

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS KLT-  
BIOAUTOGRAFI INFUS HERBA TUMBUHAN AKAR  
KUCING (*Acalypha indica* L.) TERHADAP BEBERAPA  
BAKTERI PENYEBAB DIARE

OLEH :

ERNA ERAWATY  
H511 01 772 -1



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	16-01-04
Asal Dari	MIPA
Banyaknya	1 (set) exp
Harga	Hardul
No. Inventaris	0401624 17746 (MPS)

PROGRAM EKSTENSI JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2003

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS KLT-  
BIOAUTOGRAFI INFUS HERBA TUMBUHAN AKAR  
KUCING (*Acalypha indica* L.) TERHADAP BEBERAPA  
BAKTERI PENYEBAB DIARE

OLEH :

ERNA ERAWATY  
H511 01 772 -1



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	16-01-04
Asal Dari	MIPA
Banyaknya	1 [set] exp
Harga	Gratis
No. Inventaris	0401624 17746 (MP)

PROGRAM EKSTENSI JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2003

# **SKRIPSI**

**OLEH :**

**ERNA ERAWATY  
H511 01 772 -1**

**PROGRAM EKSTENSI JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2003**

**UJI AKTIFITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS KLT-  
BIOAUTOGRAFI INFUS HERBA TUMBUHAN AKAR  
KUCING (*Acalypha indica* L.) TERHADAP BEBERAPA  
BAKTERI PENYEBAB DIARE**

**OLEH :**

**ERNA ERAWATY  
H511 01 772 -1**

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

**PROGRAM EKSTENSI JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2003**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS KLT-  
BIOAUTOGRAFI INFUS HERBA TUMBUHAN AKAR  
KUCING (*Acalypha indica* L.) TERHADAP BEBERAPA  
BAKTERI PENYEBAB DIARE**

Disetujui Oleh :

Pembimbing utama



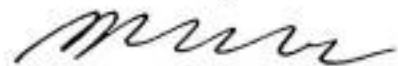
(Dra. Sartini, M.Si.)  
NIP. 131 696 222

Pembimbing Pertama



(Dra. Rosany Tayeb)  
NIP. 131,637 601

Pembimbing Kedua



(Drs. Andrew Ollich)  
Nip. 131 287 214

Pada tanggal :

## UCAPAN TERIMA KASIH

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

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dra. Sartini, M.Si, selaku pembimbing utama, Ibu Dra. Rosany Tayeb selaku pembimbing pertama dan Bapak Drs. Andrew Ollich selaku pembimbing kedua serta Ibu Dra. Rahmawati Syukur, selaku Penasehat Akademik, yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, petunjuk dan saran yang berharga sejak di mulainya penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.

Demikian pula kami ucapkan banyak terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Ketua Program Non Reguler Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh staf Dosen dan karyawan FMIPA Universitas Hasanuddin, yang telah membimbing penulis baik secara langsung maupun tidak langsung selama penyelesaian study.

5. Kawan-kawan Mahasiswa jurusan farmasi, terutama yang memberikan dorongan dan perhatian selama pelaksanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Rasa terima kasih tak terhingga penulis haturkan kepada Keluarga tercinta, Ayahanda Muh. Djufri Yusuf dan Ibunda Sulistiowaty serta semua adik-adikku tersayang dan juga seluruh keluarga yang kesemuanya adalah sumber inspirasi dan selalu mendoakan penulis dalam penyelesaian studi penulis.

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

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

Makassar, Desember 2003

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas anti bakteri dan analisis KLT-bioautografi infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) terhadap beberapa bakteri penyebab diare. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data mikrobiologis dari tanaman akar kucing. Penelitian ini meliputi penyarian dengan metode Infudasi dengan pelarut air suling. Infus dibuat pada konsentrasi 10 % , 15 % , 20 % dan 25 % b/v. penelitian dan pengukuran diameter hambatan yang terbentuk dari infus herba akar kucing terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Shigella bodyii* dan *Vibrio Cholerae* dilakukan dengan menggunakan metode difusi pada medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dan memberikan diameter daerah hambatan terbesar pada konsentrasi 25% b/v terhadap bakteri *Shigella bodyii* adalah 19,8 mm. Pemisahan secara KLT diperoleh satu noda dengan nilai Rf 0,94 dengan cairan pengelusi Etil Asetat : Etanol : Air , perbandingan 7 :2 :1 dan Rf 0,9 dengan cairan pengelusi Kloroform : Metnol : Air, perbandingan 7 : 3 : 0,5, yang merupakan senyawa yang bersifat antibakteri dan diduga senyawa Polifenol. Dan Hasil Analisis Statistik menunjukkan bahwa konsentrasi infus herba tumbuhan akar kucing dan jenis bakteri berpengaruh sangat nyata terhadap diameter daerah hambatan.



## ABSTRACT

A research about assay of antibacterial activity and the KLT-BIOAUTOGRAFI analyse of plant herba Akar Kucing (*Acalypha Indica* L.) infus to some bacteria of diarrhoea cause. This research aim to get the microbiologis data from plant akar kucing. This research cover digest with the Infudasi method with using aquadest. Concentration of infus are 10 %, 15 %, 20 % and 25 % b/v. The research and measurement of resistance diameters which formed of infus plant herba akar kucing to bacterium test the *Escherichia Coli*, *Salmonella Thyphi*, *Shigella Bodyii* and *Vibrio Cholerae* done by using diffusion method on Glucose Nutrient Agar (GNA) with incubated during 24 hours at the temperature of 37°C. The result of research give the biggest resistance area diameter at concentration 25 % b/v to bacterium of *Shigella bodyii* is 19,8 mm. Dissociation by KLT is obtained one stain with the value Rf 0,94 wit the dilution of Acetate Ethyl : Etanol: Aquadest, comparison 7 : 2 : 1 and Rf 0,9 with the dilution of Chloroform : methanol: aquadest, comparison 7 : 3 : 0,5, representing compound having the character of antibacteri that is compound Polifenol. And Result of statistical analysis indicate that the concentration from bacterium type have an effect on very real to diameter of resistance area.

## DAFTAR ISI

Ucapan terima kasih .....	iv
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar isi .....	viii
Daftar Gambar .....	xi
Daftar tabel .....	xii
Daftar Lampiran .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II POLA PENELITIAN .....	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA .....	7
III.1. Uraian Tanaman Akar Kucing .....	7
III.1.1. Klasifikasi Tanaman .....	7
III.1.2. Nama Asing dan Daerah .....	7
III.1.3. Morfologi Tanaman .....	8
III.1.4. Tempat Tumbuh .....	8
III.1.5. Kandungan Kimia .....	8
III.1.6. Kegunaan .....	8
III.2. Metode Ekstraksi Bahan Aiam .....	9
III.2.1. Tujuan Ekstraksi .....	9
III.2.2. Jenis-Jenis Ekstraksi .....	9
III.3. Uraian Bakteri Uji .....	10

III.3.1. <i>Escherichia coli</i> .....	10
III.3.2. <i>Shigella boydii</i> .....	11
III.3.3. <i>Vibrio cholerae</i> .....	12
III.3.4. <i>Salmonella thypi</i> .....	12
III.4. Diare.....	13
III.5. Metode Pemisahan .....	16
III.5.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	16
III.5.2. KLT – Bioautografi .....	17
III.6. Mekanisme Kerja Antimikroba.....	21
III.7. Pengujian secara Mikrobiologis .....	23
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN .....	26
IV.1. Penyiapan Alat dan Bahan .....	26
IV.1.1. Alat-alat yang digunakan .....	26
IV.1.2. Bahan-bahan yang digunakan .....	27
IV.2. Pengambilan dan Pengolahan Sampel .....	28
IV.2.1. Pengambilan Sampel.....	28
IV.2.2. Pengolahan Sampel .....	28
IV.3. Pembuatan Infus .....	28
IV.4. Sterilisasi Alat.....	29
IV.5. Pembuatan Medium.....	29
IV.5.1. Pembuatan Nutrient Agar (NA) .....	29
IV.5.2. Pembuatan Glukosa Nutrient Agar (GLA).....	30

IV.6. Pembuatan Larutan Perbandingan .....	31
IV.7. Penyiapan Bakteri .....	31
IV.7.1 Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji .....	31
IV.7.2. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji .....	31
IV.8. Pengujian Infus.....	32
IV.8.1. Penentuan Daerah Hambatan .....	32
IV.8.2. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis .....	33
IV.8.3. Pengujian Secara KLT – Bioautografi .....	33
IV.8.4. identifikasi Golongan Senyawa Anti Bakteri.....	34
IV.9. Pengolahan dan Analisis Data .....	34
IV.10. Pembahasan .....	34
IV.11. Pengambilan Kesimpulan .....	34
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
V.1. Hasil Penelitian.....	35
V.2. Pembahasan .....	36
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>40</b>
VI.1. Kesimpulan.....	40
VI.2. Saran .....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Histogram perbandingan diameter hambatan tiap konsentrasi pada empat jenis bakteri uji .....	50
2. Foto tumbuhan akar kucing .....	51
3. Diameter zona hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) terhadap bakteri <i>shigella bodyii</i> dengan masa inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C .....	52
4. Diameter zona hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) terhadap bakteri <i>salmonella thypi</i> dengan masa inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C .....	52
5. Diameter zona hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dengan masa inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C .....	53
6. Diameter zona hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) terhadap bakteri <i>Vibrio cholerae</i> dengan masa inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C .....	53
7. Bioautogram infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) konsentrasi 25% dengan larutan pengelusi kloroform : metanol : air, perbandingan 7 : 3 : 0,5 dan bakteri uji <i>Shigella bodyii</i> .....	54
8. Bioautogram infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) konsentrasi 25% dengan larutan pengelusi etil asetat : etanol : air, perbandingan 7 : 3 : 0,5 dan bakteri uji <i>Escherichia coli</i> .....	55
9. Bioautogram infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) konsentrasi 25% dengan larutan pengelusi etil asetat : etanol : air, perbandingan 7 : 3 : 0,5 dan bakteri uji <i>Vibrio cholerae</i> .....	56

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
I Hasil pengukuran diameter hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) .....	35
II Hasil perhitungan diameter daerah hambatan infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) terhadap bakteri uji dengan masa inkubasi 24 jam .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan analisis factorial infus infus herba tumbuhan akar kucing ( <i>Acalypha indica</i> L) .....	44
2. Skema kerja .....	58



## BAB I

### PENDAHULUAN

Salah satu program pemerintah dalam bidang kesehatan adalah upaya pengadaan bahan baku obat atas usaha sendiri. Bahan baku tersebut dapat berasal dari bahan sintesis maupun bahan alam seperti tumbuhan, hewan, mikroorganisme dan mineral yang banyak terdapat di Indonesia tetapi belum dimanfaatkan secara optimal. Untuk itu perlu dilakukan penelitian-penelitian fitokimia dan farmakologi dilanjutkan dengan penelitian aktifitas farmakologi maupun uji klinik secara berkesinambungan (1).

Masyarakat Indonesia dalam situasi dan kondisi perekonomian yang kurang menguntungkan dewasa ini, khususnya dibidang pemeliharaan kesehatan, mendorong peninjauan potensi alam nabati Indonesia dalam upaya menanggulangi beberapa penyakit atau gangguan kesehatan yang mungkin timbul. Tumbuhan obat yang merupakan simplisia obat tradisional telah lama digunakan oleh masyarakat berdasarkan pengalaman secara turun temurun sehingga perlu dikaji dan dikembangkan. Upaya peningkatan penggunaan obat tradisional agar dapat diterima pada pelayanan kesehatan formal sedang digalakkan oleh pemerintah melalui SP3T (Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional) sehingga penelitian tersebut akan menghasilkan informasi yang mendukung data medisnya dan pada akhirnya mendapatkan hasil yang secara ilmiah dapat



dipertanggungjawabkan penggunaannya, tidak hanya berdasarkan pada pengalaman saja, tetapi telah didukung oleh data ilmiah (2).

Tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) suku Euphorbiaceae yang berupa herba dengan tinggi 30-50 cm yang banyak sekali tumbuh di lapangan berumput dan di lereng-lereng gunung. Tanaman ini memiliki rasa yang pahit, pada akar dan batangnya mengandung saponin, flavonoid dan tanin sedangkan daunnya mengandung minyak atsiri (3). Merupakan salah satu jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan, khususnya masyarakat kelurahan Baraya sebagai bahan ramuan obat untuk berbagai jenis penyakit seperti radang tenggorokan (bronchitis), tuberkulosis (TBC) dan antidiare dengan cara merebus daun tumbuhan akar kucing. Sejalan dengan uraian di atas, tumbuhan akar kucing dihadapkan pada masalah penggunaannya sebagai obat yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah keamanan, khasiat dan pemakaiannya, maka perlu dilakukan tahapan pengujian dan pengembangan secara sistematis. Tumbuhan ini telah diidentifikasi komponen kimianya oleh Murwati dan Agus Trisnawati (1999), di mana diperoleh satu fraksi yang hasilnya menunjukkan reaksi positif terhadap steroid dan telah diuji toksisitas akutnya oleh Muhamad Gasali (2001), di mana diperoleh nilai LD<sub>50</sub> ekstrak metanol akar tumbuhan akar kucing adalah sebesar 14,295 g/kg BB mencit/sekali pemberian yang dikategorikan sedikit toksis atau toksisitas rendah.

Diare adalah suatu gejala klinik dari gangguan saluran pencernaan (usus) yang ditandai dengan buang air besar berulang-ulang, disertai perubahan bentuk dan konsistensi dari feces sehingga penderita kehilangan cairan tubuh dan akhirnya menyebabkan kematian. Penyakit diare dapat diklasifikasikan sebagai diare akut dan diare kronik. Diare akut adalah diare yang timbul secara mendadak, penyebab diare akut antara lain adalah bakteri *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Eschericia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Shigella sp* dan *Salmonella sp*. Sedangkan diare kronik merupakan diare yang berlangsung lebih dari 2 minggu (4,5).

Bertolak dari uraian tersebut di atas maka dilakukan pengujian terhadap infus herba tumbuhan akar kucing apakah dapat menghambat atau membunuh beberapa bakteri penyebab diare dan berapa komponen dalam infus ini yang bersifat sebagai antibakteri khususnya terhadap bakteri penyebab diare, untuk itu telah dilakukan penelitian dengan maksud adalah untuk mengetahui aktifitas dari infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) terhadap pertumbuhan beberapa bakteri penyebab diare dilanjutkan dengan pengujian KLT-bioautografi untuk mengetahui jumlah dan golongan senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare tersebut. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh data ilmiah khasiat tanaman akar kucing terutama aktifitasnya terhadap bakteri penyebab diare.

## BAB II

### POLA PENELITIAN



#### II.1 Pengambilan Sampel dan Pembuatan Infus

##### II.1.1 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

###### II.1.1.1 Pengambilan Sampel

Sampel herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) diperoleh dari Kelurahan Baraya Kota Makassar Propinsi Sulawesi Selatan.

###### II.1.1.2 Pengolahan Sampel

Herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) yang telah dikumpulkan dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian di potong-potong kecil dengan ukuran 0,25 – 0,06 cm atau setara dengan derajat halus 4/18.

##### II.1.2 Pembuatan Infus

Penyarian herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) dilakukan dengan metode infudasi dengan pelarut air suling.

#### II.2 Penyiapan Alat dan Bahan

II.2.1 Alat dan bahan disediakan sesuai dengan kebutuhan

II.2.2 Sterilisasi Alat

II.2.3 Pembuatan Medium

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

#### II.2.4 Pembuatan larutan pembanding

Pembanding yang digunakan adalah antibiotika tetrasiklin hidroklorida dengan konsentrasi 30  $\mu\text{g/ml}$ .

### II.3 Penyiapan Mikroba

#### II.3.1 Peremajaan Biakan Murni Mikroba Uji

Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Shigella boydii* dan *Vibrio Cholerae* dibiakkan dalam medium NA yang baru, dan diinkubasi selama 24 jam.

#### II.3.2 Pembuatan Suspensi Biakan Murni Mikroba Uji

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

### II.4 Pengujian Infus

Ditentukan daerah hambatan dengan cara, pencadang diletakkan pada permukaan medium GNA yang telah setengah memadat (*seed layer*) kemudian diisi dengan infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) dengan berbagai konsentrasi.

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

**III.1 Uraian Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* L.)**

**III.1.1 Klasifikasi Tanaman (6, 7)**

Dunia	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak kelas	: Apetalae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Acalypha</i>
Jenis	: <i>Acalypha indica</i> L.

**III.1.2 Nama Asing dan Daerah (8, 9)**

Cina	: Tie xian
Inggris	: Copperleaf herb.
Indonesia	: Akar kucing
Sumatera	: Ceka mas
Jawa	: Rumput bolong-bolong
Sunda	: Lelatang
Makassar	: Urre meong

Bugis : Urre coki

Toraja : Waka sere

### **III.1.3 Morfologi Tanaman (7, 8, 10)**

Tumbuhan akar kucing merupakan gulma yang sangat umum ditemukan tumbuh liar dipinggir jalan, lapangan rumput, maupun di lereng gunung. Herba semusim, tegak, tinggi 30-50 cm, bercabang dengan garis memanjang kasar, berambut halus. Daun tunggal, bertangkai panjang, letak tersebar. Helaian daun berbentuk bulat telur sampai lanset, tipis, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi, panjang 2,5 – 8 cm, lebar 1,5 – 3,5 cm, kecil-kecil dalam rangkaian berbentuk bulir. Buahnya buah kotak, bulat, hitam, panjangnya 2,25 cm. Biji bulat panjang, berwarna coklat. Akarnya tunggang, berwarna putih kotor.

### **III.1.4 Tempat tumbuh (9)**

Tumbuhan akar kucing tumbuh menyebar luas di Afrika Selatan, Jawa, Madura, dan di Pulau Sulawesi.

### **III.1.5 Kandungan Kimia (3,7)**

Mengandung alkaloid akalifin, flavonoid, glukosida, sianogenetik, minyak atsiri, quibrasitol, saponin, tanin, triasetonamin.

### **III.1.6 Kegunaan (3)**

Tumbuhan akar kucing secara keseluruhan digunakan dalam pengobatan : disentri, diare, anak dengan berat badan rendah, gangguan pencernaan makanan, antiradang, antibakteri dan susah buang air besar.

## **III.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam (21, 23, 25, 28)**

### **III.2.1 Tujuan Ekstraksi dan Jenis Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik senyawa kimia yang terdapat dalam simplisia yang didasarkan pada proses perpindahan senyawa-senyawa zat padat yang ada dalam simplisia kedalam pelarut. Setelah pelarut menembus dinding sel, lalu berdifusi kedalam sel dan melarutkan senyawa kimia yang ada didalam sel sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara cairan yang ada di dalam sel dan di luar sel, selanjutnya terjadi aliran secara osmosis dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah, begitu seterusnya sampai terjadi konsentrasi yang seimbang, sedangkan ekstraksi bahan alam dibagi atas ekstraksi secara dingin seperti : maserasi, perkolasi dan soxhletasi serta ekstraksi secara panas seperti : refluks, infudasi dan destilasi.

### **III.2.2 Definisi Infus**

Defenisi infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang sehingga sari yang diperoleh tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.



### III.3 Uraian Bakteri Uji (11,12,13)

#### III.3.1 *Escherichia coli*

##### 1. Klasifikasi

- Divisi : Protophyta  
Kelas : Schizomycetes  
Bangsa : Eubacteriales  
Suku : Enterobacteriaceae  
Marga : *Escherichia*  
Jenis : *Escherichia coli*

##### 2. Sifat dan morfologi

Bakteri gram negatif, berbentuk batang lurus dengan ukuran  $0,4 - 0,7 \mu\text{m}$  kali  $2-4 \mu\text{m}$  dan kadang-kadang lebih pendek membentuk rantai. Tidak mempunyai spora dan kapsul. Dapat meragikan dekstrosa, laktosa dan maltosa membentuk asam dan gas. Tumbuh optimal pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . terdapat dalam bentuk berpasangan atau tunggal, non motil, fakultatif anaerobik dan kemoorganotropik. Memiliki metabolisme tipe fermentatif dan respirasi. Mengandung enterotoksin dan atau faktor-faktor virulen lainnya, termasuk faktor-faktor perpindahan dan faktor kolonisasi, strain *escherichia coli* diketahui sejak tahun 1940-an sudah



menyebabkan diare, juga penyebab utama infeksi saluran kecing dan nosokomial termasuk septemia dan meningitis.

### III.3.2 *Shigella boydii*

#### 1. Klasifikasi

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : *Shigella*

Jenis : *Shigella boydii*

#### 2. Sifat dan Morfologi

Bakteri gram negatif berbentuk batang, berukuran 0,5-1  $\mu\text{m}$ , tidak bergerak, tidak mempunyai kapsul, bersifat aerob, tumbuh cepat pada media nutrisi sederhana dan tidak memerlukan faktor pertumbuhan yang khusus. Tidak dapat menggunakan sitrat atau malonat sebagai sumber karbon, satu-satunya pertumbuhan di hambat oleh KCN. Tidak menghasilkan  $\text{H}_2\text{S}$ . mampu memfermentasikan glukosa dan hanya menghasilkan asam. Bergerak dengan flagella peritrik. Tumbuh optimal pada suhu  $37^\circ\text{C}$  pada medium pertumbuhan dengan pH

7,4

### III.3.3 *Vibrio cholerae*

#### 1. Klasifikasi

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : *Vibrio*

Jenis : *Vibrio cholerae*

#### 2. Sifat dan morfologi

Bakteri gram negatif berbentuk batang pendek atau bengkok dengan ukuran 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  bergerak dengan flagel monotrik tidak mempunyai spora dan kapsul dapat tinggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk spiral, tidak tahan asam. Tumbuh baik dan cepat pada medium nutrien pH 8,5-9. suhu optimum berkisar 18-37°C. Mampu meragikan glukosa, fruktosa, maltosa dengan produksi asam tanpa produksi gas. Xylosa dan rhamnosa tidak dapat diragikan. Mudah mati oleh pemanasan dan desinfektan

### III.3.4 *Salmonella thypi*

#### 1. Klasifikasi

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes  
Bangsa : Eubacteriales  
Suku : Enterobacteriaceae  
Marga : Salmonella  
Jenis : *Salmonella thypi*

## 2. Sifat dan morfologi

Bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, ukuran 1-3,5  $\mu\text{m}$  x 0,5-0,8  $\mu\text{m}$ , besar koloni rata-rata 2-4 mm, mempunyai flagel Peritrik. Tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41 °C (suhu pertumbuhan optimum 37,5 °C) dan pH pertumbuhan 6-8. menghasilkan gas H<sub>2</sub>S dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa. Kuman mati pada suhu 56 °C juga pada keadaan kering, dalam air bisa bertahan selama 4 minggu.

### III.4 Diare (14)

Diare adalah peristiwa buang-buang air besar beberapa kali sehari dengan konsistensi berupa cairan, yang disertai dengan berbagai keluhan. Masalah buang air besar pada beberapa orang setiap hari 1-3 kali sehari, akan tetapi terdapat pula orang yang buang air besar hanya 1 setiap 2-3 hari. Kedua hal tersebut dapat dianggap normal. Bila terdapat buang air dengan banyak cairan dan lebih sering daripada biasanya, yakni kurang lebih 5 kali

sehari maka keadaan ini barulah dapat disebut diare. Diare biasanya terjadi mendadak dan disertai mulas perut akibat kejang-kejang, serta adakalanya rasa mual.

Diare terjadi karena adanya proses penyerapan air dan garam-garam dari isi usus oleh dinding usus kecil, akibat adanya gangguan seperti adanya peradangan pada selaput dinding usus dan lain-lain. Disamping juga karena adanya gerakan usus (peristaltik) bertambah kuat sehingga mengakibatkan tinja dikeluarkan secara cepat dan masih mengandung banyak cairan.

Peristiwa diare dapat disebabkan oleh beberapa faktor :

1. Keracunan makanan

Keadaan ini banyak sekali sebab sampai terjadi keadaan seperti tersebut diatas, yang sering terjadi akibat salah makan, yaitu keracunan bahan makanan seperti udang, tiram, kerang atau makanan lainnya yang tidak segar lagi atau disimpan terlalu lama, sehingga sudah mengalami kontaminasi oleh mikroorganisme atau sudah mengalami perubahan tekstur dan lain-lain.

2. Infeksi dengan virus

Hal ini dapat menimbulkan gejala-gejala seperti flu yang disertai dengan menceret dan ini sering disebut influenza perut. Virus dapat merusak permukaan dinding usus, sel-sel selaput lendir tidak dapat bekerja dengan baik lagi dan timbullah diare. Sering pula terjadi diare perjalanan, yang disebabkan karena perubahan makanan dan iklim selama berada

sehari maka keadaan ini barulah dapat disebut diare. Diare biasanya terjadi mendadak dan disertai mulas perut akibat kejang-kejang, serta adakalanya rasa mual.

Diare terjadi karena adanya proses penyerapan air dan garam-garam dari isi usus oleh dinding usus kecil, akibat adanya gangguan seperti adanya peradangan pada selaput dinding usus dan lain-lain. Disamping juga karena adanya gerakan usus (peristaltik) bertambah kuat sehingga mengakibatkan tinja dikeluarkan secara cepat dan masih mengandung banyak cairan.

Peristiwa diare dapat disebabkan oleh beberapa faktor :

1. Keracunan makanan

Keadaan ini banyak sekali sebab sampai terjadi keadaan seperti tersebut diatas, yang sering terjadi akibat salah makan, yaitu keracunan bahan makanan seperti udang, tiram, kerang atau makanan lainnya yang tidak segar lagi atau disimpan terlalu lama, sehingga sudah mengalami kontaminasi oleh mikroorganisme atau sudah mengalami perubahan tekstur dan lain-lain.

2. Infeksi dengan virus

Hal ini dapat menimbulkan gejala-gejala seperti flu yang disertai dengan menceret dan ini sering disebut influenza perut. Virus dapat merusak permukaan dinding usus, sel-sel selaput lendir tidak dapat bekerja dengan baik lagi dan timbullah diare. Sering pula terjadi diare perjalanan, yang semula dikira karena perubahan makanan dan iklim selama berada



di negara lain misalnya. Kini sudah dapat dipastikan, bahwa penyebabnya adalah virus-virus asing yang memasuki tubuh melalui makanan atau minuman.

### 3. Infeksi bakteri

Hal ini sangat berbahaya, namun jarang terjadi. Diare akibat infeksi bakteri dapat merusak dinding usus sedemikian rupa, sehingga timbul diare yang disertai dengan demam dan atau lendir atau darah di dalam tinja. Sebagai contoh adalah disentri amuba (*Entamoeba*), disentri basiler (*Shigella*), tifus atau paratifus (*Salmonella*) dan kolera (*Vibrio*). Bakteri-bakteri tersebut dapat menembus selaput lendir usus, dimana terbentuk zat-zat racun. Toksin-toksin inilah yang setelah diserap ke dalam aliran darah, dapat menimbulkan gejala-gejala seperti demam, nyeri kepala, mulas perut, mual dan muntah.

### 4. Akibat penyakit

Penyakit-penyakit yang dapat menyebabkan diare seperti penyakit cacing, (gelang dan pita), kanker usus besar dan pankreas, dan terjadinya peradangan dinding usus (colitis, penyakit Crohn) dan lain-lain.

### 5. Penyinaran dengan sinar Roentgen (X-ray)

Yang sering digunakan untuk menaggulangi suatu benjolan kanker (tumor), serta pengobatan beberapa antibiotika, seperti antara lain; penisilin (ampisilin dan amoksisilin), tetrasiklin dan kloramfenikol, yang kesemuanya memiliki khasiat luas, sehingga bukan saja hanya bakteri

penyebab penyakit yang diganggu, tetapi juga bakteri flora normal usus pun terjadi gangguan atau pemusnahan.

#### 6. Akibat alergi makanan

Keadaan ini sering hanya disebut saja alergi makanan, misalnya kepekaan terhadap lemak, atau zat putih telur, susu, ikan, udang dan sebagainya.

#### 7. Akibat emosi

Keadaan ini banyak terdapat di masyarakat, akibat ketakutan dan lain-lain sebagainya.

### III.5 Metode Pemisahan

#### III.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (15, 16, 17)

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

Karena adanya perbedaan daya serap adsorben terhadap senyawa, maka senyawa akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Hal ini yang menyebabkan terjadinya pemisahan. Memilih pelarut untuk kromatografi lapis tipis dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering kita mencoba-coba saja karena waktu yang diperlukan sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah



penyebab penyakit yang diganggu, tetapi juga bakteri flora normal usus pun terjadi gangguan atau pemusnahan.

#### 6. Akibat alergi makanan

Keadaan ini sering hanya disebut saja alergi makanan, misalnya kepekaan terhadap lemak, atau zat putih telur, susu, ikan, udang dan sebagainya.

#### 7. Akibat emosi

Keadaan ini banyak terdapat di masyarakat, akibat ketakutan dan lain-lain sebagainya.

### III.5 Metode Pemisahan

#### III.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (15, 16, 17)

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

Karena adanya perbedaan daya serap adsorben terhadap senyawa, maka senyawa akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Hal ini yang menyebabkan terjadinya pemisahan. Memilih pelarut untuk kromatografi lapis tipis dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering kita mencoba-coba saja karena waktu yang diperlukan sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah



campuran pelarut organik yang dipakai untuk memisahkan molekul yang mempunyai satu dan dua gugus fungsi.

Nilai  $R_f$  (*Retardation factor*) 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 pelarut pengembang.

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

beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai  $R_f$  adalah :

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

### III.5.2 KLT-Bioautografi (18,19)

Menurut Betina (1972) KLT-bioautografi adalah metode pendeteksian untuk menemukan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktivitas antimikroba pada kromatogram. Metode ini didasarkan atas efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, antitumor, antiviral) dari substansi yang diteliti. Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas

teknik difusi agar, dimana senyawa antibakteri dipindahkan dari lapisan kromatografi ke medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri yang sesuai. Dua lapisan media agar dianjurkan untuk bioautografi yaitu lapisan dasar (base layer) dan lapisan atas (top/seed layer). Zona inhibisi ditampakkan oleh aktivitas dihidrogenasi dari pereaksi pendeteksi.

Bioautografi dapat dibagi dalam 3 kelompok yaitu :

- a. Bioautografi langsung, dimana mikroorganisme tumbuh secara langsung diatas lempeng kromatografi lapis tipis.

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 UV 254 nm dan 366 nm. Suspensi bakteri sebanyak 5-6 ml disebarakan di atas lempeng KLT (20 x 20 cm) menggunakan alat pemutar "roller" yang dilapisi dengan kertas kromatografi (Whatman Clijton). Lempeng KLT diinkubasi semalaman dalam kotak plastik dengan dilapisi kertas, kemudian disemprot dengan 5 ml larutan cair TTC (20 mg/ml), atau INT (5 mg/ml), INTB (5 mg/ml) serta MTT (2,5 mg/ml) dan diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C.

- b. Bioautografi kontak, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasi melalui kontak langsung.

Prinsip kerja dari metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi ini ditempatkan di atas permukaan medium nutrisi agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisa. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi kemudian dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari kromatogram ke dalam medium agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan tempat temperatur yang tepat hingga noda yang menghambat tampak pada permukaan.

- c. Bioautografi pencelupan, dimana medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng KLT.

Prinsip metode ini adalah lempeng kromatografi yang telah dilusi diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaan tertutupi oleh medium agar yang berfungsi sebagai "base layer". Setelah medium agar memadat. Selanjutnya dituang medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai "seed layer", dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.

- b. Bioautografi kontak, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasi melalui kontak langsung.

Prinsip kerja dari metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi ini ditempatkan di atas permukaan medium nutrisi agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisa. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi kemudian dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari kromatogram ke dalam medium agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan tempat temperatur yang tepat hingga noda yang menghambat tampak pada permukaan.

- c. Bioautografi pencelupan, dimana medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng KLT.

Prinsip metode ini adalah lempeng kromatografi yang telah dielusikan diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaan tertutupi oleh medium agar yang berfungsi sebagai "base layer". Setelah medium agar memadat. Selanjutnya dituang medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai "seed layer", dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.

Beberapa modifikasi metode KLT-Bioautografi telah dilakukan. Nicolous dkk menuangkan medium agar berisi 2,3,5 trifeniltetrazoliumklorida (TTC) dan ditanami dengan organisme yang diuji di atas kromatogram. Sedangkan Kline dan Goalb menyemprotkan medium agar secukupnya pada lempeng KLT dan segera dipadatkan. Medium agar yang lain didinginkan pada suhu 48°C dan diinokulasi dengan organisme yang diuji, dituangkan langsung pada permukaan lempeng yang telah disiapkan. Zona inhibisi diidentifikasi setelah diinkubasi, dengan melihat langsung pada lempeng KLT yang tidak tembus cahaya. Bickel dkk, menindihkan lempeng kromatografi pada medium agar pembedahan.

Beberapa prosedur yang dikemukakan di atas 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 secara langsung, tetapi metode ini membutuhkan peralatan mikrobiologi yang cukup rumit. Sedangkan Land dan Lyon, menyatakan bioautografi secara langsung, untuk aktivitas antibakteri sangat sensitif dan melokalisir senyawa-senyawa yang aktif, tetapi mempunyai kekurangan karena keterbatasan mikroorganisme yang dapat tumbuh secara langsung di atas lapisan

kromatografi. Ketersebaran bakteri pada lempeng dan memungkinkan terjadi kontaminasi. Sedang metode bioautografi pencelupan merupakan metode yang paling tepat sebab tidak dipengaruhi oleh kemungkinan adanya kontaminasi.

### III.6 Mekanisme Kerja Antimikroba (20)

Antimikroba adalah senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme hidup. Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakterostatika, sedangkan yang dapat membunuh bakteri disebut bakterisida.

Pemusnahan dan penyingkiran mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakterostatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan hospes. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi lima kelompok :

#### 1. Antimikroba yang mengganggu metabolisme sel mikroba

Mikroba yang membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya yang harus disintesis dari asam para amino benzoat (PABA).

Bila senyawa antimikroba tersebut menang bersaing dengan PABA untuk diinkorporasikan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk asam folat non-fungsional sehingga kehidupan mikroba terganggu. Contoh sulfonamid, trimetoprim, asam p-amino salisilat (PAS) dan sulfon.



2. Antimikroba yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Antimikroba ini menghambat reaksi dalam sintesis dinding sel, sehingga terjadi kerusakan yang menyebabkan terjadinya lisis. Contoh penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin.

3. Antimikroba yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba ini mempengaruhi sistem permeabilitas selektif dari membran sel mikroba, sehingga terjadi kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba seperti : protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Contoh polimiksin.

4. Antimikroba yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Antimikroba di sini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan ribosom 30S dan 50S sehingga menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks. Salah dalam menterjemahkan tanda m-RNA akan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Contoh aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, linkomisin, dan klindamisin.

5. Antimikroba yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang memiliki mekanisme kerja ini, pada umumnya mempunyai sifat toksisitas selektif karena bersifat sitotoksik. Contoh rifampisin.

### III.7 Pengujian secara Mikrobiologis (21,22)

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

#### 1. Metode Difusi (penyerapan)

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

##### a. Metode difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plat silinder yang diletakkan pada media, kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

##### b. Metode difusi dengan mangkuk pipih

Cara ini sama dengan silinder pipih namun perbedaannya disini menggunakan lubang yang dibuat langsung pada medium.

##### c. Metode difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya 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.

Cara difusi ini telah direkomendasikan oleh NCCLS dan International Collaborative Study (ICS) and regulations, yang dimodifikasi oleh Bauer, Kirby, Shenis dan Turch. Keuntungan dari cara ini adalah prosedurnya sederhana (mudah dan praktis), dapat menggunakan beberapa jenis antibiotik untuk satu jenis strain patogen yang ditest. Hanya saja konsentrasi obat telah ditentukan masing-masing oleh pabriknya, pada setiap kertas cakram (paper disk).

## 2. Metode Dilusi (pengenceran)

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

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

Kekurangan dari cara ini adalah prosedurnya lebih panjang dan jenis antibiotik yang digunakan terbatas.

## BAB IV

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan

##### IV.1.1 Alat yang digunakan

1. Batang pengaduk
2. Corong
3. Cawan petri
4. Erlenmeyer 250 ml
5. Gelas Ukur 100 ml
6. Gelas piala 250 ml
7. Inkubator (Mommert)
8. Jangka sorong (Sunlon)
9. Kertas indikator pH universal
10. Kain kasa
11. LAF (Laminar Air Flow) (Eaci-Envirco)
12. Labu ukur
13. Ose bulat
14. Otoklaf (All American Model No 1925 X)
15. Oven (WTB Binder Type E115)
16. Pencadang
17. Panci infus

18. Spektrofotometer (Spektronik 340)
19. Timbangan analitik (Chyo)
20. Timbangan kasar (Ohaus)
21. Termometer

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

1. Air suling
2. Agar (Pronadisa)
3. Benzen
4. Biakan murni *Eschericia coli* ATCC 255923
5. Biakan murni *Salmonella thypi*
6. Biakan murni *Shigella bodyi*
7. Biakan murni *Vibrio cholerae*
8. Dekstrosa (E-merck)
9. Ekstrak Daging (Difco)
10. Etil asetat
11. Etanol
12. Larutan fisiologis NaCl 0,9% (E-merck)
13. NaCl (E-merck)
14. Pepton (Pronadisa)
15. Alkohol 70%
16. Sampel herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.)

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

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

Sampel herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) diambil dari Kelurahan Baraya, Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Pengambilan sampel dilakukan setelah tanaman berbunga dan berbuah serta di panen pada pagi hari.

### **IV.2.2 Pengolahan Sampel**

Sampel yang telah diambil dicuci hingga bersih dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, tidak terkena sinar matahari langsung sampai kering. Kemudian di potong-potong kecil dengan ukuran 0,25 – 0,06 cm atau setara dengan derajat halus 4/18.

## **IV.3 Pembuatan Infus (21)**

Herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.) dibuat infus pada konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% dengan menimbang sampel herba tumbuhan akar kucing sebanyak 10g dimasukkan ke dalam panci infus dan dibasahi dengan air sebanyak 2 kali bobot sampel, dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan air hingga 100 ml. Panci infus dipanaskan selama 15 menit terhitung suhu mulai mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Selanjutnya diserkai setelah cairan infus dingin dengan kain flanel dan karena infus yang diperoleh kurang dari 100 ml maka ditambahkan air secukupnya melalui ampas hingga diperoleh 100 ml. Selanjutnya untuk

membuat infus herba tumbuhan akar kucing konsentrasi 15%, 20% dan 25% dibuat dengan menimbang 15g, 20g, dan 25g, sampel herba tumbuhan akar kucing dan digunakan cara yang sama seperti pada pembuatan infus 10% untuk pengukuran daerah hambatan.

#### IV.4 Sterilisasi Alat (23, 24)

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan detergen, wadah dengan mulut lebar dibersihkan dengan merendamnya dalam larutan detergen panas selama 15 sampai 30 menit diikuti dengan pembilasan pertama-tama dengan air bersih dan terakhir dengan air suling. Alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Tabung reaksi dan Erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari gelas disterilkan di oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Alat suntik dan alat-alat plastik (tidak tahan terhadap pemanasan tinggi) disterilkan dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm. Jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar selama 30 detik.

#### IV.5 Pembuatan Medium (25)

##### IV.5.1 Pembuatan Nutrien Agar (NA)

**Komposisi :**

Ekstrak daging	3,0 gram
Pepton	5,0 gram

Agar	15,0 gram
Air suling hingga pH 7,0	1000 ml

#### Cara Membuat :

Bahan-bahan di atas dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dilarutkan dengan air suling hingga volume 800 ml. Panaskan sampai bahan larut kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml lalu dicek pH dengan indikator universal. Bila pH-nya kurang dari atau lebih dari 7 maka ditambahkan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 7,0. Setelah itu, disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### IV.5.2 Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA)

##### Komposisi :

Glukosa	3,0 gram
Ekstrak khamir	5,0 gram
Pepton	10,0 gram
NaCl	2,5 gram
Agar	15,0 gram
Air suling hingga pH 7,0	1000 ml



#### Cara Membuat :

Semua bahan kecuali glukosa, dilarutkan dalam air suling 800 ml kemudian dipanaskan sampai larut. Bila pH-nya kurang dari atau lebih dari 7 maka ditambahkan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 7,0, kemudian

disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 atm 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.6 Pembuatan Larutan Pembandingan**

Ditimbang 0,0003 g tetrasiklin hidroklorida, kemudian dilarutkan ke dalam air suling yang steril hingga 10 ml di dalam labu tentukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 30 µg/ml.

#### **IV.7 Penyediaan Bakteri**

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

Bakteri uji berupa *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Shigella boydii* dan *Vibrio Cholerae* dari biakan murni, masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium Nutrien Agar (NA) selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 Jam.

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

Bakteri uji berumur 24 jam dari agar miring disuspensikan dengan bantuan NaCl 0,9% steril dan bola-bola kaca berdiameter kurang lebih 0,5 cm. Suspensi tersebut kemudian dituangkan ke dalam botol roux 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 *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Shigella boydii* dan *Vibrio Cholerae*.

## IV.8 Pengujian Infus

### IV.8.1 Penentuan Daerah Hambatan

Medium GNA steril di dinginkan hingga suhu 40-45°C kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat ini sebagai lapisan dasar. Setelah itu 5 ml medium GNA dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan kemudian dituangkan diatas medium GNA yang telah membeku tadi dan dibiarkan hingga setengah memadat.

Pencadang dengan diameter dalam 6 mm, diameter luar 3 mm, dan tinggi 10 mm, diletakkan secara aseptis pada permukaan media yang setengah memadat. Jarak tiap pencadang 3 cm dan jarak pencadang dengan tepi media 2 cm. Tiap pencadang diisi dengan infus herba tumbuhan akar kucing yang telah disiapkan dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, serta tetrasiklin hidroklorida (kontrol positif). Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam lalu diukur daerah hambatannya.

#### IV.8.2 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dari keempat konsentrasi infus yang digunakan diambil satu konsentrasi yang mempunyai zona hambatan terbesar. Kemudian lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit sebelum digunakan. Infus tersebut ditotolkan pada lempeng KLT ukuran  $8 \times 2$  cm menggunakan tabung kapiler. Infus ditotolkan 2 cm dari dasar lempeng. Biarkan beberapa saat hingga kering dan dimasukkan ke dalam chamber (bejana kromatografi) yang sudah jenuh dengan eluen etil asetat : etanol : air dengan perbandingan  $7 : 2 : 1$ , juga kloroform : metanol : air dengan perbandingan  $7 : 3 : 0,5$ . Dibiarkan terelusi sampai batas 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Noda-noda yang memberikan fluoresensi ditandai.

#### IV.8.3 Pengujian secara KLT – Bioautografi

Ke dalam cawan petri steril dituang medium GNA secara aseptis sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar (base layer). Setelah itu medium GNA sebanyak 5 ml yang sudah dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan dituangkan di atas lapisan dasar (seed layer). Setelah media setengah memadat, Lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut

diangkat dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam diamati zona hambatan yang terbentuk.

#### **IV.8.4 Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri**

Zona hambatan yang diperoleh dari KLT bioautografi merupakan senyawa yang diduga sebagai senyawa antibakteri.

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

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

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

Pembahasan hasil diuraikan berdasarkan pengolahan dan analisis data.

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

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

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### V.1 Hasil penelitian

Setelah dilakukan penyarian terhadap herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.), maka penentuan senyawa antibakteri secara KLT-bioautografi serta identifikasi golongan komponen kimia dengan pereaksi kimia tertentu diperoleh hasil sebagai berikut :

#### A. Hasil pengukuran diameter hambatan

Tabel I. Hasil pengukuran diameter hambatan infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L.)

Bakteri	Diameter Zona Hambatan (mm)			
	C1 (10 %)	C2 (15 %)	C3 (20 %)	C4 (25 %)
<i>Vibrio Cholerae</i>	9,9	10,6	11,5	12,2
	9,3	10,3	11,3	12,1
	9,2	10,3	11,6	12,1
<i>Escherichia coli</i>	9,1	12,2	13,9	14,3
	8,7	12,1	12,6	14,4
	8,7	12,3	12,5	14,1
<i>Shigella boydii</i>	13,9	14,4	14,5	20,7
	13,9	14,3	14,6	19,3
	13,5	14,3	14,7	19,4
<i>Salmonella Thypi</i>	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0

## B. Pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan komponen kimia infus herba tumbuhan akar kucing secara KLT menggunakan cairan pengelusi :

1. Etil Asetat : Etanol : Air (7 : 2 : 1) dengan penampak noda sinar UV 366 nm menunjukkan 1 noda dengan nilai Rf 0,94
2. Kloroform : Metanol : Air (7 : 3 : 0,5) dengan penampak noda sinar UV 366 nm menunjukkan 1 noda dengan nilai Rf 0,9

## C. Hasil pengujian secara KLT –bioautografi

Hasil pemisahan secara KLT kemudian dilanjutkan dengan pengujian secara KLT bioautografi dan diperoleh hasil sebagai berikut : (lihat gambar)

## D. Identifikasi Senyawa Antibakteri

Noda tunggal yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan beberapa pereaksi kimia dimana dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  terjadi warna biru tua dan pereaksi Fehling menghasilkan warna coklat, hal ini memperlihatkan hasil positif senyawa polifenol.

## V.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha Indica* L.) dengan konsentrasi 10 %, 15 %, 20 % dan 25 % b/v, mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji pada masa inkubasi 1 x 24 jam, ini ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar pencadang.



Menurut Pustaka, tumbuhan akar kucing berkhasiat antiradang dan antibakteri kerana mengandungi komponen kimia seperti alkaloid, flavonoid, glikosida dan tanin (3). Dari hasil identifikasi KLT dengan pereaksi kimia tertentu ternyata diperolehi senyawa polifenol. Dimana polifenol bersifat antibakteri yang dapat mendenaturasi protein. Dinding sel bakteria secara kimia merupakan mukopeptida yaitu kompleks polimer dari asam amino yang diikat secara bersilang oleh rantai polipeptida. Diduga bahwa waktu terjadi kontak antara bakteria dengan infus tanaman yang mengandungi polifenol, terjadi interaksi antara polifenol dengan senyawa mukopeptida sehingga dinding sel bakteria rusak dan terjadi lisis (20).

Berdasarkan hasil pengukuran diameter daerah hambatan dari sampel ternyata setiap jenis sampel uji dengan konsentrasi yang berbeda memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteria uji dengan diameter daerah hambatan yang berbeda karena kadar polifenol pada masing-masing konsentrasi berbeda pula.

Pengujian terhadap bakteria *Vibrio cholerae* pada masa inkubasi 24 jam menunjukkan pada infus herba tumbuhan akar kucing yang memiliki diameter hambatan yang terbesar pada konsentrasi 25 % b/v yaitu 12,2 mm dan terkecil pada konsentrasi 10 % yaitu 9,2 mm. Pengujian terhadap bakteria *Escherichia coli* pada masa inkubasi 24 jam menunjukkan pada infus herba tumbuhan akar kucing yang memiliki diameter hambatan yang terbesar pada konsentrasi 25 % b/v yaitu 14,4 mm dan terkecil pada konsentrasi 10 % yaitu



8,7 mm. Pengujian terhadap bakteri *Shigella boydii* pada masa inkubasi 24 jam menunjukkan pada infus herba tumbuhan akar kucing yang memiliki diameter hambatan yang terbesar pada konsentrasi 25 % b/v yaitu 20,7 mm dan terkecil pada konsentrasi 10 % yaitu 13,5 mm. Sedangkan terhadap bakteri uji *Salmonella thypi* memberikan hasil yang negatif.

Daerah hambatan yang diamati dari ketiga jenis bakteri uji terlihat bahwa daya hambat meningkat sejalan dengan tingginya konsentrasi sebagaimana yang disebutkan dalam literatur bahwa konsentrasi bahan kimia akan mempengaruhi mikroorganisme, dengan konsentrasi yang tertinggi akan menyebabkan lebih banyak kematian mikroorganisme, meskipun toksisitas bahan kimia perlu dipertimbangkan selain konsentrasi (20).

Hasil analisis statistik menggunakan rancangan faktorial memperlihatkan bahwa antara konsentrasi sampel dan jenis bakteri uji berbeda nyata terhadap diameter daerah hambatan yang diperoleh. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung lebih besar dari nilai F tabel pada taraf signifikan 1%. Jadi ada pengaruh perbedaan konsentrasi maupun bakteri terhadap daya hambat atau pertumbuhan bakteri uji yang digunakan, sedangkan pengaruh jenis bakteri karena kepekaan jenis bakteri terhadap potensi suatu zat antibakteri berbeda, dimana suatu jenis bakteri akan membentuk resistensi dalam dirinya yang merupakan mekanisme alamiah untuk mempertahankan hidupnya. Sedangkan adanya pengaruh konsentrasi



infus disebabkan oleh adanya perbedaan kandungan polifenol dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Efek antibakteri yang terdapat dalam infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha Indica* L.) bersifat bakteriostatik yaitu hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hambatan ditandai dengan adanya kejernihan daerah hambatan di sekitar zat antibakteri pada medium agar yang telah diinkubasi selama 24 jam dan setelah inkubasi dilanjutkan sampai 48 jam daerah hambatan yang mula-mula bening berubah menjadi sedikit keruh yang menandakan bakteri di tempat tersebut tumbuh kembali.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat bakteristatik.
2. Diameter daerah hambatan Infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) terbesar yaitu terhadap bakteri uji *Shigella boydii* pada konsentrasi 25% adalah 19,8 mm.
3. Ada satu komponen yang bersifat sebagai antibakteri dalam infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) yang merupakan senyawa polifenol.
4. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa konsentrasi Infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) dan jenis bakteri berpengaruh sangat nyata terhadap diameter daerah hambatan.

#### VI.2. Saran

Untuk melengkapi data ilmiah herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) disarankan untuk dilakukan penelitian dengan melakukan identifikasi dan isolasi komponen kimia yang memberi khasiat sebagai antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Grup PT. Kalbe Farma., (1996), "Cermin Dunia Farmasi", PT. Temprint, Jakarta, 21
2. Wijaya Kusuma, H., (1998), "Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia", Jilid I, Pustaka Kartini, 18-19
3. Dalimarta, Setiawan, (2001), "Atlas tumbuhan obat Indonesia", Jilid 2, Pustaka Kartini, 123-125
4. WHO., (1995), " The Treatment and Prevention of Acute Diarrhoea Practical Guide Lines" 2<sup>nd</sup> Edition, EGC, 1
5. Jawetz, Ernest et al., (1987), "Review of medical microbiology" 17<sup>th</sup> Edition, Appleton & Lange, California, 238
6. Tjitrosøpomo, G.J., (1989), " Taksonomi Tumbuhan", Penerbit Gadjah Mada University Press, 337.
7. Backer, C. A., (1965), " Flora Of Java " , Volume II, N. V.P Noordhoff Or Migen The Netherlands, 488-490.
8. Heyne, K., (1987) " Tumbuhan Berguna Indonesia " , Jilid II, Badan LITBANG Kehutanan, Penerbit Sarana Wana Jaya, 1168.
9. Oyoshitake., dkk., (1995). " Medical Herb Index In Indonesia " , Edisi II, PT Esai Indonesia, Jakarta, 87.
10. Steenis Van, C. G. G. J., (1997), " Flora", Cetakan VII, Penerbit PT. Pradaya Paramita, Jakarta, 388-389.

11. Krieg, N.R., (1984), "Bergeys's Manual of Systemic Bacteriology" Vol I, The Williams and Walkins Company, Baltimore, USA, 420-427, 516-518
12. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. (1974), "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", The Williams and Walkins Company, Baltimore, USA, 293-295
13. Janet, Z.E. Melnick, J.L, Adelberg, E.A. (1984), "Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan" Ed. 16, Terjemahan Gerard Bonang, E.G.C., Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, 143-149, 288-308.
14. Djide, M. N, dan Sartini., (2003), " Farmakologi Khusus Pendekatan Pada proses Keperawatan", Makassar, 22,23.
15. Gritter, R.J., Bobbitt, J. M., (1991), " Pengantar Kromatografi", Terbitan kedua, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 8, 99-101, 108-109, 115.
16. Rumatè, F., Wunas, J., (2000), " Dasar-dasar Kromatografi", Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar, 11,15-17, 23.
17. Sastrohamidjojo, H., (1985), " Kromatografi", Liberty, Yogyakarta, 26.30,34-36.
18. Betina. V., (1972), "Pharmaceutical Application Of Thin Layer and Paper Chromatography", Amsterdam, 503-507.
19. Rahalison, L., Hostettmann, K., (1991), " A Bioautographic Agar Overlay Method For The Detection Of Antifungal Compounds From Higher Plants", Phytochemical Analysis, Vol. 2 University de Lausanne, Switczrland. 199-203

20. Djide, M. N., (2003), " Mikrobiologi Farmasi" , Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar, 87-88.
21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (1995), "Farmakope Indonesia", Edisi IV, 9,778-779,891-899.
22. Yamaguchi, K., " Susceptibility Testing", Departement Of Microbiology, Toho University School Of Medicine, 233-237.
23. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (1986),"Sediaan Galenik", Jakarta, 9,66
24. Dwidjoseputro D, (1986), "Dasar-Dasar Mikrobiologi, Djambatan, Malang, 11, 37, 49, 44, 45
25. Difco, (1988), "Culture Media Hand Book", E Merck Darmstadt Federal Republik of Germany, 124.

i 1 ose  
miring  
kan 37  
24 jam

,9%

λ 580  
5%

Tabel 2. Hasil Perhitungan Diameter Daerah Hambatan Infus Herba Tumbuhan Akar kucing Terhadap Bakteri Uji Dengan Masa Inkubasi 24 Jam.

Bakteri	Replikasi	C1	C2	C3	C4	$\Sigma X$	$\bar{X}$
M1	1	9,900	10,600	11,500	12,200	130,400	10,867
	2	9,300	10,300	11,300	12,100		
	3	9,200	10,300	11,600	12,100		
	$\Sigma X$	28,400	31,200	34,400	36,400		
	$\bar{X}$	9,467	10,400	11,467	12,133		
M2	1	9,100	12,200	13,900	14,300	144,900	12,075
	2	8,700	12,100	12,600	14,400		
	3	8,700	12,300	12,500	14,100		
	$\Sigma X$	26,500	36,600	39,000	42,800		
	$\bar{X}$	8,833	12,200	13,000	14,267		
M3	1	13,900	14,400	14,500	20,700	187,500	15,625
	2	13,900	14,300	14,600	19,300		
	3	13,500	14,300	14,700	19,400		
	$\Sigma X$	41,300	43,000	43,800	59,400		
	$\bar{X}$	13,767	14,333	14,600	19,800		
<b>Jumlah</b>		96,200	110,800	117,200	138,600	462,800	12,856
<b>Rata-rata</b>		10,689	12,311	13,022	15,400		

## Keterangan :

M1 : *Vibrio cholerae*  
 M2 : *Escherichia coli*  
 M3 : *Shingella bodyii*

C1 : Konsentrasi sampel 10 %  
 C2 : Konsentrasi sampel 15 %  
 C3 : Konsentrasi sampel 20 %  
 C4 : Konsentrasi sampel 20 %

$$JK \text{ rata-rata} = \frac{(462)^2}{3 \times 4 \times 3} = 5929$$

$$JK \text{ Total} = (9,9)^2 + (9,3)^2 + \dots - JK \text{ rata-rata} \\ = 302,3$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(28,4)^2 + (31,2)^2 + \dots}{3} - JK \text{ rata-rata} \\ = 299,153$$

$$JK \text{ Mikroba (JKM)} = \frac{(130,40)^2 + (144,90)^2 + \dots}{4 \times 3} - JK \text{ rata-rata} \\ = 167,368$$

$$JK \text{ Konsentrasi (JKC)} = \frac{(96,20)^2 + (110,80)^2 + \dots + (138,60)^2}{3 \times 3} - JK \text{ rata-rata} \\ = 123,987$$

$$JK \text{ MC(Interaksi)} = JK \text{ Perlakuan} - JK \text{ M} - JK \text{ C} \\ = 7,798$$

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ = 3,147$$

Sumber Variasi	JK	db	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	
					5%	1%
Faktor C	103,436	3	34,479	262,972 **	3,009	4,718
Faktor M	146,817	2	73,409	559,896 **	3,403	5,614
Interaksi	28,349	6	4,725	36,037 **	2,508	3,667
Galat	3,147	24	0,131			
<b>Total</b>	<b>281,749</b>	<b>35</b>				

**Keterangan :**

F<sub>hitung</sub> > F<sub>tabel</sub> artinya Pengaruh Bakteri uji dan Konsentrasi Infus Herba Tumbuhan akar Kucing adalah signifikan (nyata) Terhadap Diameter Daerah Hambatan.

\*\* berpengaruh sangat nyata



Uji Lanjutan dengan Metode Duncan pada Infus untuk Analisis Antara Konsentrasi pada taraf 1 %.

$$DB = 24$$

$$\alpha = 0,01$$

	2	3	4
JN	4,02	4,22	4,33
JNT	0,727	0,764	0,784

$$\text{Rumus} = JNT = JN \sqrt{\frac{KTE}{n}}$$

Untuk C2 : 0,727

C1	C2	C3	C4
10,69	12,31	13,22	15,40

Perbandingan Antar Konsentrasi

C1	-	C2	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> =	1,62	>	0,727 (S)
C1	-	C3	Jarak 3	JNT <sub>3</sub> =	2,33	>	0,764 (S)
C1	-	C4	Jarak 4	JNT <sub>4</sub> =	4,71	>	0,7839 (S)
C2	-	C3	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> =	0,71	<	0,727 (NS)
C2	-	C4	Jarak 3	JNT <sub>3</sub> =	3,09	>	0,764 (S)
C3	-	C4	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> =	2,38	>	0,727 (S)

	C1	C2	C3	C4
C1	-	-	-	-
C2	(S)			
C3	(S)	(NS)		
C4	(S)	(S)	(S)	

Uji Lanjutan dengan Metode Duncan pada Infus untuk Analisis Antara Mikroba pada taraf 1 %.

$$DB = 24$$

$$\alpha = 0,01$$

	2	3	4
JN	4,02	4,22	4,33
JNT	0,840	0,882	0,905

$$\text{Rumus} = JNT = JN \sqrt{\frac{KTE}{n}}$$

Untuk C2 : 0,84

M3	M2	M1
15,625	12,075	10,867

Perbandingan Antar Konsentrasi

M3	-	M2	Jarak	2	JNT	<sub>2</sub>	=	3,55	>	0,840	(S)
M3	-	M1	Jarak	3	JNT	<sub>3</sub>	=	4,76	>	0,882	(S)
M2	-	M1	Jarak	2	JNT	<sub>2</sub>	=	1,21	>	0,840	(S)

	M1	M2	M3
M1	-	-	-
M2	(S)	-	-
M3	(S)	(S)	-

Uji Lanjutan dengan Metode Duncan pada Infus untuk Analisis Antara Konsentrasi pada taraf 5 %.

$$DB = 24$$

$$\alpha = 0,05$$

	2	3	4
JN	2,95	3,1	3,18
JNT	0,534	0,561	0,576

$$\text{Rumus} = JNT = JN \sqrt{\frac{KTE}{n}}$$

Untuk C2 : t 0,534

C1	C2	C3	C4
10,69	12,31	13,02	15,40

Perbandingan Antar Konsentrasi

C1	-	C2	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> = 1,62 > 0,5341 (S)
C1	-	C3	Jarak 3	JNT <sub>3</sub> = 2,33 > 0,5612 (S)
C2	-	C3	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> = 0,71 > 0,5341 (S)
C2	-	C4	Jarak 3	JNT <sub>3</sub> = 3,09 > 0,5612 (S)
C3	-	C4	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> = 2,38 > 0,5341 (S)

	C1	C2	C3	C4
C1	-	-	-	-
C2	(S)			
C3	(S)	(NS)		
C4	(S)	(S)	(S)	

Uji Lanjutan dengan Metode Duncan pada Infus untuk Analisis Antara Mikroba pada taraf 5 %.

$$DB = 24$$

$$\alpha = 0,05$$

	2	3	4
JN	2,95	3,01	3,18
JNT	0,616	0,648	0,665

$$Rumus = JNT = JN \sqrt{\frac{KTE}{n}}$$

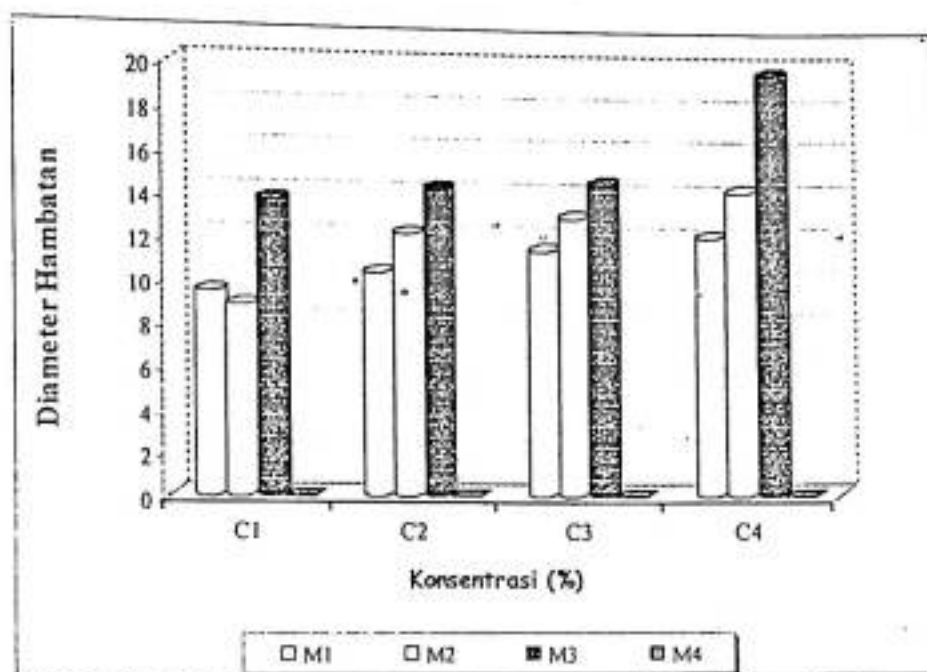
Untuk C2 : 0,616

M3	M2	M1	
15,625	12,075	10,867	

Perbandingan Antar Konsentrasi

M3	-	M2	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> = 3,55 > 0,616 (S)
M3	-	M1	Jarak 3	JNT <sub>3</sub> = 4,76 > 0,648 (S)
M2	-	M1	Jarak 2	JNT <sub>2</sub> = 1,21 > 0,616 (S)

	M1	M2	M3
M1	-	-	-
M2	(S)	-	-
M3	(S)	(S)	-

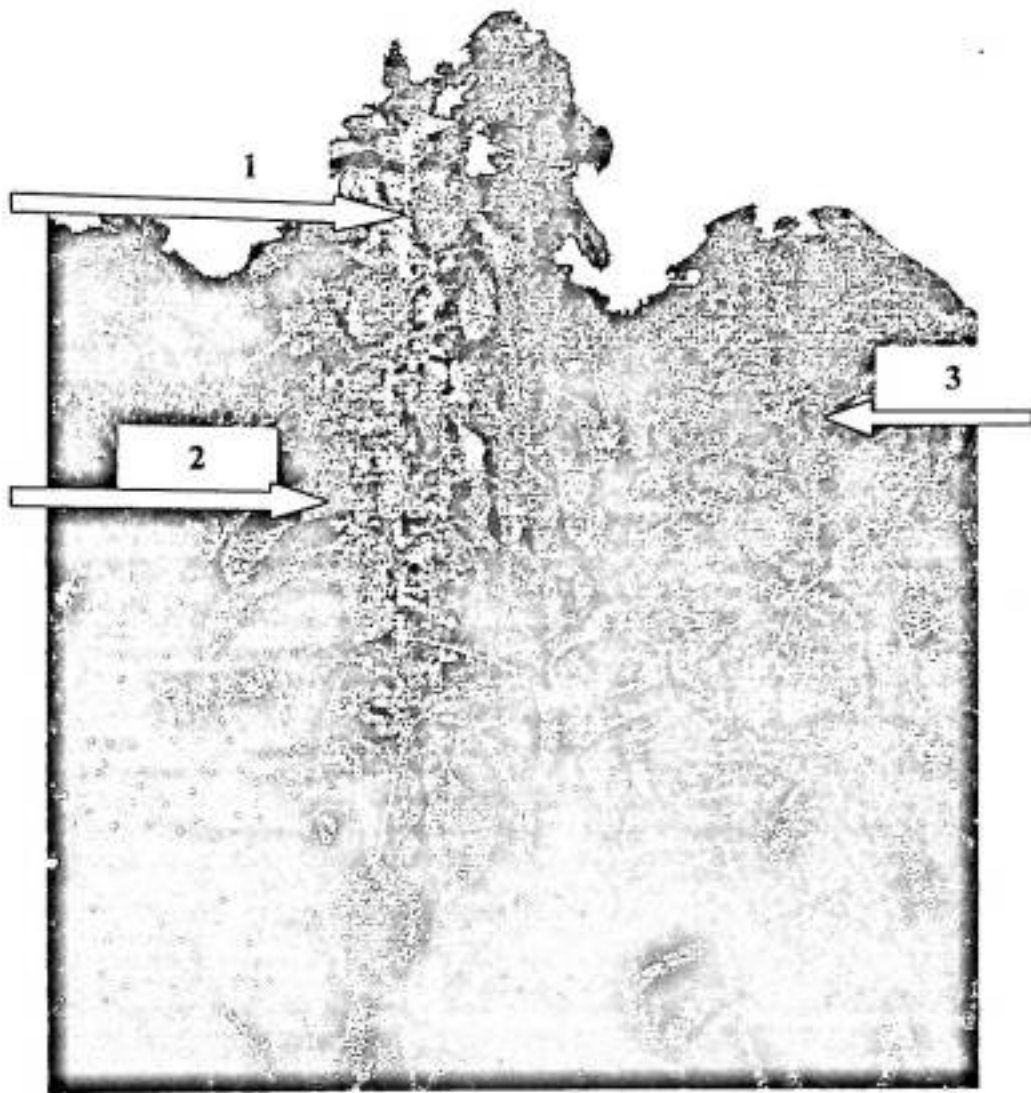


Gambar 1. Histogram Perbandingan Diameter Hambatan Tiap Konsentrasi Pada Empat Jenis Bakteri Uji

**Keterangan :**

C1 = Konsentrasi 10%  
 C2 = Konsentrasi 15%  
 C3 = Konsentrasi 20%  
 C4 = Konsentrasi 25%

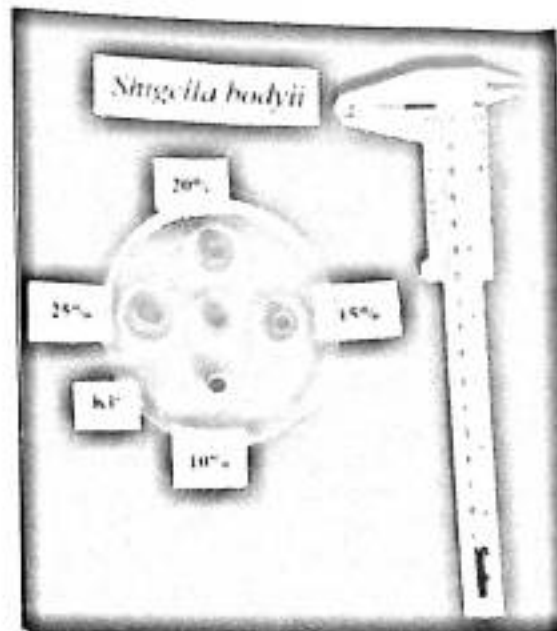
M1 = *Vibrio cholerae*  
 M2 = *Escherichia coli*  
 M3 = *Shigella boydii*  
 M4 = *Salmonella thypi*



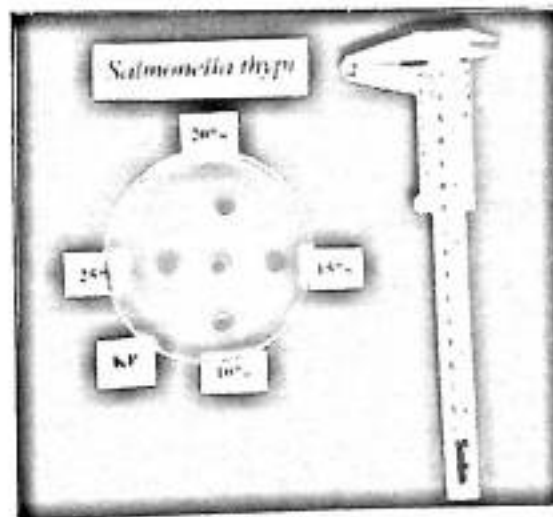
Gambar 2. Tumbuhan Akar Kucing (*Acalypha indica* L.)

Keterangan :

1. Buah
2. Daun
3. Batang



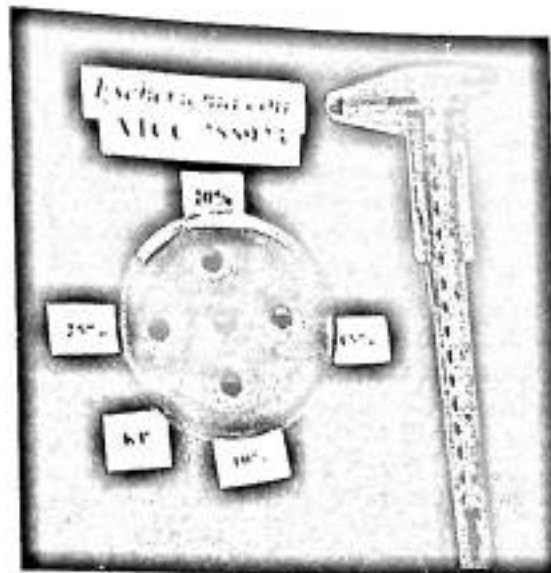
Gambar 3. Diameter Zona Hambatan Infus Herba Tumbuhan Akar kucing (*Acalypha indica* L) Terhadap Bakteri *Shigella boydii* dengan Masa Inkubasi 1 x 24 jam, suhu 37°C



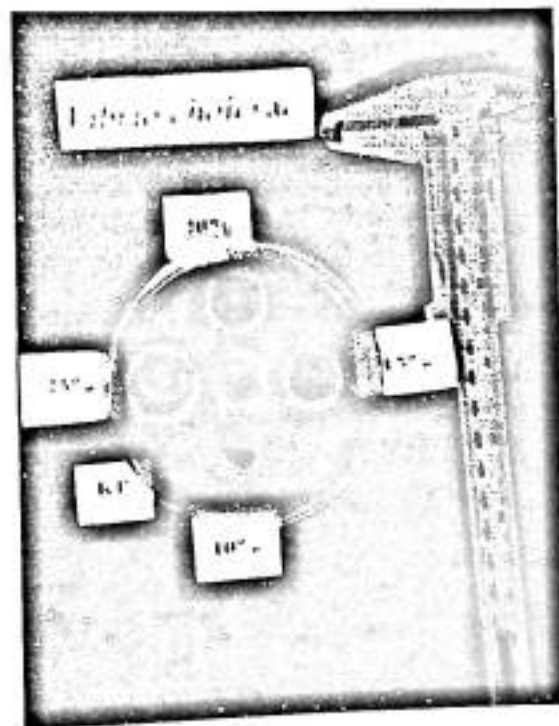
Gambar 4. Diameter Zona Hambatan Infus Herba Tumbuhan Akar kucing (*Acalypha indica* L) Terhadap Bakteri *Salmonella thypi* dengan Masa Inkubasi 1 x 24 jam, suhu 37°C



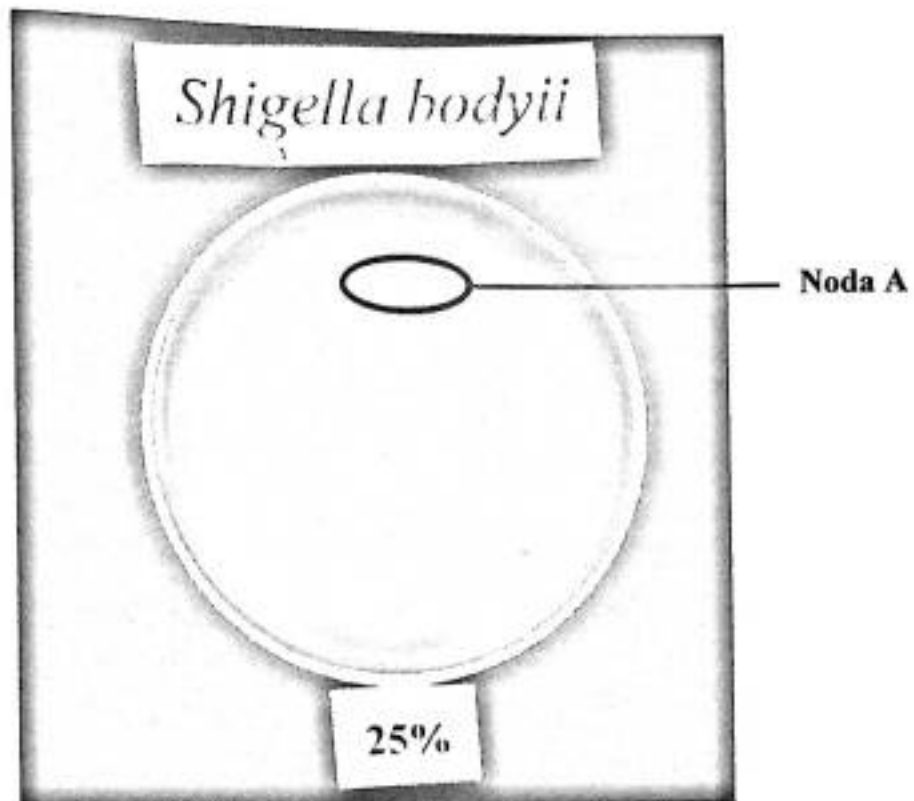




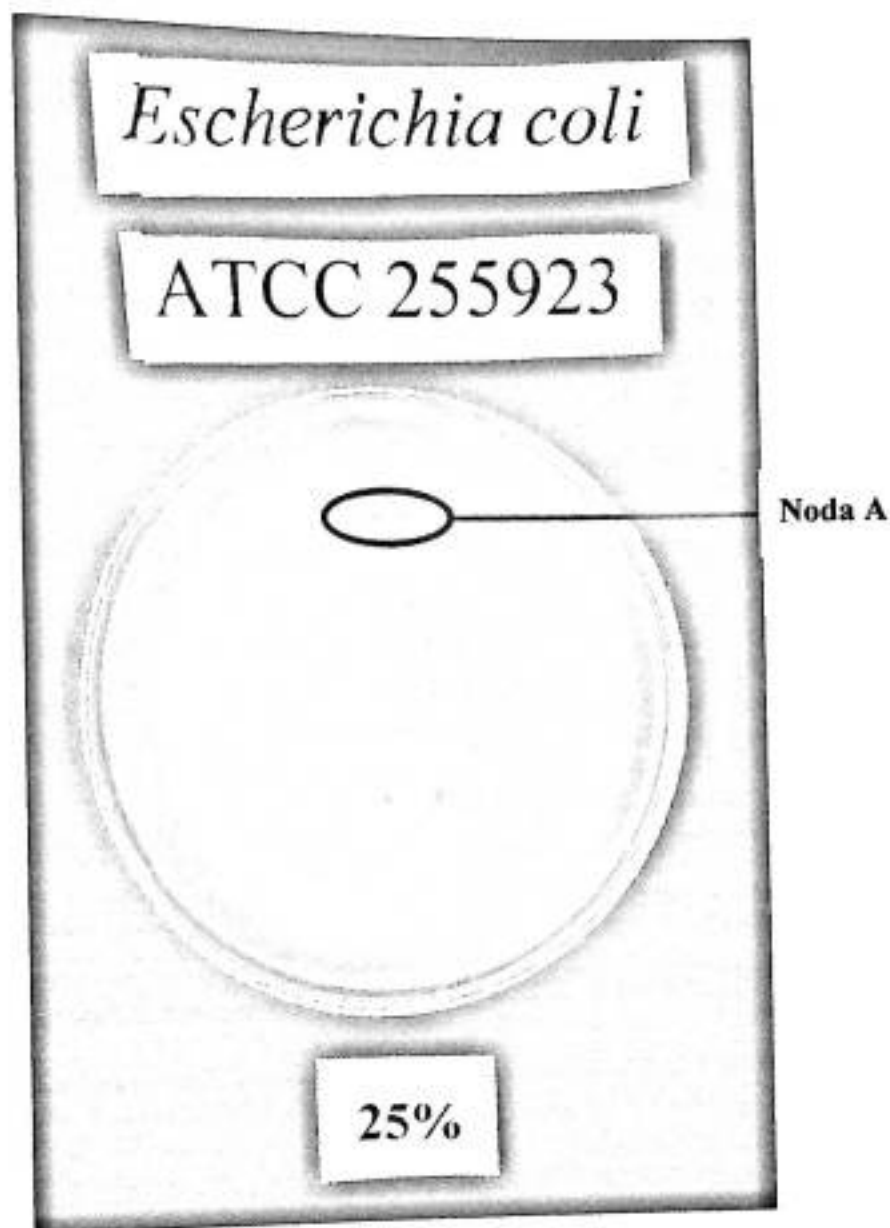
Gambar 5. Diameter Zona Hambatan Infus Herba Tumbuhan Akar kucing (*Acalypha indica* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Masa Inkubasi 1 x 24 jam, suhu 37°C



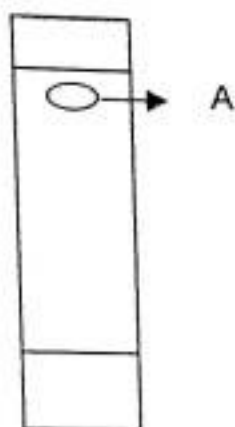
Gambar 6. Diameter Zona Hambatan Infus Herba Tumbuhan Akar kucing (*Acalypha indica* L) Terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* dengan Masa Inkubasi 1 x 24 jam, suhu 37°C



Gambar 7. Bioautogram Infus Herba tumbuhan akar Kucing (*Acalypha indica* L) Konsentrasi 25% dengan larutan Pengelusi Kloroform : Metanol : Air, Perbandingan 7 : 3 : 0,5 dan Bakteri uji *Shigella bodyii*



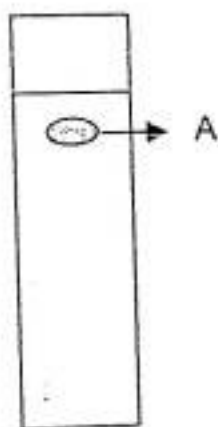
Gambar 8. Bioautogram Infus Herba tumbuhan akar Kucing (*Acalypha indica* L) Konsentrasi 25% dengan larutan Pengelusi Etil Asetat : Etanol : Air, Perbandingan 7 : 2 : 1 dan Bakteri uji *Escherichia coli*



Gambar 10. Hasil kromatogram infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) dengan penampak noda sinar UV 366 nm, dan cairan pengelusi etil asetat : etanol : air (7 : 2 : 1)

Keterangan :

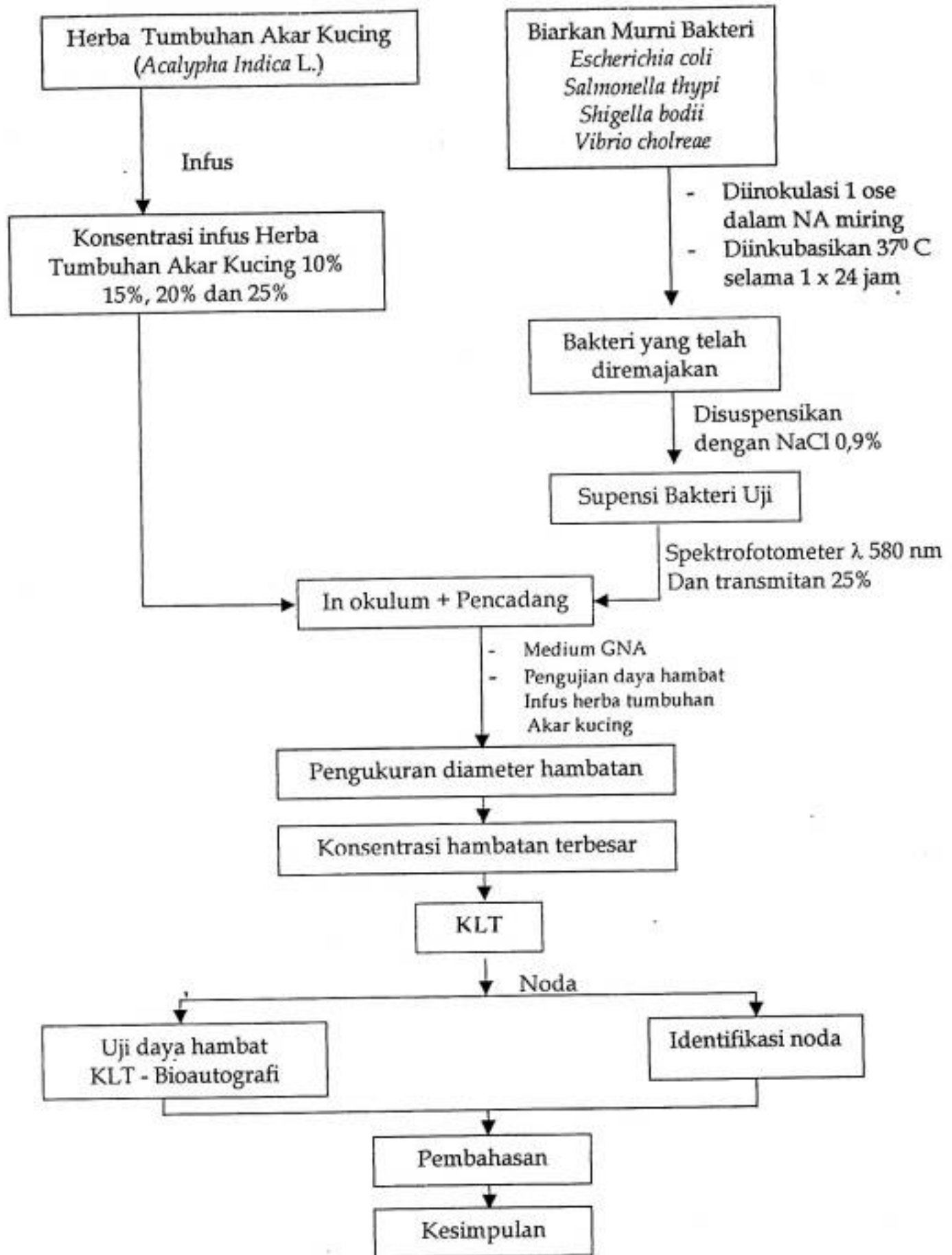
A : Noda tunggal berwarna kuning  
 Nilai Rf = 0,94  
 Adsorben : silica gel GF 254  
 Ukuran lempeng = 8 x 2 cm



Gambar 11. Hasil kromatogram infus herba tumbuhan akar kucing (*Acalypha indica* L) dengan penampak noda sinar UV 366 nm, dan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,5)

Keterangan :

A : Noda tunggal berwarna coklat muda  
 Nilai Rf = 0,9  
 Adsorben : silica gel GF 254  
 Ukuran lempeng = 8 x 2 cm



SKEMA KERJA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI