 ml
7. Inkubator
8. Jangka sorong (Sunlon)
9. Kertas indikator pH universal
10. Labu tentukur 25 ml
11. Otoklaf
12. Ose bulat
13. Oven
14. Pencadang
15. Rotavapor
16. Termometer
17. Timbangan analitik (Chyo)

IV .1.2 Bahan - bahan yang digunakan :

1. Air suling
2. Agar (Pronadisa)
4. Benzen
5. Biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25922
6. Biakan murni *Escherichia coli* ATCC 255923
7. Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 063
8. Biakan murni *Streptococcus epidermis*
9. Kloroform
10. Dekstrosa (E-merck)
11. Ekstrak Beef (Pronadisa)
12. Etil asetat
13. Etanol 96%
14. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam)
15. Larutan fisiologis NaCl 0,9% (Otsuka)
16. Pepton (Pronadisa)

IV.2 Sterilisasi Alat (10,22)

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan detergen sintetik, 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 yang 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 pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat suntik dan alat-alat plastik (tidak tahan 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.3 Pembuatan Medium (23)

1. Medium 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 dalam air suling hingga volume 800 ml, lalu dicek pH dengan indikator universal pada pH 7,0 kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Medium Nutrien Broth (NB)

Komposisi :

Ekstrak daging	3,0 gram
Pepton	5, 0 gram
Air Suling Hingga	1000 ml
PH	7,0

Cara Membuat :

Bahan-bahan di atas dimasukkan ke dalam Erlenmeyer . Dilarutkan semua bahan dalam air suling hingga volume 800 ml, lalu dicek pH dengan indikator universal pada pH 7,0. Panaskan sampai semua bahan larut kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA)

Komposisi :

Glukosa	10,0 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 kemudian dipanaskan sampai larut. pH dicek dan dibuat pH 7,0 kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Glukosa dilarutkan dalam air suling hingga 200 ml dan dicek pH 4. 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. 4 Penyiapan Bakteri

IV.1..1 Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji (23, 24)

Biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 dan *Escherichia coli* ATCC 255923, *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 063, dan *Streptococcus epidermis* masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada

medium Nutrien Agar (NA) miring selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

IV.1.2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (23)

Bakteri uji yang berumur 24 jam dari agar miring diatas disuspensikan dengan bantuan NaCl 0,9% steril dan bola-bola kaca berdiameter kurang lebih 0,5 cm. Suspensi tersebut kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi yang berisi medium NA diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran suspensi bakteri sampai diperoleh transmittan 25% terhadap blanko larutan NaCl 0,9% steril pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan kuvet berdiameter 13 mm. Cara ini dilakukan untuk masing-masing bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus epidermis* dan *Pseudomonas aeroginosa*.

IV.5 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

IV.1.1 Pengambilan Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) yang berasal dari Nabire, Papua.

Setelah itu 10 ml medium GNA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan kemudian dituangkan diatas medium GNA yang telah membeku dan dibiarkan setengah membeku.

Pencadang dengan diameter dalam 6 mm, diameter luar 3 mm, dan tinggi 10 mm, diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang setengah membeku. Jarak tiap pencadang 3 cm dan jarak pencadang dengan tepi media 2 cm. Tiap pencadang diisi dengan ekstrak buah merah yang telah disiapkan dan DMSO sebagai kontrol. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 X 24 jam lalu diukur daerah hambatannya.

IV.6.2 Pemisahan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (28)

Lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan oven pada suhu 100⁰C selama 30 menit sebelum digunakan. Ekstrak sampel di totolkan pada lempeng KLT ukuran 8 x 3 cm menggunakan tabung kapiler. Ekstrak sampel ditotolkan 1 cm dari dasar lempeng, biarkan beberapa saat hingga kering dan dimasukkan kedalam chamber (bejana kromatografi) yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi. Dibiarkan terelusi sampai batas 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari bejana dan diangin anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Selanjutnya diamati dibawah sinar UV 254 nm dan diberi tanda yang menghasilkan floresensi, kemudian dibuat kromatogramnya.

IV.6.3 Pengujian Secara KLT-bioautografi

Kedalam cawan petri steril dituang medium GNA secara aseptis sebanyak 15 ml dan dibiarkan membeku sebagai lapisan dasar (base layer). Setelah sebanyak 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan dituangkan keatas lapisan dasar (base layer). Setelah media memadat lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan media agar. Setelah 60 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan, kemudian medium yang telah ditemeli lempeng KLT diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 x 24 jam, lalu diamati zona hambatan yang terbentuk.

IV.6.4 Pengolahan Data dan Pembahasan.

Data dikumpulkan dengan melihat adanya daerah hambatan pada ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam), dengan konsentrasi yang berbeda terhadap beberapa bakteri uji, kemudian diolah secara statistika dengan metode Rancangan Acak kelompok (RAK) dan dilakukan analisis KLT – Bioautografi.

IV.6.5 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pengumpulan dan pengolahan data.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil penelitian

Hasil penelitian daya hambat dan analisis KLT-Bioautografi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis* dan *Pseudomonas aeruginosa* setelah inkubasi 24 jam adalah sebagai berikut :

A. Ekstrak etanol buah merah pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 2% dan 4% masing-masing menghasilkan diameter daya hambat rata – rata terhadap :

- a. Bakteri *Escherichia coli*: 11,08 mm, 12,05 mm, 12,91 mm, 13,51 mm.
- b. Bakteri *staphylococcus aureus* : 11,09 mm, 11,48 mm, 11,98 mm, 12,36 mm
- c. Bakteri *Streptococcus epidermis* : 12,07 mm, 13,40 mm, 14,05 mm, 12,95 mm
- d. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* : 12,09 mm, 13,05 mm, 12,75 mm, 13,30 mm.

B. Hasil dari analisis KLT – Bioautografi dengan menggunakan larutan pengembang Hexan : Etil asetat 7 : 2 , diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Terdapat satu noda aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan nilai Rf 0,2.

2. Terdapat satu noda aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus epidermis*. yaitu dengan nilai Rf 0,2.
3. Terdapat satu noda aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. yaitu dengan nilai Rf 0,2.
4. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* terdapat pada tempat penotolan.

V.2 Pembahasan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas anti bakteri dari ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam), terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian dilakukan dengan metode difusi yang kemudian dilanjutkan dengan KLT- Bioautografi .

Pengujian diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan pencadangan untuk mengetahui besarnya daerah hambatan yang terbentuk.

Pada pengujian daya hambat ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam). Digunakan konsentrasi yang berbeda – beda yaitu 0,25%, 0,5%, 2%, 4% (b/v), yang dilarutkan dalam DMSO (dimetilsulfoksida) yang merupakan pelarut untuk bahan-bahan yang bersifat non polar (minyak).

Berdasarkan hasil pengujian daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji dari ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam). Dengan konsentrasi masing-masing 0,25%, 0,5%, 2%, 4% (b/v) diperoleh hasil yaitu semua

konsentrasi memberikan efek daya hambat terhadap bakteri uji, tetapi ada perbedaan besarnya kandungan zat aktif, diameter hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol buah merah pada konsentrasi 4%. Pada bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus aureus* diameter hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol buah merah pada konsentrasi 4%, sedangkan pada bakteri *Streptococcus epidermis* diameter hambatan rata-rata terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol buah merah pada konsentrasi 2%. Perbedaan besarnya daya hambat untuk masing – masing konsentrasi terhadap bakteri uji, di mana yang seharusnya makin besar konsentrasi makin besar pula hambatannya, adanya penurunan daerah hambatan dengan peningkatan konsentrasi kemungkinan disebabkan karena peningkatan kekentalan sampel sehingga menyulitkan zat aktif untuk berdifusi kedalam media, karena salah satu faktor yang mempengaruhi uji daya hambat adalah kecepatan difusi bahan aktif dari tiap pencadang selain faktor yang lain seperti konsentrasi bahan aktif dalam pencadang, kepekaan pertumbuhan bakteri, ketebalan medium, reaksi antara bahan aktif dengan medium, viskositas medium dan temperatur inkubasi (26).

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAK) terhadap data hasil pengukuran diameter hambatan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antar tiap perlakuan (konsentrasi) yang diuji terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan semua bakteri uji yang digunakan, hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung yaitu 7,8958



lebih besar dari nilai F tabel pada taraf 5% (3,86) dan 1% (3,86), artinya ada pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri uji. Hasil analisis uji lanjutan antar perlakuan (konsentrasi) dengan menggunakan uji

Beda Nyata Jujur (BNJ) menunjukkan bahwa antar konsentrasi 0,25% dengan 0,5%, 0,25% dengan 2% dan 0,25% dengan 4% menunjukkan hasil yang sangat signifikan pada taraf 5%, tetapi tidak pada taraf 1%, sedangkan perbandingan antar perlakuan yang lainnya menunjukkan hasil yang tidak signifikan.

Sifat antibakteri ini kemungkinan disebabkan oleh adanya asam-asam lemak yang terkandung dalam sampel buah merah tersebut, dimana buah merah banyak mengandung zat-zat gizi yang bermanfaat dalam kadar tinggi, yaitu betakaroten, tokoferol, serta asam lemak seperti asam oleat, asam linoleat, asam linolenat dan asam dekanoat, asam lemak itulah yang merupakan antibiotik dan antivirus, mereka aktif melemahkan dan meluruhkan membran lipid mikroba serta mematikannya (2).

Berdasarkan uji KLT - Bioautografi dengan menggunakan larutan pengembang heksan : etil asetat (7: 2), menunjukkan bahwa tidak semua noda hasil pemisahan kromatografi lapis tipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, pada bioautogram tampak daerah hambatan pada daerah penotolan hal ini menunjukkan bahwa masih ada senyawa yang belum terpisah pada larutan pengembang yang digunakan.

Berdasarkan hasil KLT – Bioautografi terlihat hanya ada satu noda yang aktif mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* terdapat daerah hambatan pada tempat penotolan.

Senyawa antibakteri dalam buah merah kemungkinan bersifat bakterisid, yaitu dapat membunuh bakteri uji. Sifat bakterisid tersebut dapat diketahui dengan mengamati daerah hambatan yang terjadi tetap bening setelah diinkubasi selama 48 jam. Mekanisme antibakteri yang bersifat bakterisid adalah dengan cara mengganggu keutuhan membran sel mikroba. Menurut Wattimena (27), obat yang bekerja terhadap dinding sel dan membran sitoplasma memiliki cara kerja bakterisid, sebab mikroba tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar tanpa adanya dinding sel, begitupula bila terjadi kerusakan sel mikroba, maka dapat mengganggu pertukaran zat aktif yang penting untuk kelangsungan hidup mikroba.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistika dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam). Konsentrasi 0,25% b/v, 0,5% b/v, 2% b/v, 4% b/v memberikan perbedaan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Hasil uji KLT – Bioautografi menampakkan satu noda aktif yakni dengan nilai Rf 0,2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermis*, *Pseudomonas*.

VI. 2 Saran

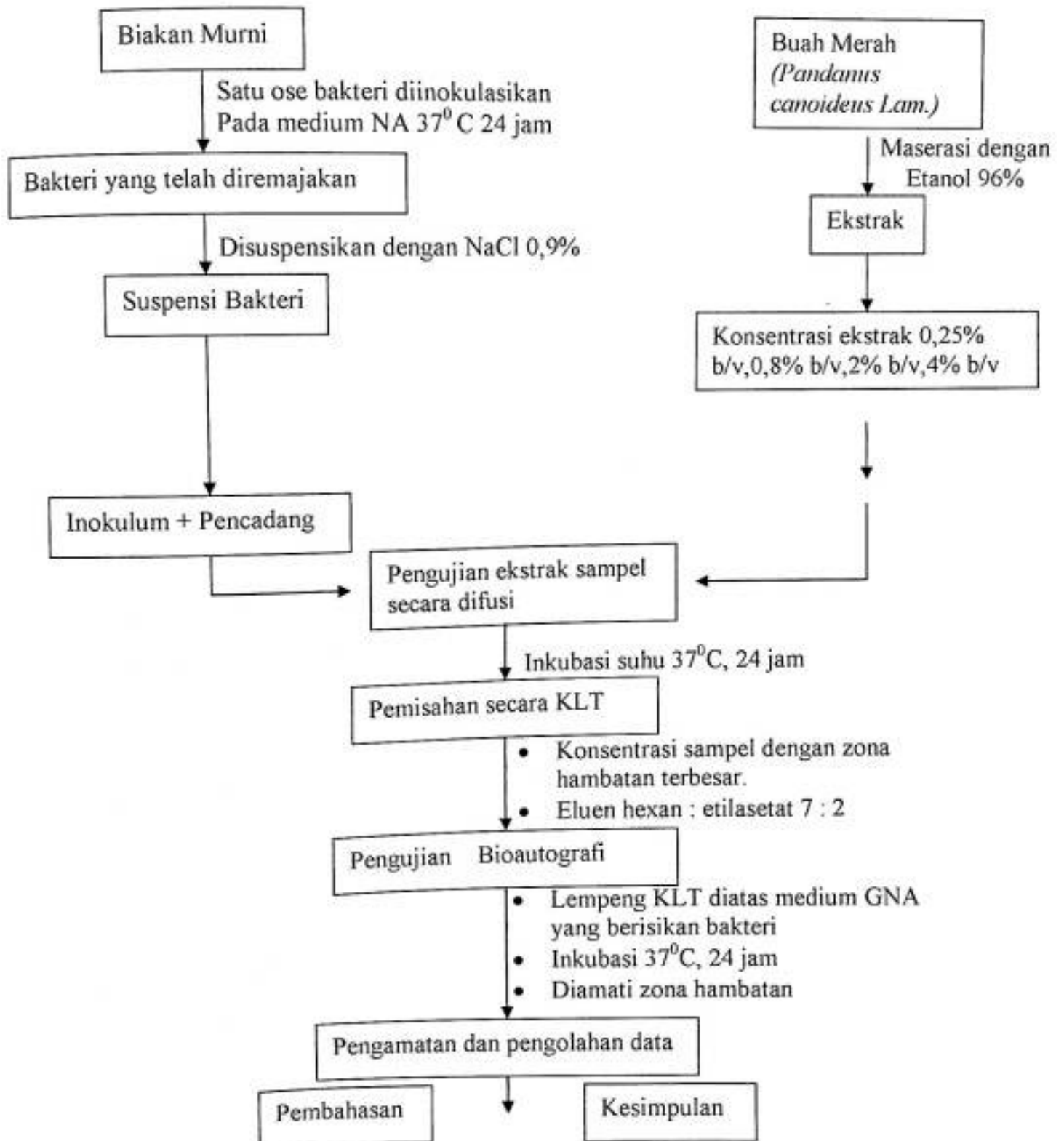
Untuk menambah data ilmiah dari tanaman buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) sebaiknya dilakukan isolasi dan identifikasi komponen kimia yang memiliki efek anti bakteri dengan metode lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Budi, I M. & Paimin, FR., 2004 , *Buah merah*, cet 1, Penebar Swadaya, Jakarta. 22-27, 41- 50.
2. Redaksi Trubus, 2005, *Buah Merah Bukti Empiris dan Ilmiah*, Cet 1, Penebar Swadaya, Jakarta. 58-61.
3. Redaksi Trubus, 2005, *Bukti Ilmiah Buah Merah*, Edisi April, PT. Trubus Swadaya, Jakarta. 12-15.
4. Redaksi Agromedia, 2005, *Pro dan Kontra Buah Merah; Pendapat Pakar dan Praktisi*, Cet. 1, PT. Agromedia Pustaka, Jakarta. 7-12.
5. Adnyana, S. I. M., 2005, *Buah Merah Asli Papua*, WWW. Buah Merah. Baliwae. Com, Denpasar Bali.
6. Wikimedia, 2006, *Buah Merah Papua*, www. Wikimedia.com, Jakarta.
7. Admin, 2005, *Sari Buah Merah*, www. Tsunamiduit. Com, Jakarta.
8. _____ ,. 2005, *Khasiat Buah Merah*, www. Iptek. Net. Id, Jakarta.
9. Ditjen POM, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
10. Direktorat Jenderal POM., (1979). *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
11. _____ . 1973. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 138 – 168.
12. _____ . 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IX. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 166 – 171
13. Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi* , Liberty, Yogyakarta, 34 – 36.
14. Gritter, R. J., Bobbit, J. M., Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*, Edisi kedua, Penerbit ITB, Bandung, 1, 107.

15. Adnan. M., 1997, *Tekhnik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*, Edisi Pertama, Cetakan pertama. Penerbit ANDI. Yogyakarta, 2, 9, 14, 17.
16. Betina. V., 1972, *Pharmaceutical Application Of Thin layer and paper Chromatography*, Amsterdam. 503 – 507.
17. Ganiswara, S. (1995). *Farmakologi Dan terapi*. Edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universita Indonesia. Jakarta 572 – 573.
18. Garrity, G., 2000. (1998). *Bergey's Manual Of Systemic Bacteriology* Volume I. USA. 420.
19. Suriawira, U., (1986). *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa Bandung. Hal. 29 – 69.
20. Burrows, W., 1985. *Text Book of Microbiology* 22 th Edition. W. B., Saunders Company. Philadelphia. 371 – 545.
21. Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta. 70 -71.
22. Jenkins, G. 1953. *Scoville's The Art of Compounding*. Edisi. IX, MC Graw Hill Book Company, Inc, New York, 203.
23. DIFCO. 1998. *Culture Media Handbook*. E. Merc Darmastadt, Federal Republik Of Germany, 124.
24. Djide , M. N., Sartini. 1992. *Metode Instrumental Dalam Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. 7
25. Yahya, M., Wiryanta, BTW., 2005, *Khasiat dan Manfaat Buah Merah Si Emas Merah Dari Papua*. PT. Agromedia Pustaka, jakarta. 13
26. Barnett, M. E., 1992, *Microbiology Laboratory Complete Version*, W. M. C. Brown Publisher, Dubugue, Indiana, 268.
27. Wattimena, J. R., Chan, E.C.S., 1991, *Farmakodinamika dan Terapi Antibiotika*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 57,62.
28. Cappucino, J., Natalie shermar., 1982, *Microbiology A Laboratory Manual*, Addison – Wesley Publishing Company Inc, Canada, 87
29. Direktorat Jenderal POM., (1995). *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. 89

SKEMA KERJA



Lampiran : Perhitungan analisis Rancangan Acak Kelompok (RAK) zona hambatan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap beberapa bakteri Uji.

Perlakuan	M1	M2	M3	M4	Σx	\bar{X}
C ₁	11,08	11,09	12,07	12,09	46,33	11,58
C ₂	12,05	11,48	13,40	13,05	49,98	12,49
C ₃	12,91	11,98	14,05	12,75	51,69	12,92
C ₄	13,51	12,36	12,95	13,30	52,12	13,03
	49,55	46,91	52,47	51,19	200,12	12,50

❖ Derajat bebas

$$\text{Db total} = 16 - 1 = 15$$

$$\text{Db kel} = 4 - 1 = 3$$

$$\text{Db per} = 4 - 1 = 3$$

$$\text{Db Galat} = 15 - 3 - 3 = 9$$

❖ Faktor koreksi

$$\text{FK} = \frac{y^2}{r.t} = \frac{(200,12)^2}{4.4} = \frac{40048,0144}{16} = 2503,0009$$

❖ Jumlah kuadrat total :

$$\begin{aligned} \text{Jk tot} &= \{(11,08)^2 \dots\dots\dots + (13,30)^2\} - \text{FK} \\ &= 2514,4986 - 2503,0009 \\ &= 11,4977 \end{aligned}$$

❖ Jumlah kuadrat kelompok

$$\begin{aligned}
 Jk \text{ Kel} &= \frac{\{(49,55)^2 + (46,91)^2 + (52,47)^2 + (51,19)^2\}}{4} - FK \\
 &= \frac{10029,2676}{4} - 2503,0009 \\
 &= 4,316
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Perl} &= \frac{\{(46,33)^2 + (49,98)^2 + (51,9)^2 + (52,12)^2\}}{4} - FK \\
 &= \frac{10032,8198}{4} - 2503,0009 \\
 &= 5,204
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Tot} - JK \text{ Kel} - JK \text{ Perl} \\
 &= 11,4977 - 4,316 - 5,204 \\
 &= 1,977
 \end{aligned}$$

❖ Kuadrat tengah kelompok

$$KTK = \frac{JKK}{db \text{ Kel}} = \frac{4,316}{3} = 1,4387$$

$$KTPerl = \frac{JKP}{db \text{ Per}} = \frac{5,204}{3} = 1,7347$$

$$KT \text{ Galat} = \frac{JG}{3.3} = \frac{1,977}{9} = 0,2197$$

❖ F hit :

$$\frac{KT \text{ Perl}}{KT \text{ Galat}} = \frac{1,7347}{0,2197} = 7,8958$$

❖ Koefisien keragaman :

$$= \frac{(KTG)^{1/2}}{\bar{U}} \times 1000\% = \frac{(0,219)^{1/2}}{12,50} \times 100\%$$

$$= 3,74\%$$

ANNOVA

SK	db	JK	KT	F. hit	F. Total	
					5%	1%
Kel	3	4,316	1,4387	6,54*	3,86	6,99
Perl	3	5,204	1,7347	7,8958**	3,86	6,99
Galat	9	1,977	0,2197			
Total	15	11,497				

❖ Perhitungan uji beda nyata jujur (BNJ)

$$\text{BNJ} = Q\alpha (P.V) \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

$$5\% = 3,63 \times 0,23 = 0,85$$

$$1\% = 6,42 \times 0,23 = 1,47$$

$$\bar{U} = 11,58; \bar{U}_2 = 12,49; \bar{U}_3 = 12,92; \bar{U}_4 = 13,03$$

$$\bar{U}_1 - \bar{U}_2 = |11,58 - 12,49| = 0,91 \text{ (signifikan pada taraf 5\%)}$$

$$\bar{U}_1 - \bar{U}_3 = |11,58 - 12,92| = 1,34 \text{ (signifikan pada taraf 5\%)}$$

$$\bar{U}_1 - \bar{U}_4 = |11,58 - 13,03| = 1,45 \text{ (signifikan pada taraf 5\% \& 1\%)}$$

$$\bar{U}_2 - \bar{U}_4 = |12,49 - 13,03| = 0,54 \text{ (signifikan pada taraf 5\% \& 1\%)}$$

$$\bar{U}_3 - \bar{U}_4 = |12,92 - 13,03| = 0,11 \text{ (signifikan pada taraf 5\% \& 1\%)}$$

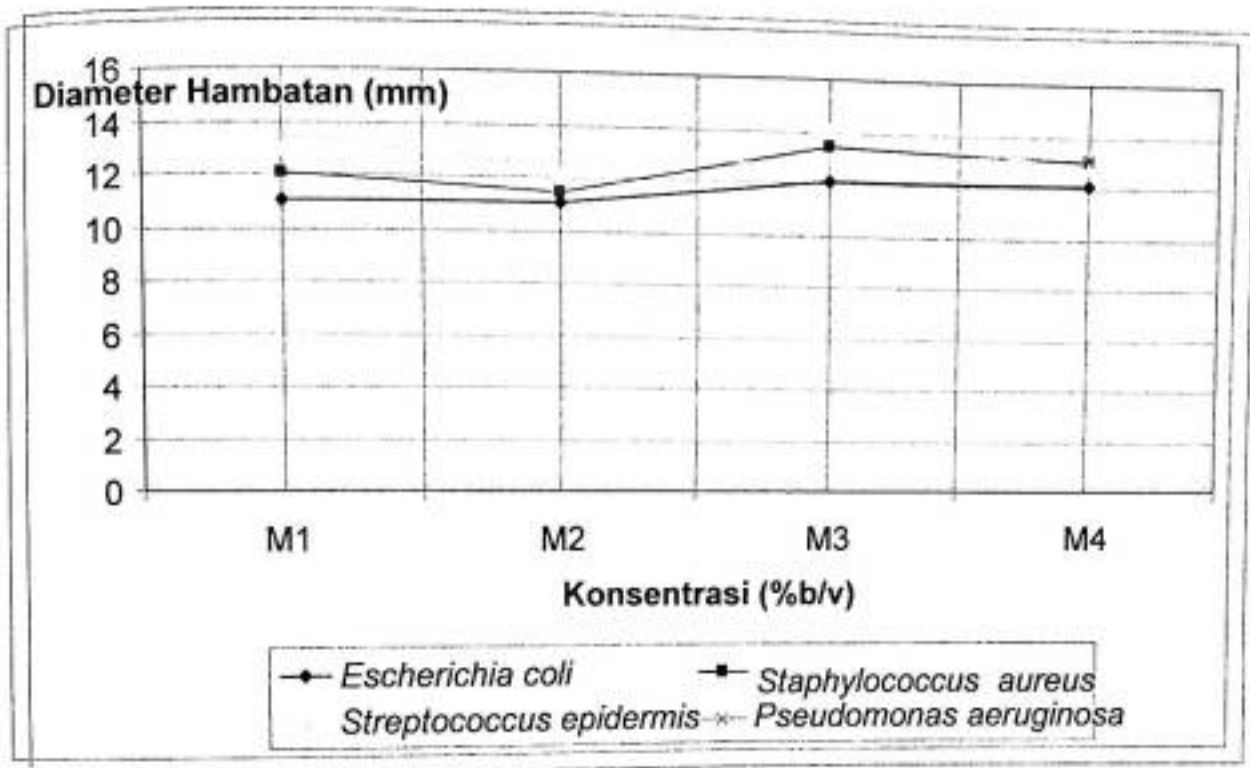
Keterangan:

\bar{U}_1 = Diameter hambatan rata-rata konsentrasi 0,25%

\bar{U}_2 = Diameter hambatan rata-rata konsentrasi 0,5%

\bar{U}_3 = Diameter hambatan rata-rata konsentrasi 2%

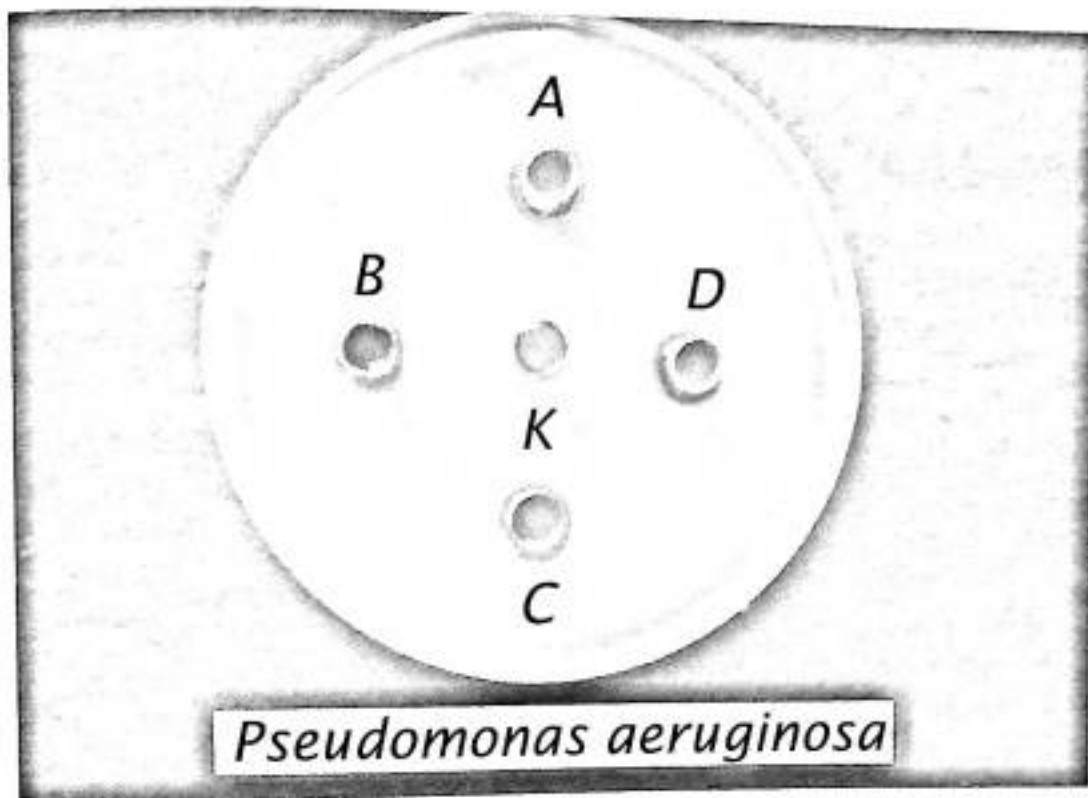
\bar{U}_4 = Diameter hambatan rata-rata konsentrasi 4%



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi (% b/v) dengan diameter hambatan (mm) ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap beberapa bakteri uji.

Keterangan :

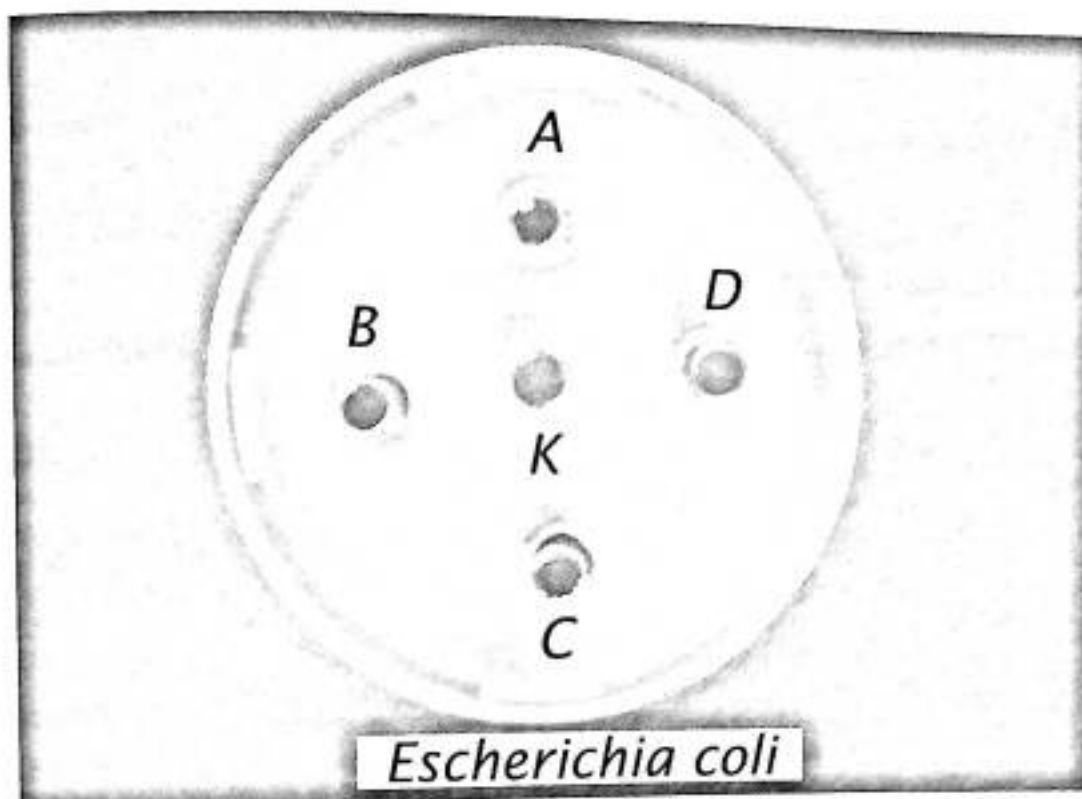
- M1 : Konsentrasi 0,25%
- M2 : Konsentrasi 0,5%
- M3 : Konsentrasi 2%
- M4 : Konsentrasi 4%



Gambar 2. Foto daerah hambatan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Keterangan :

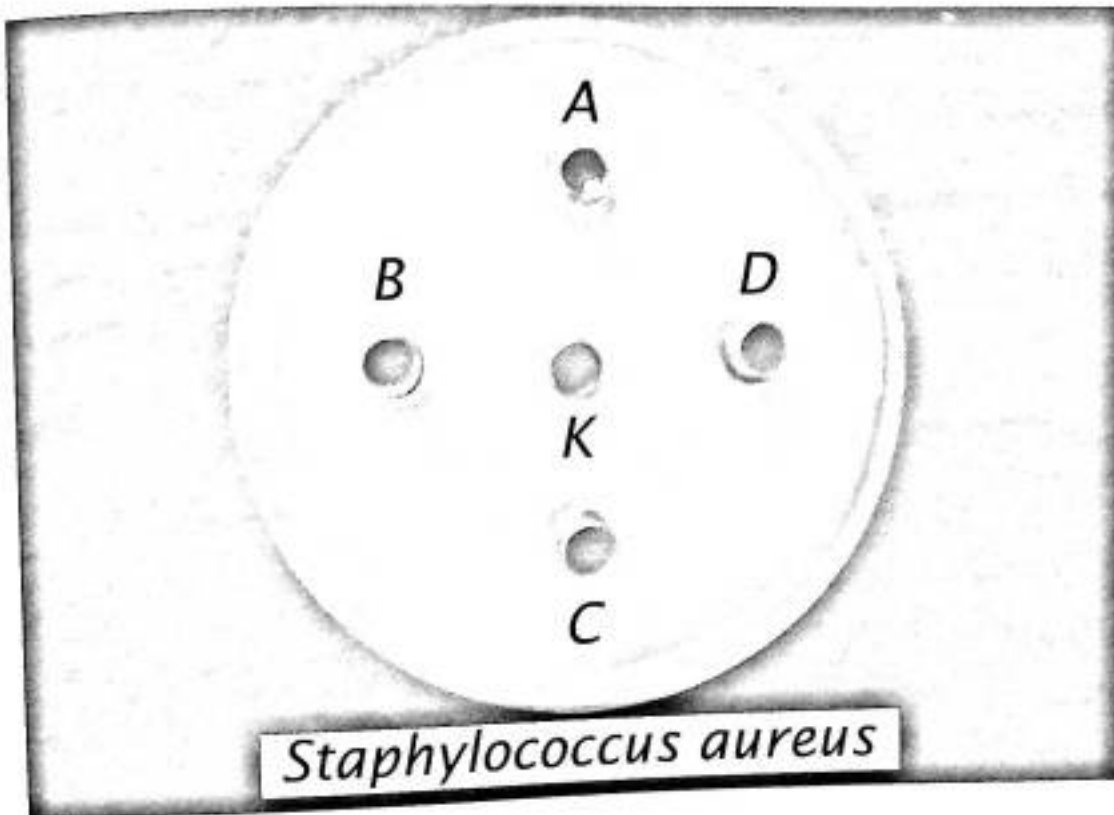
- A. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,25%
- B. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,5%
- C. Konsentrasi Ekstrak Etanol 2%
- D. Konsentrasi Ekstrak Etanol 4%
- K. Kontrol



Gambar 3. Foto daerah hambatan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri *Escherichia coli*

Keterangan :

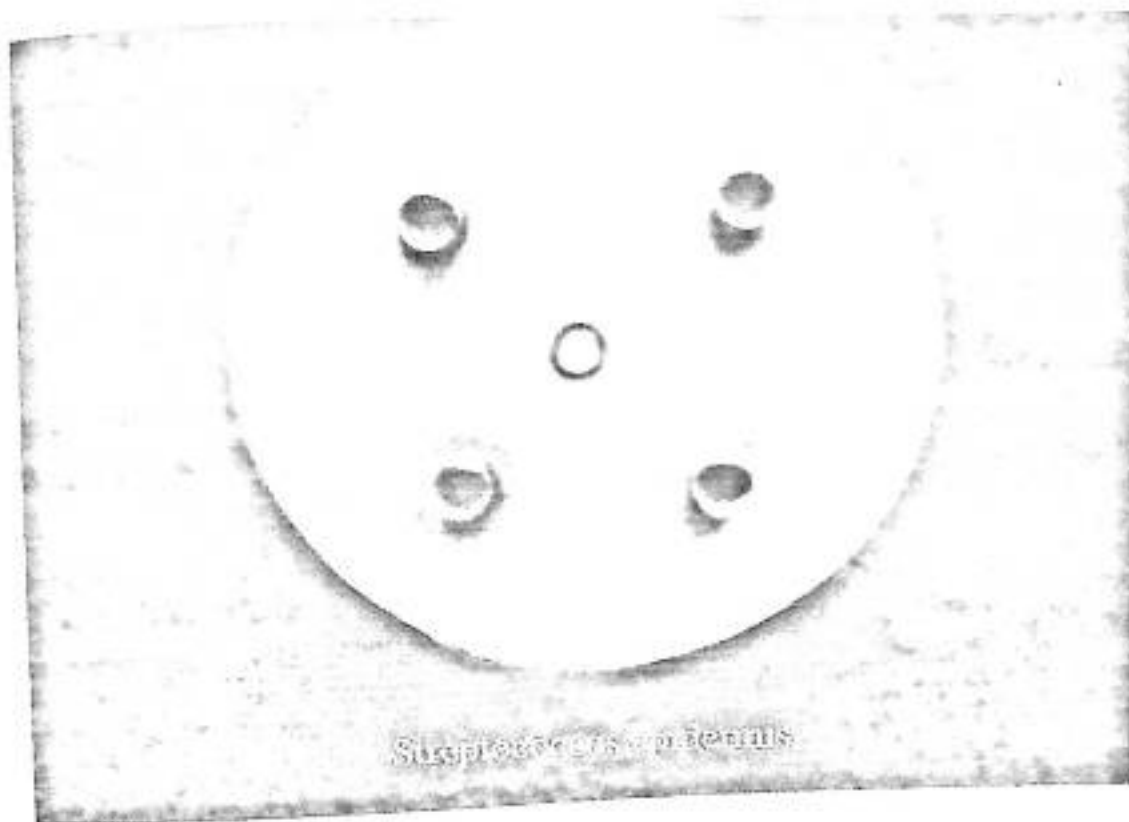
- A. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,25%
- B. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,5%
- C. Konsentrasi Ekstrak Etanol 2%
- D. Konsentrasi Ekstrak Etanol 4%
- K. Kontrol



Gambar 4. Foto daerah hambatan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

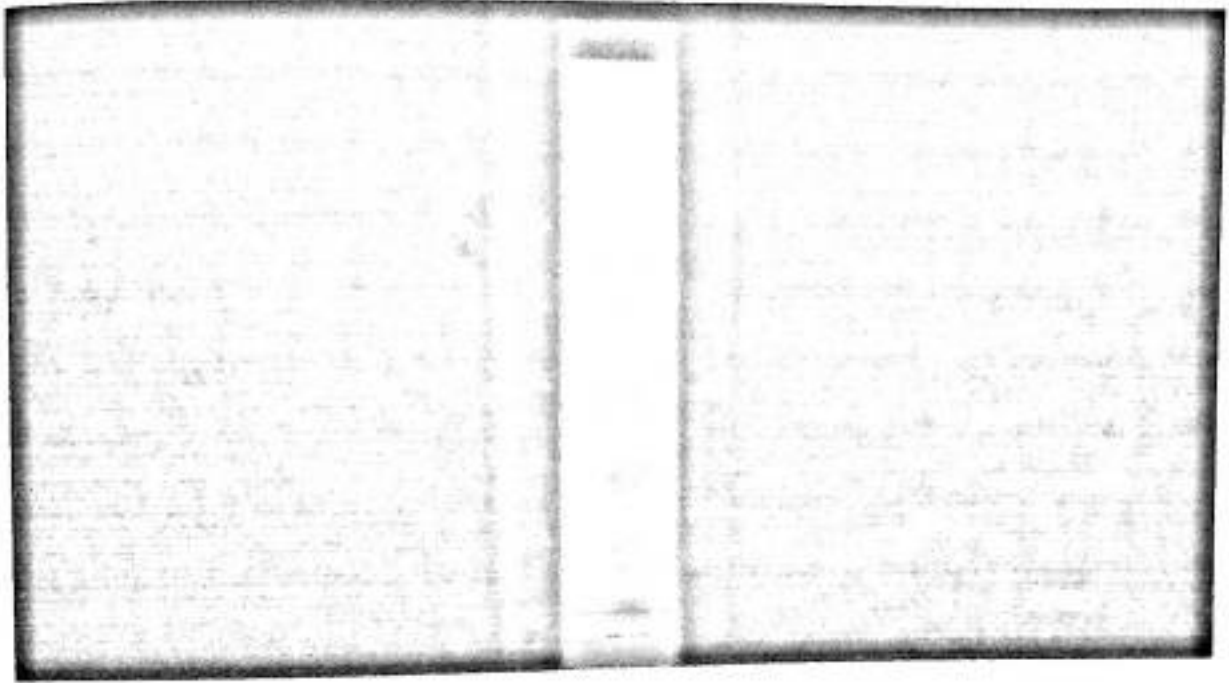
- A. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,25%
- B. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,5%
- C. Konsentrasi Ekstrak Etanol 2%
- D. Konsentrasi Ekstrak Etanol 4%
- K. Kontrol



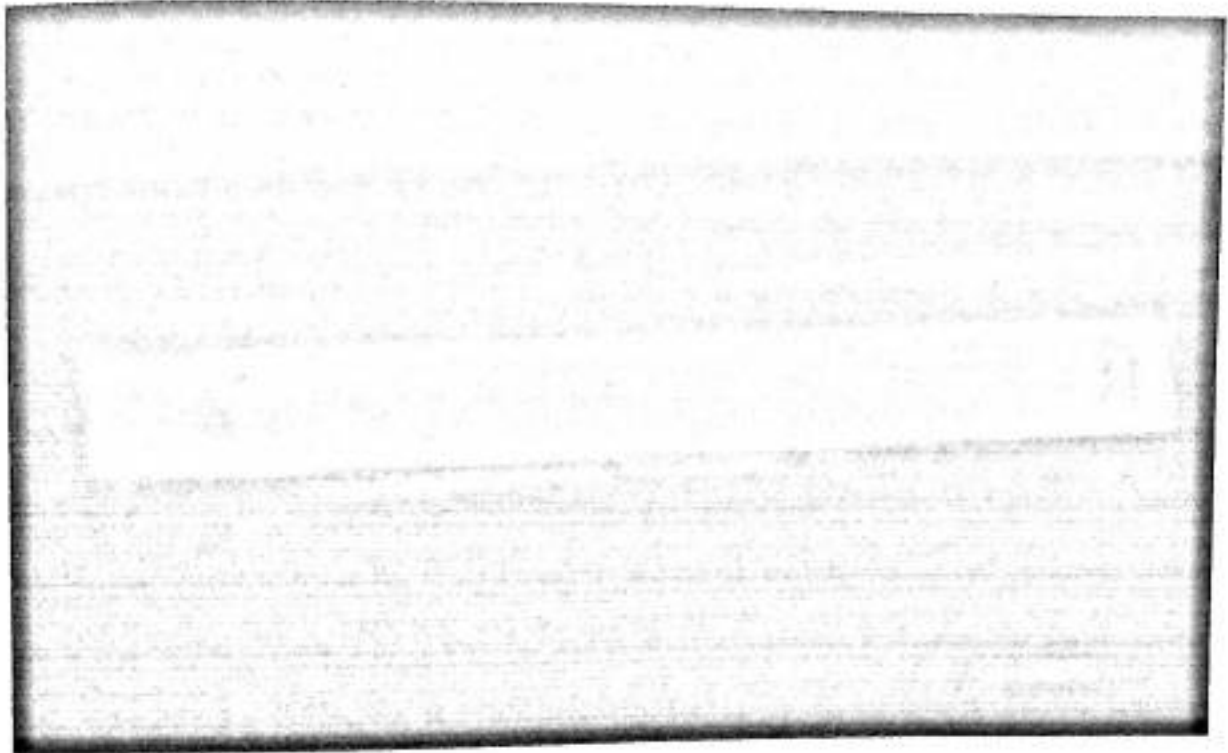
Gambar 5. Foto daerah hambatan ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap bakteri *Streptococcus epidermidis*

Keterangan :

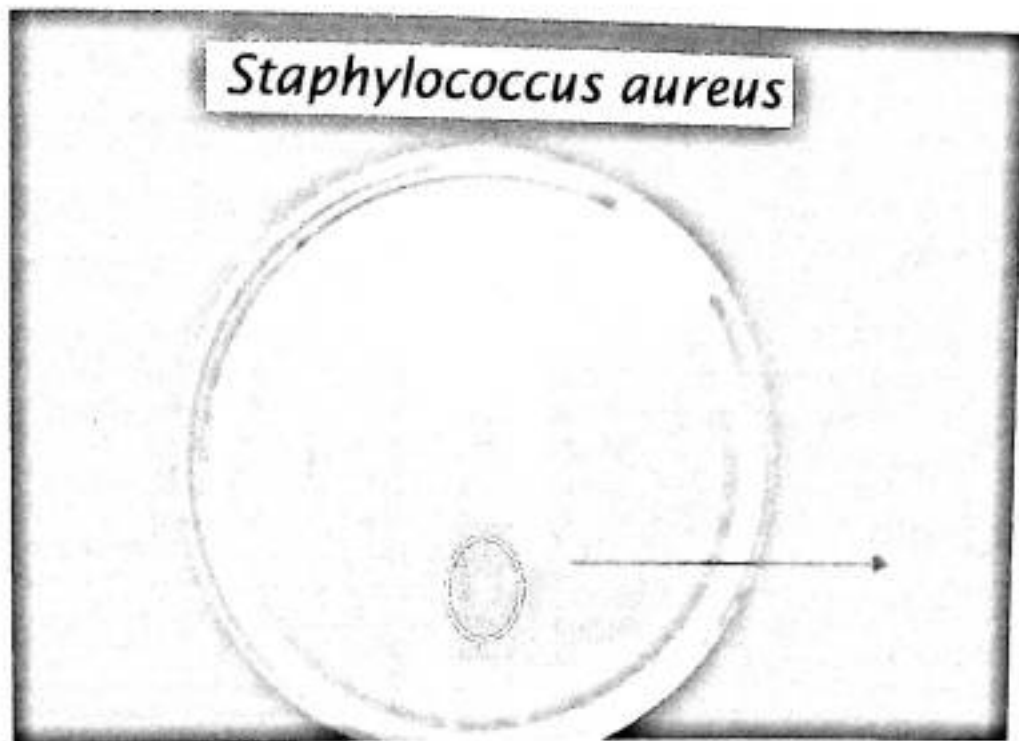
- A. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,25%
- B. Konsentrasi Ekstrak Etanol 0,5%
- C. Konsentrasi Ekstrak Etanol 2%
- D. Konsentrasi Ekstrak Etanol 4%
- K. Kontrol



Gambar 6. Kromatogram hasil Kromatografi Lapis tipis (KLT) ekstrak etanol Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan cairan pengembang hexan : etil asetat 7 : 2 dengan penampak noda lampu UV 254 nm



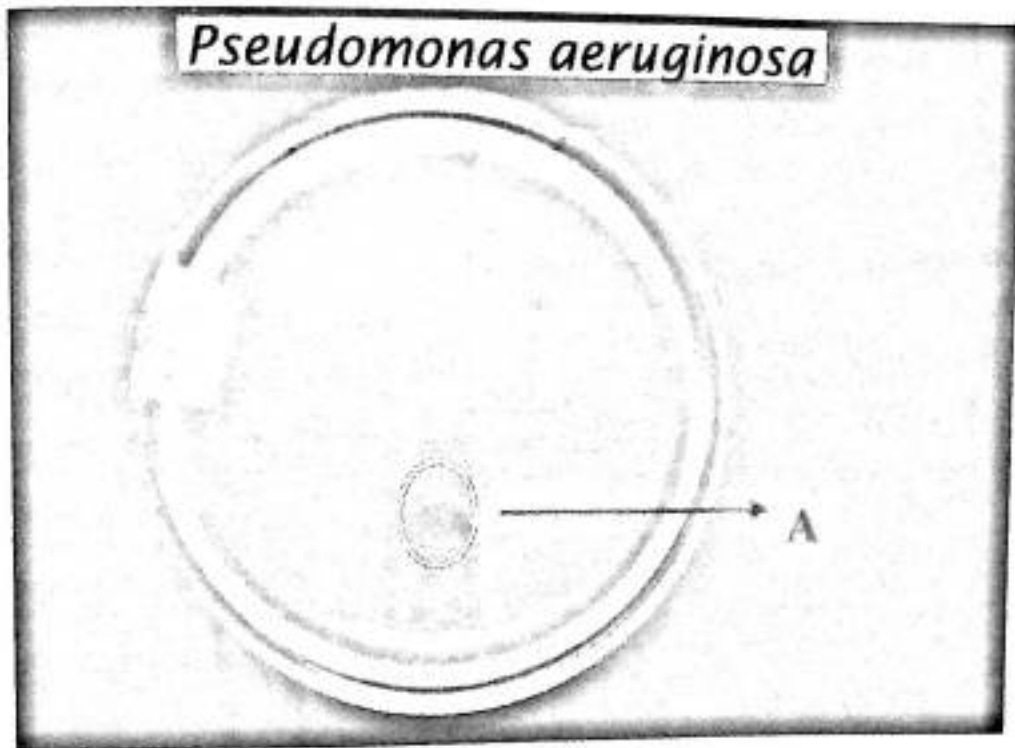
Gambar 7. Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan cairan pengembang hexan : etil asetat 7 : 2 dengan penampak noda lampu UV 366 nm.



Gambar 8. Foto bioautografi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.), dengan cairan pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

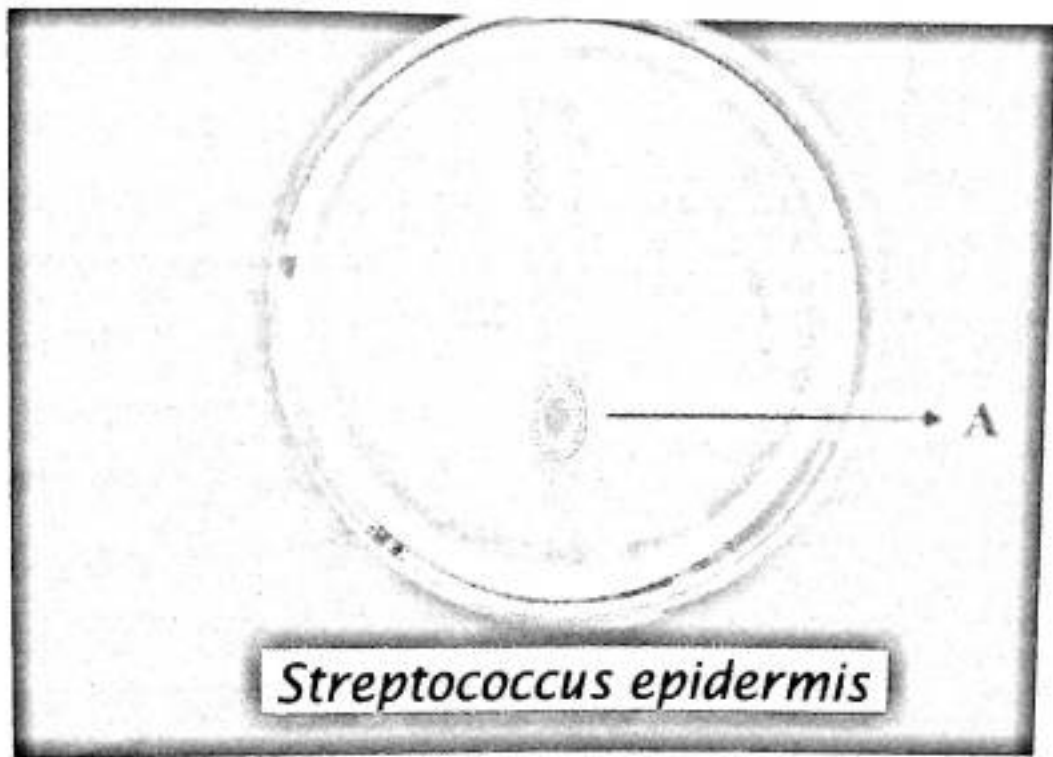
A. Noda 1 dengan nilai Rf



Gambar 9. Foto bioautografi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan cairan pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Keterangan :

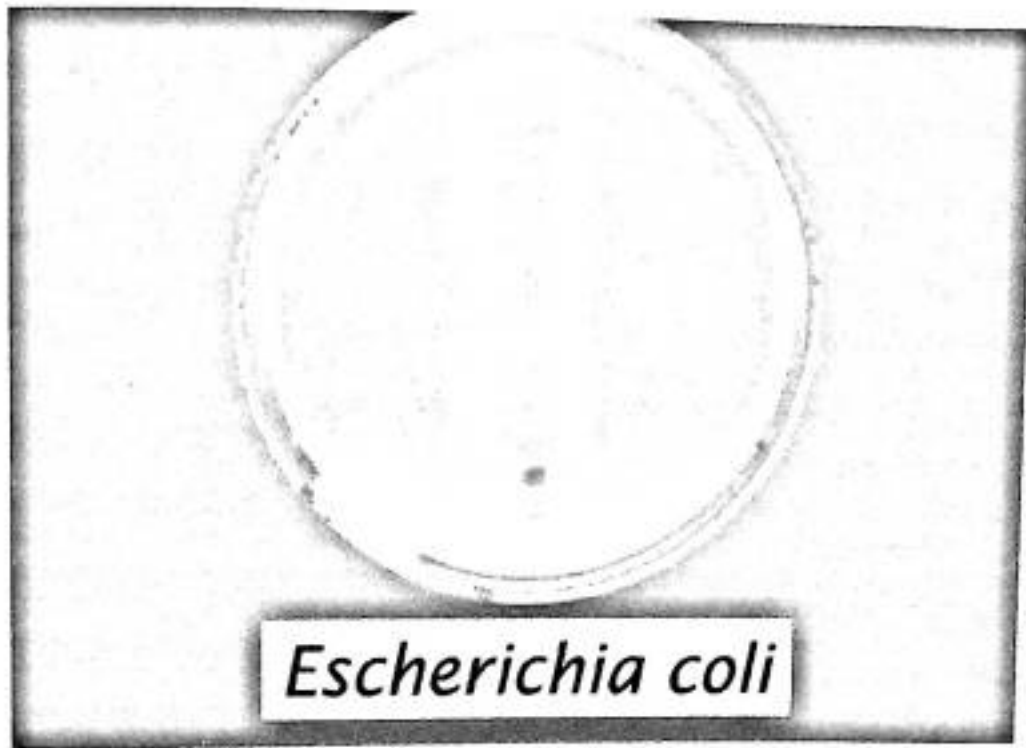
A. Noda 1 dengan nilai Rf 0,2



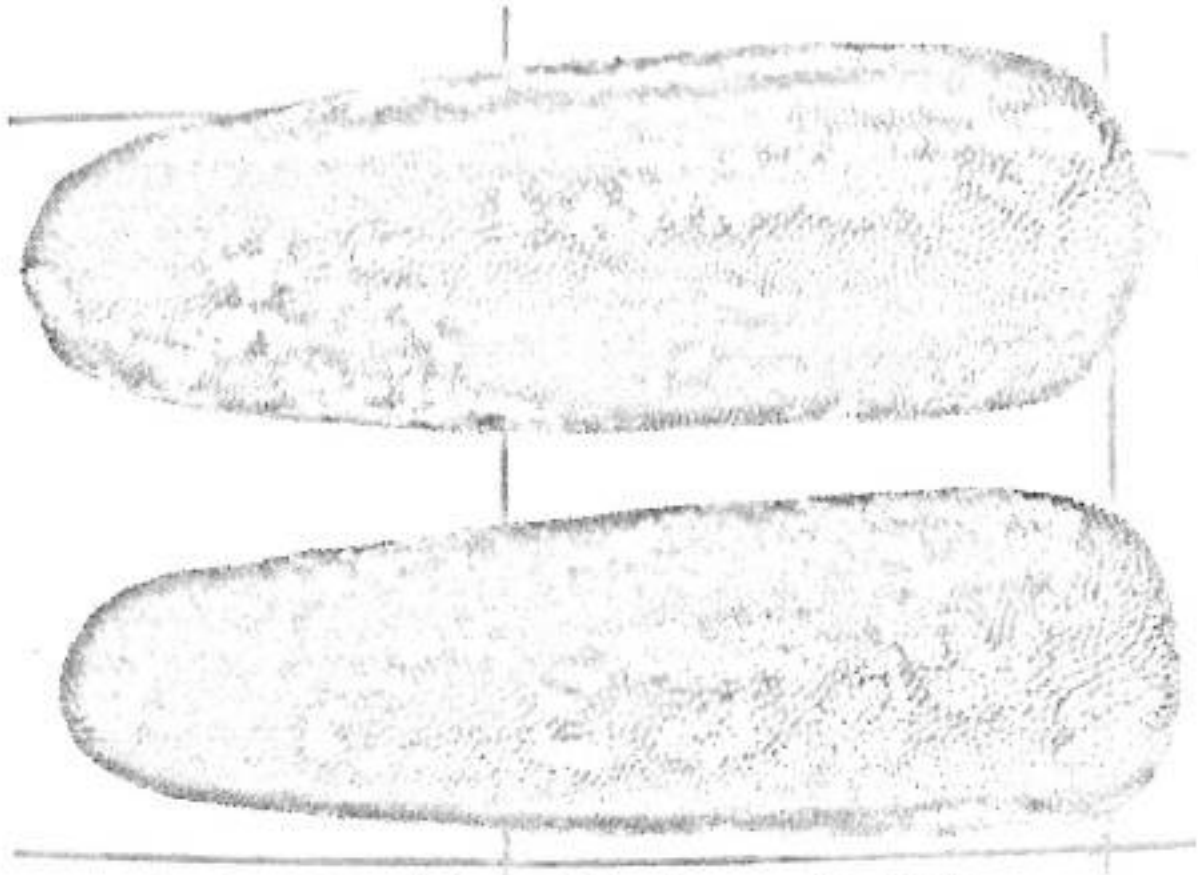
Gambar 10. Foto bioautografi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) dengan cairan pengembang hexan : etil asetat = 7 : 2 terhadap bakteri *Streptococcus epidermis*.

Keterangan :

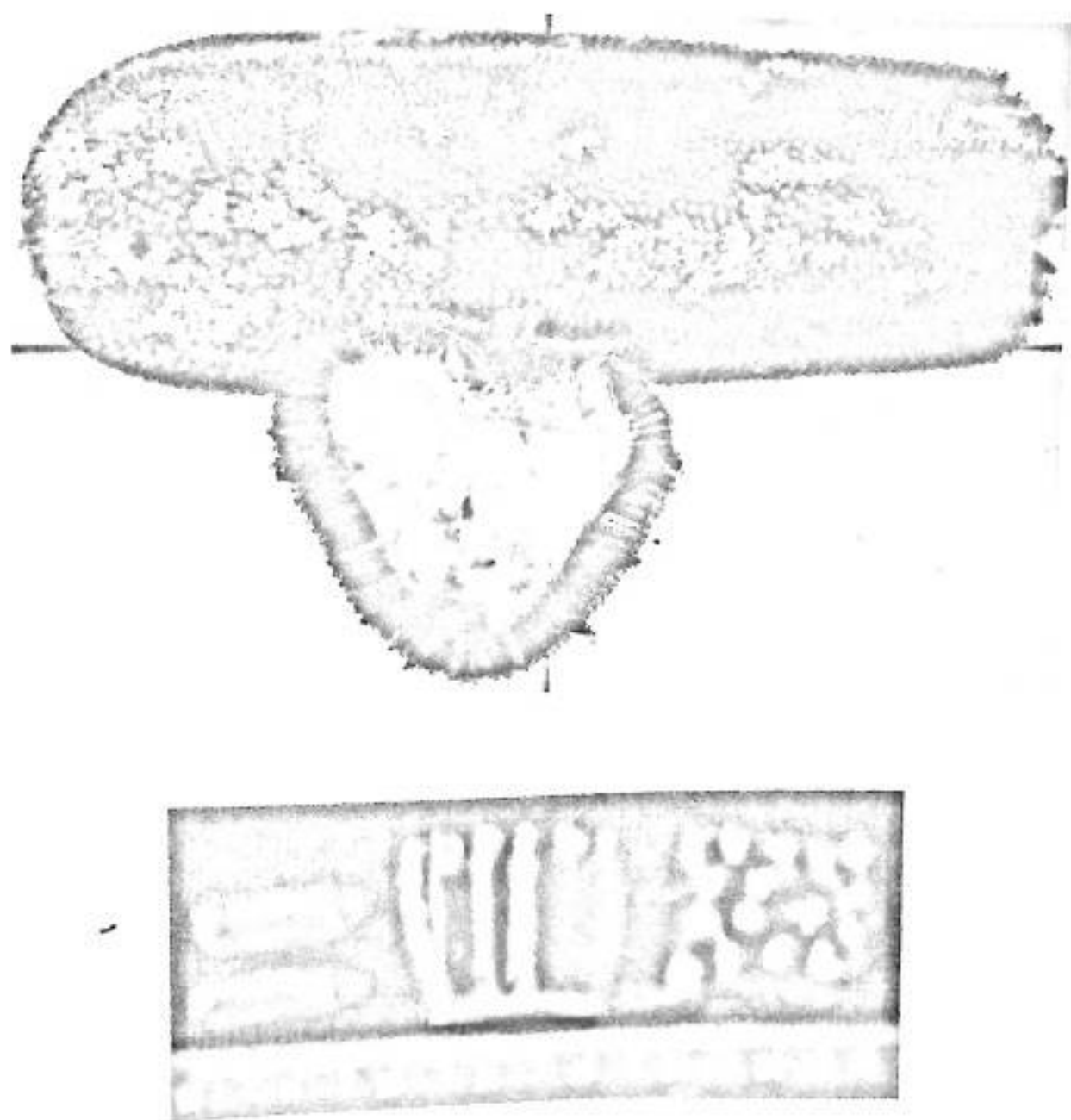
A. Noda 1 dengan nilai Rf 0,2



Gambar 11. Bioautografi ekstrak etanol buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) dengan larutan pengelusi heksan : etil asetat (7 : 2) terhadap bakteri *Escherichia coli*



Gambar 12. Foto buah merah (*Pandanus conoideus* Lam)



Gambar 13. buah merah (*Pandanus conoideus* Lam)