

**SKRINING, FRAKSINASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* Linn),
PADA BEBERAPA BAKTERI UJI**

**NURSYAMSU FAJRIN .H
H511 03 005**



23-1-09
MIPA
1 kelas
1 studi
03

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**SKRINING, FRAKSINASI, DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* Linn),
PADA BEBERAPA BAKTERI UJI**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk
mencapai gelar kesarjanaan**

**NURSYAMSU FAJRIN .H
H511 03 005**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**Skrlning, Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun
Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) Pada beberapa Bakteri Uji**

**Nursyamsu Fajrin .H
H511 03 005**


Disetujui oleh

Pembimbing utama



**Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 131 876 917**

Pembimbing Pertama



**Dr. M. Natsir Djide, M.S., Apt
NIP. 130 785 083**

Pembimbing kedua



**Dra. Rahmawati Syukur, M. Si., Apt
NIP. 132 012 988**

Pada tanggal Desember 2008

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamin, tiada kata yang lebih layak selain tahmid keagungan Allah Subhanahuwata'ala karena atas kemurahan-Nyalah sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, dan tak lupa salam dan shalawat tak henti-hentinya terkirim kepada Rasulullah Sallallahu 'alayhi wasallam pemimpin manusia di dunia dan akhirat.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Dalam penyusunan skripsi ini penulis mendapatkan kendala-kendala, namun atas dukungan moral dari berbagai pihak yang menjadi penyemangat penulis sehingga kendala tersebut dapat terlewati. Oleh karena itu dengan penuh rasa hormat dan penghargaan setinggi-tingginya penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Pembimbing utama yang juga sebagai penasehat akademik
Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt
 2. Pembimbing pertama : Dr. M.Natsir Djide, M.S, Apt
 3. Pembimbing kedua : Dra. Rahmawati Syukur, M.Si, Apt
- atas semua bimbingan yang diberikan kepada penulis sejak awal sampai selesainya skripsi ini.

Penulis tak lupa pula mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

- Dekan Fakultas Farmasi Universita Hasanuddin.
- Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Pegawai dan laboran Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
- Rekan-rekan Mahasiswa terkhusus Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin ; Yusriadi, Rusdi, Cakrawardi, Ismail, Sukamto, Asmin Alwi, Saiful Farisuddin, Awaluddin, A.Kamaluddin, Akbar Bahar, Zulhajsyirah, Hermawan Ali, Alvian, M. Khairul, para pengurus BEM Fakultas Farmasi dan semua yang tak dapat kutuliskan namanya satu persatu

Keluarga besar penulis terutama Ayah, Ibu, saudara-saudaraku, para panutan dan rujukanku terkhusus Prof. Dr. Al Habib Muhammad bin Alwi Almaliki Alhasani (Alm), K.H. Muhammad Sholeh (Alm), Prof. Dr. K.H.Sahabuddin (Alm), K.H Arif Lewa, Al Habib Muhammad Bin Salim Al Kaaf yang menjadi rujukan dan Inspirasiku. Sahabatku Dr. Amrullah (Alm), dan Firman S.Sos.

Akhirnya, skripsi ini belumlah mencapai kesempurnaan, olehnya kritik dan saran sangat penulis harapkan. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan terutama dalam bidang kefarmasian.

Makassar, November 2008

Penulis

ABSTRAK

Skrining, fraksinasi dan uji aktivitas antimikroba ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) telah dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang menghambat aktivitas antimikroba dari ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri uji. Sampel pertamanya diekstraksi dengan n-heksan yang kemudian dilanjutkan dengan etanol 70 % sehingga diperoleh 2 ekstrak dan diuji aktifitas antimikrobanya terhadap *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Ekstrak etanol daun jarak pagar pada konsentrasi 1 mg/ml efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Selanjutnya ekstrak tersebut dipartisi dengan etil asetat dan diujikan kembali terhadap 3 bakteri tersebut dan ekstrak etanol jarak pagar larut etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan terbaik terhadap bakteri uji. Ekstrak etanol daun jarak pagar larut etil asetat difraksinasi secara kromatografi cair vakum dengan tingkat kepolaran eluen yang dibuat bergradien yaitu heksan, etil asetat, metanol pada beberapa perbandingan. Hasil fraksinasi dibagi menjadi 6 fraksi dan fraksi I diuji KLT bioautografi menggunakan eluen heksan : etil asetat (17 : 1). Senyawa pada Rf 0,4 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*, senyawa tersebut diidentifikasi sebagai senyawa golongan terpenoid.

Kata kunci: Skrining, fraksinasi, antimikroba, jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

ABSTRACT

Antimicrobial activity screening and fractionation of leaf Jarak pagar (*Jatropha curcas* L) had been conducted, by this purpose to know the active compound it can inhibit microbial activity. The sample was extracted by n-hexan and ethanol, therefore two kinds of extracts were derived and its activity was tested against *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. The ethanol extract at 1 mg/ml were found to be effective in inhibiting the development *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Further partition of *Jatropha curcas* L. extract which soluble in ethyl acetate was the most active fraction against all of tested bacteria. The *Jatropha* ethanol extract which soluble in ethyl acetate then was fractionated by vacuum liquid chromatography which performed with gradiently by n-hexan, ethyl acetate and methanol (at varied comparison). The result of fraction was divided in 6 fraction and 1st (the active fraction) was analyzed by TLC-bioautography eluen n-hexan : ethyl acetate (17:1), and the compound on Rf 0,4 had the antimicrobial activity toward *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. It was identified as terpenoid group.

Key words : Screening, fractionation, antimicrobial, Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.2 Uraian Mikroba	7
II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam	11
II.3.1 Pengertian dan Tujuan Ekstraksi	11
II.3.2 Jenis-Jenis Ekstraksi	12
II.3.2.1 Ekstraksi secara dingin	12
II.3.2.2 Ekstraksi secara panas	13
II.4 Tinjauan Umum Antimikroba	14
II.5 Pengujian Secara Mikrobiologis	17
II.6 Metode Pemisahan	19
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	23

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan	23
III.1.1 Alat	23
III.1.2 Bahan	23
III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian ..	24
III.2.1 Pengambilan Sampel	24
III.2.2 Pengolahan Sampel	24
III.2.3 Ekstraksi Sampel	24
III.3 Partisi dengan Etil Asetat	25
III.4 Fraksinasi	25
III.5 Identifikasi Komponen Kimia	25
III.6 Prosedur Uji Aktifitas Antimikroba	27
III.6.1 Sterilisasi Alat	27
III.6.2 Pembuatan Medium	27
III.6.3 Peremajaan Kultur Murni Mikroba	28
III.6.4 Pembuatan Suspensi Mikroba	28
III.6.5 Skrining Aktivitas Antimikroba	29
III.6.5.1 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Maserasi	29
III.6.5.2 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Partisi....	29
III.6.5.3 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksi....	30
III.7 KLT-Bioautografi	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
IV.1 Hasil	32
IV.1.1 Skrining Antimikroba Ekstrak	32

IV.1.2 Skrining Antimikroba Hasil Partisi	32
IV.1.3 Uji Antimikroba Fraksi	32
IV.1.4 KLT-Bioautografi dan Identifikasi kandungan Kimia Aktif.....	33
IV.2 Pembahasan	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
V.1 Kesimpulan	39
V.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil skrining uji antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	35
2. Hasil skrining uji antimikroba hasil partisi ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	36
3. Hasil skrining uji antimikroba ekstrak hasil fraksinasi Ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil skrining uji antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	35
2. Hasil skrining uji antimikroba hasil partisi ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	36
3. Hasil skrining uji antimikroba ekstrak hasil fraksinasi Ekstrak etanol daun jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap <i>Salmonella typhi</i>	43
2. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
3. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap <i>Escherichia coli</i>	45
4. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap <i>Aspergillus niger</i>	46
5. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap <i>Candida albicans</i>	47
6. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol konsentrasi 50 mg/ml terhadap <i>Salmonella typhi</i>	48
7. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol konsentrasi 50 mg/ml terhadap <i>Escherichia coli</i>	49
8. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol konsentrasi 50mg/ml terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
9. Skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol Larut etil asetat Jarak Pagar terhadap <i>Salmonella typhi</i>	51
10. Skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol Larut etil asetat Jarak Pagar terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
11. Skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol Larut etil asetat Jarak Pagar terhadap <i>Escherichia coli</i>	53
12. Hasil uji identifikasi	54
13. Foto hasil pengujian KLT-bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I) daun Jarak Pagar terhadap <i>Salmonella typhi</i>	55
14. Foto hasil pengujian KLT-bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I) daun Jarak Pagar terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55
15. Foto hasil pengujian KLT-bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I) daun Jarak Pagar terhadap <i>Escherichia coli</i>	56
16. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat dengan penampak noda lampu UV 366	56
17. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat dengan penampak noda lampu UV 254	57
18. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat (setelah penyemprotan H ₂ SO ₄ 10%)	57
19. Gambar kontrol negatif	58
20. Profil kromatogram ekstrak etanol hasil partisi etil asetat ..	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Skema Kerja	60
Foto Tanaman	61

BAB I

P E N D A H U L U A N

Prevalensi penyakit infeksi belum menunjukkan kecenderungan menurun dari tahun-ketahun. Berbagai faktor penyebab tingginya kasus penyakit infeksi diantaranya gizi buruk, sanitasi kurang memadai dan juga pemakaian antibiotika yang telah resisten. Penyebabnya dapat juga dipengaruhi oleh regulasi peredaran antibiotika, faktor pasien antara lain dosis yang tidak adekuat, kepatuhan, dan status gizi. Antibiotika telah lama digunakan mengobati berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotika yang berulang pada beberapa strain bakteri tertentu dapat menyebabkan terjadinya resistensi, karena pada bakteri terjadi mekanisme pertahanan diri agar dapat tetap bertahan hidup di alam. (1)

Penemuan suatu senyawa antimikroba baru sangatlah penting karena kebanyakan senyawa tersebut sekarang diketahui telah mengalami resistensi. Diantara sekian banyak tanaman yang secara khusus digunakan sebagai bahan obat tradisional salah satu diantaranya adalah jarak pagar (*Jatropha curcas* L). Tanaman *Jatropha curcas* (familia Euphorbiaceae) memiliki karakteristik berbau lemah dengan rasa tawar (2). Tanaman ini biasa digunakan untuk kanker, kandiditis, kolera, diare, infeksi *Staphylococcus*, tetanus, antivirus, insektisida, malaria dan sebagainya. Sedangkan penggunaan berlebih dari tanaman ini dapat

menyebabkan amnesia, konvulsi, diare, nausea, vertigo dan gangguan penglihatan. (3)

Jatropha adalah tanaman dengan famili Euphorbiaceae yang memiliki 170 spesies tetapi yang dikenal di Indonesia hanya berjumlah empat spesies yaitu Jarak Bali (*Jatropha podagrica*), jarak landi (*Jatropha gossypifolia*), jarak Cina (*Jatropha multifida*) dan jarak pagar (*Jatropha curcas*) (2). Tanaman ini sering digunakan sebagai biobriket, pupuk organik, media pertumbuhan jamur, pakan ternak, biogas, pupuk organik pada dan cair, sabun mandi, sabun aroma terapi, sabun cuci piring dan pakaian dan sebagainya.(4).

Sejumlah negara menggunakan daun jarak pagar sebagai obat batuk, antiseptik, pereda panas, kembung, obat cacing, gusi bengkak, penyubur rambut, antiketombe, antimalaria, peluruh batu ginjal, obat sakit perut dan pengencang payudara dan telah diketahui memiliki aktivitas *in vivo* dan *in vitro* melawan sel P-388 lymphocitic penyebab utama leukimia.(2).

Sebanyak 12 tanaman obat tradisional Cina yang telah diisolasi fungi endofitnya menunjukkan aktivitas sebagai antitumor dan antifungi. Salah satu tanaman tersebut adalah *Jatropha curcas*. Fungi endofit tanaman ini dilaporkan menghambat aktivitas sel tumor lambung BGC-823 dengan nilai persentase tertinggi dibandingkan dengan tanaman lain yang diujikan. (5)

Ekstrak etanol daun jarak pagar menunjukkan efek penghambatan 13 jenis bakteri : *Edwardsiella tarda*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Shigella dysenteriae*, *Tersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophyla*, *Salmonella paratyphi B*, *Vibrio cholerae*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*. Aktivitas ekstrak tersebut kemungkinan juga dapat menghambat aktivitas mikroba lainnya. (6)

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining aktivitas antimikroba dan fraksinasi komponen kimia aktif dari daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap mikroba *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1. Jarak pagar (*Jatropha curcas* L)

a. Klasifikasi (2)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Apetaleae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Jatropha</i>
Jenis	: <i>Jatropha curcas</i> L.

b. Nama Daerah (2, 7)

Sumatera barat	: Balacai, jarak pagar
Sunda	: Jarak kosta, kalake pagaru
Belanda	: Purgeernoot
Inggris	: Physic nut, purging nut
Jawa	: Jarak pager, Jarak iri, Jarak gundul, jarak cina
Madura	: Kaleke, Kaleke paghar
Gorontalo	: Balacai
Manado	: Bintalo

- Bali : Jarak pager
- Makassar : Tangang-tangang kali, tangang-tangang
kanjoli
- Bugis : Paleng kaliki

c. Morfologi

Perdu atau pohon kecil dengan tinggi 5-8 m, getah berwarna merah muda, kulit kayunya halus dan licin berwarna coklat kehijauan atau abu-abu kekuningan. Bunga jantan dengan kelopak berbentuk bulat dengan panjang 2 mm, memiliki mahkota bunga dengan panjang 3 mm berwarna kuning kehijauan, benang sari berjumlah 10. Bunga betina dengan panjang kelopak daun 6 mm, mahkota bunga 6 mm. Buah berbentuk bulat dengan panjang 2,5-3 x 2 cm, bijinya berwarna hitam dengan panjang 1,7 cm. (2)

Berdaun tunggal, berwarna hijau muda sampai hijau tua, permukaan bawah lebih pucat daripada bagian atasnya. Bentuk daun agak menjari (5-7 lekukan) dengan panjang dan lebar 6 – 15 cm yang tersusun secara selang-seling. Panjang tungkai daun sekitar 4 – 15 cm. Tanaman ini tumbuh pada 1700 m diatas permukaan laut. (7)

d. Penggunaan

- Daunnya memiliki khasiat memecahkan pembengkakan pada mata kuda yang disebabkan oleh lalat. (7)
- Daun jarak pager digunakan untuk cacangan, eksema dan skabies.(8)

- Daun jarak pagar juga dapat digunakan untuk mengobati radang pada persendian. (8)
- Daunnya digunakan untuk pengobatan abses dan infeksi pada mulut.(9)
- Ekstrak metanol dari daun jarak pagar memberikan perlindungan yang baik pada kultur sel limfoblastoid manusia sehingga melawan efek cytophatic dari virus HIV, ekstrak daun ini juga menunjukkan respon yang baik terhadap jantung babi dan kemungkinan dapat menjadi sumber obat golongan beta bloker yang baru, dan ekstrak cair tanaman ini efektif mengendalikan *Sclerotium sp* yang merupakan jamur azola yang patogen.(10)
- Daun jarak pagar digunakan secara empirik oleh masyarakat Indonesia sebagai obat antidiare.(11)

e. Kandungan Kimia

Daun jarak pagar mengandung glikosida, tanin, fitosterol, flavanoid dan sapogenin steroid, α -amiryn, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, 7-keto- β -sitosterol, stigmast-5-ene-3- β , 7- α -diol dan stigmast-5-ene-3- β , 7 β -diol, isoviteksin dan viteksin. (12). Selain itu juga mengandung curcosones dan lathyrene diterpenoid.(13).

f. Kunci determinasi tanaman

1b...2b...3b...4b...6b...7b...9b...10b...11b...12b...13b...14b...16a..

Golongan 10. Daun tunggal, terletak berhadapan
 ...241a...240b...239...Famili 67, Euphorbiaceae...1b...3a...4b...5b...
 6b...7a...8b *Jatropha*...1b...2b...*Jatropha curcas*

II.2 Uraian Mikroba

1. *Salmonella typhi*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Procaryotae
 Divisi : Protophyta
 Kelas : Schyzomycetes
 Bangsa : Enterobacteriales
 Suku : Enterobacteriaceae
 Marga : *Salmonella*
 Jenis : *Salmonella typhi*

b. Sifat dan Morfologi (15)

Bentuk batang, Gram negatif, fakutatif anaerob, bergerak dengan flagel peritric, mudah tumbuh pada perbenihan biasa dan tumbuh baik pada perbenihan yang mengandung empedu.

Sebagian besar *Salmonella sp* bersifat patogen pada binatang dan merupakan sumber infeksi bagi manusia. Binatang-binatang itu antara lain tikus, unggas, ternak, anjing dan kucing.

Di alam bebas *Salmonella sp* dapat tahan hidup lama dalam air, tanah atau pada bahan makanan. Dalam feces diluar tubuh manusia dapat bertahan hidup 1-2 bulan. Dalam air susu dapat berkembang biak dan

hidup lama sehingga sering merupakan batu loncatan untuk penularan penyakitnya.

2. *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi (14)

- Kerajaan : Procaryotae
- Divisi : Bacteria
- Kelas : Scotobacteria
- Bangsa : Pseudomonadales
- Suku : Pseudomonadaceae
- Marga : Pseudomonas
- Jenis : *Pseudomonas aeruginosa*

b. Sifat dan Morfologi (16)

Merupakan Bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 x 3,0-4,0 μm . Umumnya mempunyai flagel polar, tetapi kadang-kadang berjumlah 2-3 flagel. Bila tumbuh pada pembenihan tanpa sukrosa terdapat lapisan lendir polisakarida ekstraseluler. Struktur dinding sel sama dengan famili enterobacteriaceae. Strain yang diisolasi dari bahan klinik sering memiliki pili untuk perlekatan pada permukaan sel dan memegang peranan penting dalam resistensi terhadap fagositosis. Suhu pertumbuhan optimum adalah 35°C. Kuman ini menyukai hidup dalam suasana lembab seperti pada peralatan pernafasan, air dingin, lantai kamar mandi, tempat air dan lain-lainnya.

3. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Procaryotae
Divisi : Gracilicutes
Kelas : Scotobacteria
Bangsa : Enterobacteriales
Suku : Enterobacteriaceae
Marga : *Escherichia*
Jenis : *Escherichia coli*

b. Sifat dan Morfologi (16)

Kuman berbentuk batang pendek (kokobasil) gram negatif ukuran 0,4 – 0,7 μm x 1,4 μm , sebagian besar gram positif dan beberapa *strain* mempunyai kapsul. *E. coli* adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus.

4. *Candida albicans*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Plantae
Divisi : Mycophyta
Kelas : Deutoromycetes
Bangsa : Pseudosaccharomycetales

Suku : Cryptococcaceae

Marga : Candida

Jenis : *Candida albicans*

b. Sifat dan Morfologi (17)

Sel *candida* tumbuh membentuk pseudomiselium atau hifa yang membentuk banyak sel-sel tunas atau disebut blastospora, dan mungkin membentuk khlamidospora. Kebanyakan spesies pertumbuhannya membentuk film pada permukaan dan sering merusak makanan yang mengandung garam dan asam dalam jumlah tinggi.

5. *Aspergillus niger*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Emycetes

Kelas : Ascomycetes

Bangsa : Endomycetales

Suku : Euroticeae

Marga : *Aspergillus*

Jenis : *Aspergillus niger*

b. Morfologi (18)

Jamur ini menghasilkan aflatoksin B1. Ternyata jamur yang tergolong ke dalam kelompok *Aspergillus niger* penyebarannya dapat berlangsung secara luas dimana-mana dan dapat diisolasi dari

berbagai macam substrat, termasuk biji-bijian (cosmopolitan). Oleh para ahli dikatakan bahwa jamur tersebut umumnya terdapat pada macam-macam tanah terutama di daerah tropis dan subtropis (10).

Aspergillus niger memiliki bulu dasar berwarna putih atau dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Kepala konodia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. Konidiospora memiliki dinding yang halus yang berwarna coklat. *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada suhu 35 °C – 37 °C (optimum), 6°C – 8°C (Minimum), 45 °C – 47 °C (Maksimum), dan memerlukan oksigen yang cukup (aerobik).

II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.3.1 Pengertian dan Tujuan Ekstraksi

Ekstraksi berasal dari bahasa latin yaitu extraction yang diturunkan dari kata kerja extrahere berarti menarik keluar. Ekstraksi adalah penyarian zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan, mineral dengan menggunakan metode dan pelarut tertentu, ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam (19).

Ekstrak adalah bentuk kering, kental, atau cair yang dibuat dengan cara mengambil sari simplisia berdasarkan cara yang sesuai, tanpa pengaruh cahaya matahari langsung. wadah untuk menyari,

merendam, atau merebus simplisia bisa berupa panci stainless atau toples kaca dan pengaduk dari kayu (19).

II.3.2 Jenis-Jenis Ekstraksi (20)

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

II.3.2.1 Ekstraksi secara dingin (20)

a. Ekstraksi secara maserasi

Maserasi adalah metode penyarian komponen kimia yang terdapat dalam simplisia tanpa bantuan pemanasan. Cara pengerjaannya sederhana, yaitu dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terletak di dalam akan terdesak ke luar, dimana peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Metode ini umumnya dilakukan untuk simplisia yang bertekstur lunak dan tidak tahan pemanasan atau dengan pemanasan menyebabkan terjadinya kerusakan terhadap zat-zat aktifnya.

b. Ekstraksi secara perkolasi

Perkolasi adalah metode penyarian yang dilakukan dengan menyalurkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Pada metode ini simplisia akan diekstraksi dikumpulkan dalam suatu bejana selinder yang bagian bawahnya sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif dari sel-sel yang dilalui sampai menjadi keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh kekuatan yang beratnya dari cairan di atasnya, di kurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahannya.

c. Ekstraksi secara soxhletasi

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah penyaringan berkesinambungan. Cairan penyari dipanaskan hingga mendidih sehingga uap penyari akan naik melalui pipa samping kemudian terkondensasi kembali oleh pendingin tegak. Cairan penyari akan segera turun melarutkan zat aktif dalam simplisia. Bila cairan penyari telah mencapai sifon maka seluruh cairan penyari akan turun ke labu alas bulat. Dalam hal ini akan terjadi proses sirkulasi sampai seluruh zat aktif tersari secara sempurna.

II.3.2.2 Ekstraksi Secara Panas (20)

a. Ekstraksi secara refluks

Refluks adalah salah satu metode penyarian komponen kimia yang terdapat dalam suatu simplisia dengan menguraikan cairan

penyari yang dibantu dengan pemanasan. Metode ini umumnya dilakukan terhadap simplisia yang mempunyai tekstur keras dan komponen kimianya tahan terhadap pemanasan.

b. Ekstraksi Secara Infudasi

Infus adalah sediaan air yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infudasi adalah proses penyari yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

II.4. Tinjauan Umum Antimikroba

II.4.1 Pengertian Antimikroba

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (21).

Pemusnahan mikroba dengan antimikroba yang bersifat bakteristatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok yaitu (22) :

1. Bersifat sebagai antimetabolit

Antimikroba bekerja memblokir tahap metabolik spesifik mikroba, seperti pada sulfonamida dan trimetoprim. Sulfonamid menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat pada bakteri. Sulfonamid bebas secara struktur mirip dengan asam folat, para amino benzoat acid (PABA), dan bekerja kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat.

2. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Antimikroba golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme. Obat yang termasuk kelompok ini adalah penisilin, sefalosporin, sikloserin dll. Penisilin yang bekerja sebagai analog struktur D-alanil yang menempati tempat dari enzim transpeptidase yang menimbulkan cross-link antara bagian dinding sel mikroorganisme (bakteri). Penisilin dapat menghambat pembentukan cross-link tersebut.

3. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel

Antimikroba bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini antimikroba dapat ; (1) Berinteraksi dengan sterol membran sitoplasma pada sel jamur seperti amfoterisin B dan Nistin, (2)

Merusak membran sel bakteri gram negatif, misalnya polimiksin dan kolistin.

4. Penghambatan sintesis protein

Antimikroba di sini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat.

- a. Berinteraksi dengan ribosom 30S, termasuk kelompok ini adalah aminoglikosida, tetrasiklin dan lain-lain. Aminoglikosida yang menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks. Salah dalam menerjemahkan tanda mRNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Tetrasiklin bekerja menghambat ikatan aminoasil tRNA dengan ribosom mRNA kompleks.
- b. Berinteraksi dengan ribosom 50S, misalnya pada kloramfenikol, linkomisin, eritromisin.

5. Penghambatan asam nukleat

Antimikroba mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Sebagai contoh rifampisin, mengikat dan menghambat DNA-dependent RNA polymerase yang ada pada bakteri. Kuinolon menghambat DNA dan metronidazol menghambat sintesis DNA.

Kuinolon menghambat secara selektif sintesis DNA dengan memblokir sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. DNA-girase adalah enzim yang penting untuk replikasi DNA. Hambatan replikasi DNA akan menyebabkan kematian bakteri.

Merusak membran sel bakteri gram negatif, misalnya polimiksin dan kolistin.

4. Penghambatan sintesis protein

Antimikroba di sini mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat.

- a. Berinteraksi dengan ribosom 30S, termasuk kelompok ini adalah aminoglikosida, tetrasiklin dan lain-lain. Aminoglikosida yang menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks. Salah dalam menerjemahkan tanda mRNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Tetrasiklin bekerja menghambat ikatan aminoasil tRNA dengan ribosom mRNA kompleks.
- b. Berinteraksi dengan ribosom 50S, misalnya pada kloramfenikol, linkomisin, eritromisin.

5. Penghambatan asam nukleat

Antimikroba mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Sebagai contoh rifampisin, mengikat dan menghambat DNA-dependent RNA polymerase yang ada pada bakteri. Kuinolon menghambat DNA dan metronidazol menghambat sintesis DNA.

Kuinolon menghambat secara selektif sintesis DNA dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. DNA-girase adalah enzim yang penting untuk replikasi DNA. Hambatan replikasi DNA akan menyebabkan kematian bakteri.

Metronidazol memiliki gugus nitro pada posisi 5 berperan untuk amubiasis karena mampu mereduksi dan berfungsi sebagai elektron aseptor terhadap elektron donor protein amuba. Akibatnya, terjadi gangguan proses biokimia, seperti hilangnya struktur heliks DNA, pemecahan ikatan dan kegagalan fungsi DNA sehingga amuba mengalami kematian.(23)

II.5 Pengujian Secara Mikrobiologis (24)

Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk menentukan senyawa antimikroba yang belum terdeteksi dengan melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan kromatografi lapis tipis. Pada bioautografi ini didasarkan atas efek biologi berupa antibakteri, antiprotozoa, antitumor dan lain-lain dari substansi yang diteliti.

Bioautografi dapat dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat langsung diisolasi dari komponen yang aktif. Bioautografi dapat dibagi dalam tiga kelompok yaitu:

- a. Bioautografi langsung, dimana mikroorganisme tumbuh secara langsung di atas lempeng kromatografi lapis tipis. Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatogram yang telah dihilangkan sisa eluen yang menempel pada lempeng

- kromatogram, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.
- b. Bioautografi kontak dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng kromatografi lapis tipis ke media agar, yang telah diinokulasikan melalui kontak langsung. Lempeng kromatografi ini di tempelkan di atas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung dengan mikroorganisme. Setelah 15 - 30 menit. Lempeng kromatografi dipindahkan dari permukaan medium.
 - c. Bioautografi secara pencelupan, dimana medium agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri, dituang di atas lempeng Kromatografi Lapis Tipis. Dalam metode ini, lempeng kromatografi yang telah dielusi diletakkan di dalam cawan petri sehingga permukaan ditutupi oleh media agar yang berfungsi sebagai based layer. Setelah medium agar memadat dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai seed layer dan diinkubasikan pada suhu yang sesuai.

Beberapa prosedur yang dikemukakan di atas masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Metode 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

kromatogram, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.

- b. Bioautografi kontak dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng kromatografi lapis tipis ke media agar, yang telah diinokulasikan melalui kontak langsung. Lempeng kromatografi ini di tempelkan di atas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan mikroorganisme uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung dengan mikroorganisme. Setelah 15 - 30 menit. Lempeng kromatografi dipindahkan dari permukaan medium.
- c. Bioautografi secara pencelupan, dimana medium agar yang telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri, dituang di atas lempeng Kromatografi Lapis Tipis. Dalam metode ini, lempeng kromatografi yang telah dielusui diletakkan di dalam cawan petri sehingga permukaan ditutupi oleh media agar yang berfungsi sebagai based layer. Setelah medium agar memadat dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai seed layer dan diinkubasikan pada suhu yang sesuai.

Beberapa prosedur yang dikemukakan di atas masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Metode 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 yang begitu rumit. Bioautografi secara langsung, aktivitas antimikrobanya sangat sensitif dan melokalisir senyawa-senyawa yang aktif, tetapi juga mempunyai kekurangan seperti keterbatasan mikroorganisme yang dapat tumbuh secara langsung diatas lapisan kromatografi, ketersebaran bakteri uji pada lempeng dan memungkinkan terjadinya kontaminasi yang sangat besar. Metode pencelupan merupakan metode yang paling tepat, karena tidak dipengaruhi oleh kemungkinan terjadinya kontaminasi.

II.6 Metode Pemisahan

Metode Kromatografi

Pemisahan yang terjadi dalam kromatografi dilakukan dengan memanipulasi sedemikian rupa sifat-sifat fisik umum dari suatu senyawa atau molekul, yaitu :

1. Kecenderungan molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan).
2. Kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (adsorpsi, penyerapan).
3. Kecenderungan molekul untuk menguap atau berubah ke keadaan uap (volatilitas).

Dalam kromatografi, senyawa-senyawa yang akan dipisahkan ditempatkan pada situasi dinamik (bergerak) yaitu dengan melakukan pengaliran dan selama itu akan terjadi peristiwa pelarutan, adsorpsi atau penguapan (25).

Keuntungan-keuntungan dari teknik kromatografi antara lain merupakan metode pemisahan yang cepat dan mudah serta menggunakan peralatan yang murah dan sederhana (kecuali untuk kromatografi gas). Hingga campuran kompleks dapat dipisahkan dengan mudah. Keuntungan lebih lanjut ialah hanya membutuhkan campuran cuplikan yang sangat sedikit sekali, bahkan justru tak mungkin menggunakan jumlah yang besar dalam kromatografi, di samping itu pekerjaan dapat diulang (26).

Kromatografi Lapis Tipis

Dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, pemisahan senyawa yang amat berbeda seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintetik, kompleks anorganik-organik dan bahkan ion anorganik dapat dilakukan dalam beberapa menit dengan harga yang tidak terlalu mahal. (27).

Pada hakikatnya KLT melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak, dimana fase diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap atau berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Hampir segala macam serbuk dapat dan telah dipakai sebagai penjerap pada KLT, tetapi penjerap yang paling umum digunakan adalah silika gel, alumina, keiselguhr, dan selulosa. Dari keempat jenis adsorben tersebut yang paling banyak digunakan adalah silika gel. (28)

Fase gerak merupakan proses serapan yang terjadi ketika menggunakan silika gel, alumina, dan fase diam lainnya yang diikuti oleh

pelarut. Pemilihan pelarut mengikuti aturan kromatografi kolom serapan. Contoh fase gerak yang digunakan adalah metanol, etanol, asam asetat, kloroform, dan lain-lain. (29)

Kelebihan KLT adalah kecepatan, keserbagunaannya, ketajaman pemisahannya, kepekaanya yang tinggi, pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya lebih sedikit. Sedangkan kekurangan KLT yang asli ialah kerja penyaputan pelat kaca dengan penjerap (30).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis lebih baik dikerjakan dengan pereaksi lokasi kimia dan reaksi-reaksi warna, tetapi lazimnya untuk identifikasi menggunakan harga Rf. Derajat retensi pada kromatografi lempeng biasanya dinyatakan sebagai faktor retensi. Rf didefenisikan sebagai berikut (26):

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

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi nilai Rf adalah (26) :

1. Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
2. Sifat dari penjerap dan derajat aktivitasnya.
3. Tebal dan kerataan dari lapisan penjerap
4. Pelarut
5. Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan

6. Teknik percobaan
7. Jumlah cuplikan yang digunakan
8. Suhu
9. Keseimbangan

Oleh karena itu, harga Rf tidak dapat diandalkan untuk identifikasi tanpa pertimbangan. Senyawa yang sudah dikenal harus dikromatografi disamping senyawa yang dicirikan sebagai pembanding.(31)

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

III.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi, chamber, eksikator, gelas ukur, Labu Erlenmeyer (*Pyrex*), mikropipet (*Eppendorf*), seperangkat alat rotavapor (*Buchii*), otoklaf, LAF (Laminar Air Flow), cawan petri, lampu spiritus, inkubator aerob (*Memmert*), lampu UV 254 dan 366 nm, timbangan Kasar (*O' Hauss*), Vortex (*Type VF2*), sentrifuge (*Model DFC 154*), timbangan analitik (*CHYO*), Magnetik stirer (*Nouva II Stryrer*), Oven listrik (*WTB Binder*), Spektrofotometer (*Model 340*)

III.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Jarak pagar (*Jatropha curcas* L); pereaksi semprot : asam sulfat 10%, asam borat, asam sitrat, FeCl_3 , Dragendorf, Lieberman Bourchard; pelarut organik : hexan, etanol, metanol, etil asetat, kloroform; lempeng KLT silika gel G 60 F₂₅₄ (*E.Merck*); medium : NA (Nutrient Agar) (*Pronadisa*), medium NB (Nutrient Broth) (*Pronadisa*), PDA (Potato Dextrosa Agar) (*Pronadisa*); NaCl 0,9%, kertas saring, aquadest; biakan murni : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi farmasi, chloramphenicol kapsul dan ketoconazole tablet, paper disc (Oxoid)

III.2. Pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian

III.2.1. Pengambilan Sampel

Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) diperoleh dari daerah sekitar exfarm Agronomi, kampus Unhas Tamalanrea Makassar yang dilanjutkan dengan penelusuran determinasi tanaman di jurusan Biologi Unhas.

III.2.2. Pengolahan Sampel

Sampel daun jarak pagar yang telah dikumpulkan di cuci bersih pada air yang mengalir lalu dikeringkan dalam oven simplisia pada suhu 70 °C yang kemudian dihaluskan sampai diperoleh derajat halus yang diinginkan dengan menggunakan alat blender.

III.2.3 Ekstraksi Sampel

Sebanyak 400 gram sampel daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), dimasukkan dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan 2 liter cairan penyari heksan, selanjutnya bejana ditutup dan dibiarkan selama 3 hari pada suhu kamar, terlindung cahaya disertai pengadukan setiap harinya. Perlakuan yang sama dilakukan dengan menggunakan cairan penyari etanol 70 %. Maserat lalu dikentalkan dengan rotavapor, hingga diperoleh ekstrak heksan dan etanol daun jarak pagar yang kemudian dihilangkan sisa pelarutnya dengan cara diangin-anginkan kemudian dimasukkan dalam eksikator.

III.3 Partisi dengan Etil Asetat

Sebanyak 15 gram ekstrak etanol kering jarak pagar dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak ditambahkan pengaduk magnetik kemudian disentrifus sehingga terpisah menjadi dua bagian. Bagian yang terpisah tersebut ditempatkan pada wadah yang berbeda dan diuapkan, hingga diperoleh ekstrak etanol yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat lalu dimonitor profil komponen kimianya dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen heksan – etil asetat (3:1). Selanjutnya dilakukan skrining antimikroba.

III.4 Fraksinasi

Ekstrak aktif (ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat) difraksinasi secara kromatografi cair vakum menggunakan eluen heksan : etil asetat (25:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:5, 1:0), etil asetat : metanol (5:1, 1:1, 0:1) Fraksi-fraksi yang diperoleh dimonitor profil KLTnya menggunakan eluen heksan - etil asetat (3:1). Fraksi dengan profil KLT yang sama digabung dan diperoleh 6 fraksi (fraksi I, II, III, IV,V, VI). Keenam fraksi tersebut lalu diuji aktivitas antimikrobanya.

III.5 Identifikasi Komponen Kimia

- Uji Kromatografi Lapis Tipis (29)

Lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit sebelum digunakan. Kemudian ekstrak yang paling aktif menghambat mikroba ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 8 x 2 cm menggunakan pipa kapiler. Ekstrak yang ditotolkan pada

lempeng KLT dikeringkan dengan hair dryer lalu dimasukkan dalam chamber / bejana kromatografi yang telah jenuh dengan eluen heksan-etil asetat (17:1) lalu dibiarkan mengembang sampai batas atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan hingga cairan pengembangnya menguap. Diamati di bawah lampu UV 254 dan 366 nm, lalu kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot sebagai berikut :

- FeCl_3 , positif fenolik jika terjadi perubahan warna noda menjadi kehijauan atau biru
- Sitroborat, lalu kromatogram dimasukkan dalam oven pada suhu 100°C selama 5-10 menit lalu diamati warna noda yang tampak. Pada penampak noda lampu UV 366 nm, positif flavonoid jika terjadi perubahan warna pada noda menjadi kuning.
- Dragendorff lalu kromatogram dimasukkan dalam oven pada suhu 100°C selama 5-10 menit lalu diamati warna noda yang tampak. Positif alkaloid jika terjadi perubahan warna pada noda menjadi warna jingga.
- Lieberman-Bouchard lalu kromatogram dimasukkan dalam oven pada suhu 100°C selama 5-10 menit lalu diamati warna noda yang tampak pada penampak noda UV 366 nm. Positif senyawa terpenoid jika terjadi perubahan warna pada noda menjadi kecoklatan.(33)

III.6 Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba

III.6.1 Sterilisasi Alat (32)

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan, khususnya alat-alat yang terbuat dari gelas antara lain : botol pengencer, cawan petri, tabung reaksi, vial, yang telah dimasukkan dalam suatu cawan petri lalu disterilkan di dalam oven 160-170°C selama 2 jam. Ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung pada nyala api. Untuk alat-alat yang tidak tahan pemanasan dan berskala seperti gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, spoit disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit.

III.6.2 Pembuatan Medium

Medium NA (Nutrient Agar) dibuat dengan cara ditimbang ekstrak beef sebanyak 3 g, peptone 5 g, agar 15 g, dan aquadest 1 L dan diatur pHnya $7,0 \pm 0,2$. Keempat bahan tersebut dicampur, dipanaskan, lalu disterilkan di otoklaf.

Medium NB (Nutrient Broth) dibuat dengan cara ditimbang ekstrak beef sebanyak 3 g, peptone 5 g, dan aquadest 1 L dan diatur pHnya $7,3 \pm 0,1$. Ketiga bahan tersebut dicampur, dipanaskan, lalu disterilkan di otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Medium PDA (Potato Dekstrosa Agar) dibuat dengan cara ditimbang PDA sintetik sebanyak 39 g lalu ditambahkan aquadest sebanyak 1 L sehingga semua bahan larut dan. Untuk melarutkan bahan tersebut dilakukan pemanasan sampai semua bahan larut, diatur pHnya

III.6 Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba

III.6.1 Sterilisasi Alat (32)

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan, khususnya alat-alat yang terbuat dari gelas antara lain : botol pengencer, cawan petri, tabung reaksi, vial, yang telah dimasukkan dalam suatu cawan petri lalu disterilkan di dalam oven 160-170°C selama 2 jam. Ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung pada nyala api. Untuk alat-alat yang tidak tahan pemanasan dan berskala seperti gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, spoit disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit.

III.6.2 Pembuatan Medium

Medium NA (Nutrient Agar) dibuat dengan cara ditimbang ekstrak beef sebanyak 3 g, peptone 5 g, agar 15 g, dan aquadest 1 L dan diatur pHnya $7,0 \pm 0,2$. Keempat bahan tersebut dicampur, dipanaskan, lalu disterilkan di otoklaf.

Medium NB (Nutrient Broth) dibuat dengan cara ditimbang ekstrak beef sebanyak 3 g, peptone 5 g, dan aquadest 1 L dan diatur pHnya $7,3 \pm 0,1$. Ketiga bahan tersebut dicampur, dipanaskan, lalu disterilkan di otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Medium PDA (Potato Dekstrosa Agar) dibuat dengan cara ditimbang PDA sintetik sebanyak 39 g lalu ditambahkan aquadest sebanyak 1 L sehingga semua bahan larut dan. Untuk melarutkan bahan tersebut dilakukan pemanasan sampai semua bahan larut, diatur pHnya

5,6±0,1 dengan penambahan asam tartrat 10 % sebanyak 14 ml. Disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. (33)

III.6.3 Peremajaan Kultur Murni Mikroba

Bakteri uji berupa *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi*, stok bakteri biakan murni diambil 1 ose, masing-masing diinokulasikan pada medium NB kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Jamur uji berupa *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger*, stok jamur biakan murni diambil satu ose, masing-masing diinokulasikan pada medium PDB miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 x 24 jam.

III.6.4 Pembuatan Suspensi Mikroba

Bakteri uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*, yang telah diremajakan disuspensikan dengan NaCl 0,9% steril kemudian diukur serapan dari bakteri uji dengan Spektrofotometer hingga pada pengenceran tertentu didapatkan 25 % terhadap blanko NaCl 0,9% pada panjang gelombang 580 nm.

Candida albicans, dan *Aspergillus niger* hasil peremajaan disuspensikan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%) steril sampai diperoleh transmittan 75% yang diukur pada panjang gelombang 580 nm menggunakan spektrofotometer.

III.6.5 Skrining Aktivitas Antimikroba

III.6.5.1 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Maserasi

Ekstrak etanol 70% ditimbang 1 mg lalu dilarutkan dengan DMSO 1 ml. Campuran tersebut diteteskan di atas paper disk standar sebanyak 20 μ l, kemudian dibiarkan sejenak agar pelarutnya dapat terserap dengan baik dalam paper disc tersebut. Medium NA 10 ml yang telah disuspensikan bakteri dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah medium memadat, paper disk dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi medium dengan menggunakan pinset steril. Untuk kontrol positif bakteri digunakan disc chloramphenicol dan untuk jamur digunakan disc ketoconazole saja yang ditumbuhkan biakan mikroba didalamnya. Dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 72 jam untuk jamur.

Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak heksan. Kemudian diamati ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba, yang ditandai dengan adanya daerah penghambatan pertumbuhan mikroba pada daerah sekeliling / sekitar paper disk.

III.6.5.2 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Partisi

Ekstrak etanol 70% larut etil asetat ditimbang 50 mg lalu dilarutkan dalam DMSO 1 ml. Campuran tersebut diteteskan di atas paper disk standar sebanyak 20 μ l, kemudian dibiarkan sejenak agar pelarutnya dapat terserap dengan baik dalam paper disc tersebut. Medium NA 10 ml yang telah disuspensikan bakteri dituang ke dalam cawan petri dan

dibiarkan memadat. Setelah medium memadat, paper disk dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi medium dengan menggunakan pinset steril. Kontrol positif bakteri digunakan disc chloramphenicol dan dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri. Dilakukan pengamatan ekstrak etanol 70% larut etil asetat yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba, yang ditandai dengan adanya daerah penghambatan pertumbuhan mikroba pada daerah sekeliling / sekitar paper disk.

III.6.5.3 Skrining Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi

Ditimbang 3 mg masing-masing dari 6 fraksi gabungan lalu dilarutkan dalam DMSO 1 ml. Campuran tersebut diteteskan di atas paper disk standar sebanyak 20 µl, kemudian dibiarkan sejenak agar pelarutnya dapat terserap dengan baik dalam paper disc tersebut. Medium NA 10 ml yang telah disuspensikan bakteri dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah medium memadat, paper disk dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi medium dengan menggunakan pinset steril. Kontrol positif digunakan disc chloramphenicol lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Dilakukan pengamatan fraksi yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba, yang ditandai dengan adanya daerah penghambatan pertumbuhan mikroba pada daerah sekeliling / sekitar paper disk.

III.7 KLT-Bioautografi

Suspensi bakteri 1 ml steril dimasukkan dalam cawan petri lalu medium Nutrient Agar (NA) sebanyak 10 ml dimasukkan pula ke dalam cawan petri steril yang dilakukan secara aseptis. Setelah medium agak memadat, lempeng KLT yang telah dielusi dengan eluen heksan - etil asetat (17 : 1) lalu diletakkan di atas permukaan medium agar. Setelah 30 menit, lempeng tersebut dipindahkan. Cawan petri kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan akan terlihat pada medium agar, dan dibandingkan dengan kromatogram hasil pengujian KLT.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil

IV.1.1 Skrining Antimikroba Ekstrak

Ekstrak etanol dan heksan daun Jarak pagar diskriming aktivitas antimikrobanya dengan metode difusi menggunakan kertas saring (paper disc/ blank disc). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji namun yang paling aktif adalah ekstrak etanol, sedangkan ekstrak yang menghambat pertumbuhan jamur tidak menunjukkan penghambatan yang berarti.

IV.1.2 Skrining Antimikroba Hasil Partisi

Ekstrak etanol Jarak pagar dipartisi dengan menggunakan etil asetat sehingga diperoleh 2 ekstrak hasil partisi yaitu ekstrak etanol Jarak pagar yang larut dan tidak larut etil asetat, Kemudian dilakukan uji antimikroba pada kedua ekstrak tersebut, dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol Jarak pagar yang larut etil asetat memiliki penghambatan yang paling baik terhadap bakteri uji.

IV.1.3 Uji Antimikroba Fraksi

Ekstrak etanol daun Jarak pagar larut etil asetat difraksinasi secara kromatografi cair vakum dan diperoleh 6 fraksi gabungan (fraksi I, fraksi II, fraksi III, IV, V fraksi VI), keenam fraksi tersebut diuji efek antimikrobanya

dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi I yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri uji.

IV.1.4 KLT-Bioautografi dan Identifikasi Kandungan Kimia Aktif

Dilakukan KLT-bioautografi fraksi I dan diperoleh hasil bahwa bercak dengan nilai Rf 0,4 pada kromatogram memiliki aktivitas antimikroba.

Bercak dengan nilai Rf 0,4 pada kromatogram disemprot dengan sitroborat dan tidak menunjukkan perubahan warna noda pada kromatogram menjadi kuning pada penampakan noda lampu UV 366 nm, hal ini menunjukkan bahwa noda dengan nilai Rf 0,4 tidak mengandung senyawa flavonoid, Dengan pereaksi semprot Dragendorf juga tidak menunjukkan perubahan warna bercak menjadi jingga, hal ini menjelaskan bercak tersebut tidak mengandung senyawa golongan alkaloid, sedangkan penyemprotan menggunakan pereaksi semprot Lieberman-Bouchard yang kemudian dilanjutkan dengan pemanasan kromatogram dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit menampakkan perubahan warna noda kecoklatan secara visible dan pada penampakan noda lampu UV 366 nm menunjukkan pada noda yang menghambat dari fraksi tersebut tergolong senyawa terpenoid. (34)

IV.2 Pembahasan

Daun Jarak pagar (*Jatropha curcas* L) diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi karena maserasi merupakan metode ekstraksi secara dingin yang sesuai dengan tekstur sampel daun yang lunak dan mencegah kerusakan komponen kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Sampel dimaserasi dengan n-heksan terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan dengan etanol 70%, ini bertujuan agar komponen kimia yang bersifat non polar dapat tersari pada heksan dan komponen kimia yang bersifat polar dapat tersari pada etanol 70%. Hal ini dilakukan untuk mempermudah skrining senyawa aktif antimikroba dari kedua sampel tersebut.

Skrining aktivitas antimikroba kedua ekstrak dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas saring (paper disk) terhadap *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, serta jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Hasil skrining antimikroba menunjukkan bahwa kedua ekstrak pada konsentrasi 1 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan semua biakan bakteri dan jamur. Namun pada uji selanjutnya hanya dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak etanol Jarak pagar yang diameter penghambatannya paling besar. Hasil skrining aktivitas antimikroba kedua ekstrak tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Rata-rata Hasil Uji Skrining Antimikroba Ekstrak Heksan dan Etanol Sampel dengan diameter paper disk 6 mm

Sampel	Diameter Hambatan Rata-rata (mm)				
	S.T	P.A	E.C	A.N	C.A
Ekstrak heksan Jarak pagar	7,8	8,1	8,6	7,3	7,6
Ekstrak Etanol Jarak pagar	10,2	22,6	17,4	7,9	6,3
Kontrol Positif	33,4	35,7	41,3	11,8	15,5
Kontrol Negatif	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Keterangan :

S.T = *Salmonella thypii*

P.A = *Pseudomonas aeruginosa*

E.C = *Escherichia coli*

C.A = *Candida albicans*

A.N = *Aspergillus niger*

Kontrol positif bakteri = Disc chloramphenicol

Kontrol positif jamur = Disc ketoconazole

Kedua ekstrak daun tanaman yang diuji menunjukkan aktivitas berarti hanya terhadap bakteri uji sedangkan pada jamur tidak menunjukkan penghambatan secara berarti. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang terdapat pada tanaman sampel bersifat antibakteri dapat pula bersifat sebagai antifungi. Ditinjau dari 5 mekanisme kerja antimikroba, ada perbedaan mendasar antara antibakteri dan antifungi. Antifungi dengan mekanisme penghambatan permeabilitas membran, sedangkan antibakteri dengan mekanisme penghambatan sintesis protein, sintesis dinding sel, sintesis asam nukleat total pada sel dan metabolisme sel mikroba (29).

Adanya perbedaan kemampuan penghambatan ekstrak heksan maupun etanol terhadap mikroba uji dikarenakan adanya kecenderungan

komponen kimia yang aktif menghambat aktivitas antimikroba tersebut lebih larut pada cairan penyari yang bersifat lebih polar. Pada tabel 1 sebelumnya, nampak bahwa ekstrak etanol pada umumnya lebih aktif dibandingkan ekstrak heksan, sehingga secara awal diduga senyawa yang aktif menghambat aktivitas antimikroba adalah senyawa yang bersifat polar. Selanjutnya dilakukan partisi pelarut terhadap ekstrak etanol daun jarak pagar. Hasil uji antimikroba hasil partisi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Partisi Ekstrak Etanol Jarak pagar dengan diameter paper disk 6 mm

Sampel	Diameter Hambatan (mm)		
	S.T	P.A	E.C
Ekstrak Etanol daun Jarak pagar Larut Etil Asetat	10,4	10,3	10,5
Ekstrak Etanol daun Jarak pagar tidak Larut Etil Asetat	8,2	8,5	7,4
Kontrol Positif	30,4	30,2	32,1

Tabel di atas menunjukkan bahwa yang paling berpotensi untuk diisolasi komponen aktif antimikrobanya adalah ekstrak etanol daun jarak pagar yang larut etil asetat. Berdasarkan kelarutannya dalam pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dan partisi diduga senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak tersebut bersifat polar sehingga pada pemisahan dengan kromatografi kolom vakum cair digunakan campuran Heksan : etil asetat, (25:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:5, 1:0), dan etil asetat :metanol (5:1, 1:1). Fraksi-fraksi yang diperoleh dimonitor profil

KLT-nya menggunakan eluen heksan - etil asetat (3:1). Fraksi dengan profil KLT yang sama digabung dan diperoleh 6 fraksi (fraksi I, II, III, IV, V dan VI). Keenam fraksi tersebut lalu diuji aktivitas antimikrobanya. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa yang memiliki aktivitas paling baik adalah fraksi I. (Dapat dilihat pada tabel 3 dibawah)

Tabel 3. Hasil uji skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol daun Jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm

Sampel	Diameter Hambatan (mm)		
	S.T	P.A	E.C
Fraksi I	11,1	12,1	24,1
Fraksi II	9,1	11,1	19,1
Fraksi III	10,1	9,1	12,1
Fraksi IV	7,0	9,1	14,0
Fraksi V	10,5	9,0	9,1
Fraksi VI	8,1	8,1	8,1
Kontrol Positif	30,1	37,1	36,1

Keterangan:

1. *Salmonella typhi* (S.T)

2. *Pseudomonas aeruginosa* (P.A)

3. *Escherichia coli* (E.C)

Kontrol positif menggunakan disc cloramphenicol

Pengujian fraksi I dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Kromatogram hasil elusi fraksi I, menggunakan campuran eluen heksan - etil asetat - (17:1) menunjukkan adanya 1 bercak yang meredam UV 254 dengan nilai Rf 0,4, yang juga tampak pada pada lampu UV 366 nm dan H₂SO₄ 10 %. Berdasarkan hasil KLT bioautografi tersebut, menunjukkan bahwa bercak pada Rf 0,4 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella thypi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan

KLT-nya menggunakan eluen heksan - etil asetat (3:1). Fraksi dengan profil KLT yang sama digabung dan diperoleh 6 fraksi (fraksi I, II, III, IV, V dan VI). Keenam fraksi tersebut lalu diuji aktivitas antimikrobanya. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa yang memiliki aktivitas paling baik adalah fraksi I. (Dapat dilihat pada tabel 3 dibawah)

Tabel 3. Hasil uji skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol daun Jarak pagar pada paper disk diameter 6 mm

Sampel	Diameter Hambatan (mm)		
	S.T	P.A	E.C
Fraksi I	11,1	12,1	24,1
Fraksi II	9,1	11,1	19,1
Fraksi III	10,1	9,1	12,1
Fraksi IV	7,0	9,1	14,0
Fraksi V	10,5	9,0	9,1
Fraksi VI	8,1	8,1	8,1
Kontrol Positif	30,1	37,1	36,1

Keterangan:

1. *Salmonella typhi* (S.T)

2. *Pseudomonas aeruginosa* (P.A)

3. *Escherichia coli* (E.C)

Kontrol positif menggunakan disc cloramphenicol

Pengujian fraksi I dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Kromatogram hasil elusi fraksi I, menggunakan campuran eluen heksan - etil asetat - (17:1) menunjukkan adanya 1 bercak yang meredam UV 254 dengan nilai Rf 0,4, yang juga tampak pada pada lampu UV 366 nm dan H₂SO₄ 10 %. Berdasarkan hasil KLT bioautografi tersebut, menunjukkan bahwa bercak pada Rf 0,4 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella thypi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan

adanya zona penghambatan pada permukaan medium tempat berdifusinya bercak tersebut.(34)

Identifikasi lebih lanjut terhadap bercak pada fraksi I (bercak dengan Rf 0,4) dilakukan dengan Dragendorff yang tidak menunjukkan adanya perubahan warna bercak menjadi jingga pada lempeng yang berwarna kuning (negatif untuk alkaloid). Sedangkan penyemprotan dengan sitroborat juga tidak menunjukkan adanya indikasi kandungan flavonoid yang seharusnya ditunjukkan dengan adanya warna kekuningan, dan dengan pereaksi Lieberman-Bouchard, menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kecoklatan yang menunjukkan adanya kandungan senyawa terpenoid. (35)

BAB V PENUTUP

V.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengujian aktivitas antimikroba terhadap terhadap sampel daun tanaman Jarak pagar (*Jatropha curcas* L), maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curca* L) pada konsentrasi 20 µg/ µl dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.
2. Ekstrak etanol daun Jarak pagar yang larut etil asetat pada konsentrasi 1mg/µl aktif terhadap , *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.
3. Diperoleh bercak aktif antibakteri fraksi I ekstrak etanol daun Jarak pagar yang tidak larut etil asetat dengan nilai Rf 0,4 pada elusi dengan eluen heksan - etil asetat (17 : 1) memberikan hasil yang positif terhadap penampak noda untuk golongan terpenoid.

V.2 SARAN

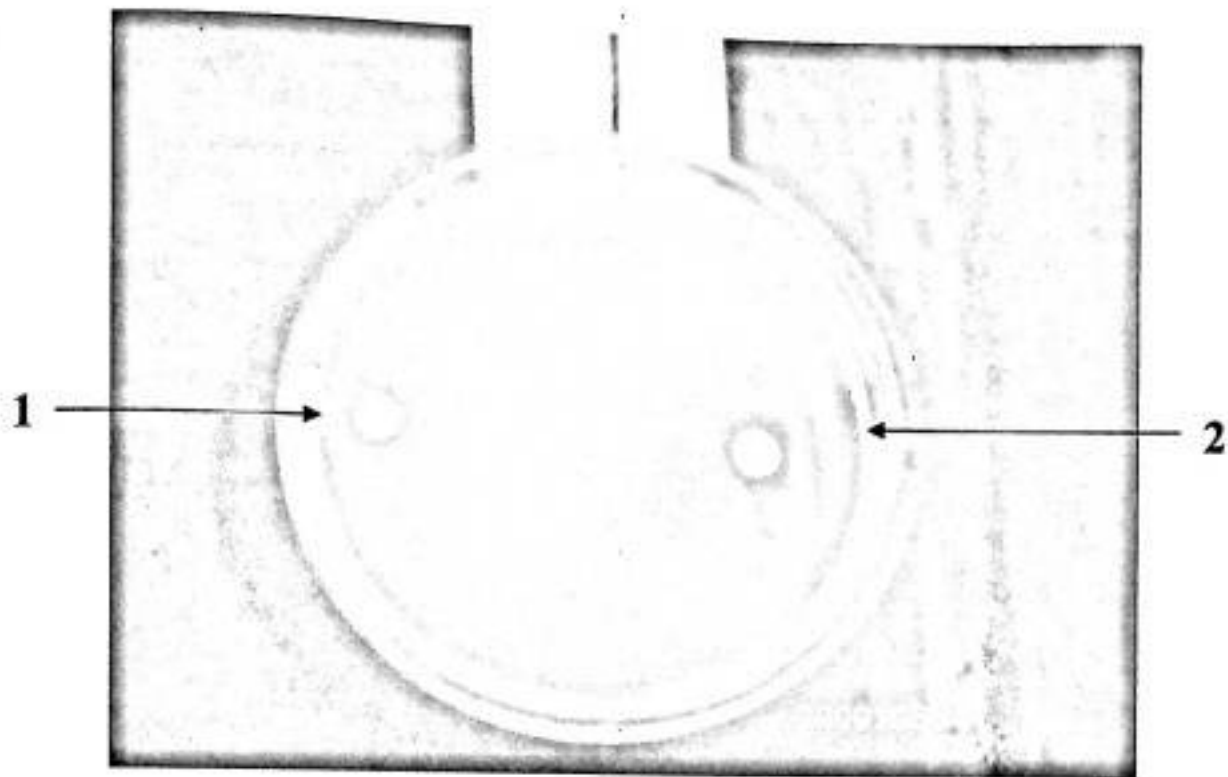
Perlunya dilakukan pengulangan uji antimikroba dari senyawa aktif daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) pada beberapa tingkat konsentrasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soleha, M., Elvistra, H., L., Nyoman, F., & Triyani. 2007. *Pola Resistensi Bakteri terhadap Antimikroba di Jakarta*, (Online), (<http://www.litbang.depkes.go.id/risbinkes/Buku%20Laporan%20Penelitian%202006/pola%20resistensi%20bakteri.htm>, diakses 12 Februari 2008).
2. Padua, L. S. D., Bunyapraphatsara, N., Lemmens, R. H. J. 1999. *Plant Resources of South East Asia, Medical and Poisonous Plants* 1. Prosea Foundation. Bogor, Indonesia. 325.
3. Duke, J. A. 2002. *Handbook of Medical Herbs*, Second Edition. CRC Press.
4. Hambali, E., Suryani, A., Dadang, Hariyadi, Hanafie, H., K., Imam, Reksowardojo, Rivai, M., Ihsanur, M., Suryadarma, P., Tjitrosemito, S., H., Tatang, Soerawidjaja, Prawitasari, T., Prakoso, T., Purnama, W. 2006. *Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodisel*. Penebar swadaya. Jakarta. 35.
5. Li, H., Qing, C., Zhang, Y., Zhao, Z. 2005. Screening for endophytic fungi with antitumor and antifungal activities from Chinese medical plants. *World journal of microbiology and biotechnology*. Vol.21.:1515-1519.
6. Posangi, J. 2001. *Uji antimikroba ekstrak daun jarak pagar (Jatropha curcas) terhadap bakteri enterik*, (Online), (<http://digilib.bi.itb.ac.id/go.php?id=saptunsrat-gdl-jou-2000-jimmy-1911-antimikrob>, diakses 13 Januari 2008).
7. Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Badan Litbang Kehutanan. Jakarta. 1180
8. Mosa, J., S., Al'said, M., S., Alyahya, M. 2003. Plants of Pharmagnocy. *Saudi Journal Biology and Science*. Vol. 10.: 175, 181.
9. Dery, B., Otshina, R., Nga'tigwa, C. 1999. *Indigenous Knowledge of Medical Trees and Setting Priorities for Their Domestication in Shinyanga Region*. International Centre for Agricultural Research. Nairobi, Kenya. 54-55.
10. Heller, J. 1996. *Physic Nut, Jatropha curcas L, Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops*. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Roma. 19.

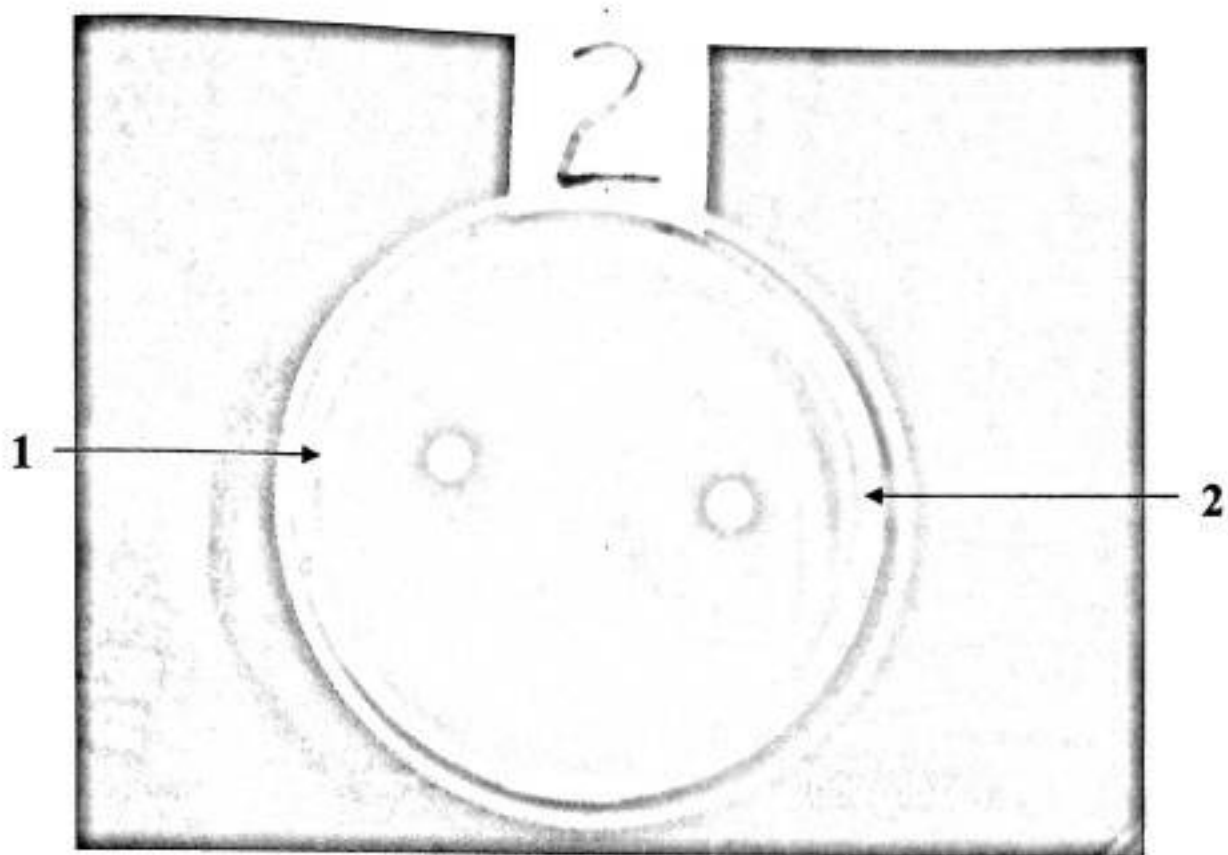
11. Winarno, M, W., Sundari, D. 1996. *Cermin Dunia Kedokteran, Pemanfaat Tumbuhan Sebagai Obat Diare di Indonesia*. Group PT Kalbe Farma. Jakarta. 26.
12. Lanch, C., Harper, T., Georges, K., Bridgewater, E. 2001. Medical and Ethnoveterinary Remedies of Hunter in Trinidad. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol.:10: 11.
13. Khare, C, P., 2007. *Indian Medical Plants*. Springer. New Delhi, India. 349.
14. Buchanan, R.E., Gibbons, N, E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Eight edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimore.
15. Endang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk keperawatan dan sekolah tenaga kesehatan yang sederajat*. PT Citra Aditya Bakti Bandung. 107.
16. Sujudi., Chatim, A., Assani, S., Suharto., Sudarmono, P., Rahim, A., Utji, R., Subandrio, A., Hutabarat, T., Warsa, U, C., Lintong, M., Josodiwondo, S., Harun, H., Syahrurahman, A., Sardjito, R., Karsinah., Sudiro, T, M., Sastroewignjo, R, I., Triyatni. 1993. *Buku ajar mikrobiologi kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta. 163, 177.
17. Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*, Jilid I. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 257-259.
18. Suriawiria, U, H. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Papas Sinar Sinanti. Jakarta. 129.
19. Sudewo, B. 2004. *Tanaman Obat Populer*. Agromedia Pustaka. Yogyakarta. 44-45.
20. Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
21. Ganiswara, S, G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia . Jakarta. 500-501.
22. Djide, M, N., Sartini, N. 2006. *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makassar. 25-30,242-245.

23. Siswandono., Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya. 51, 77.
24. Djide, M, N., Sartini, N. 2006. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makassar. 79, 299-305.
25. Sudarmadji, S. 1989. *Analisis Bahan Makanan Dan Pertanian*. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 43-45.
26. Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 5, 27-37.
27. Gitter, R, J., Bobbitt, J, M., Schwarting, A, E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit Institut Teknologi Bogor. Bandung. 107-109.
28. Adnan, M. 2001. *Teknik Kromatografi, Untuk analisis Makanan*. Penerbit CV. Andi. Yogyakarta. 9-10.
29. Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 167-171.
30. Harborne, J, B. 1996. *Metode Fitokimia*, Terbitan kedua. Penerjemah Padmawinata, K., Soediro, I. Penerbit Institut Teknologi Bogor. Bandung. 6, 13.
31. Robinson, T. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Penerjemah Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung. 7.
32. Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*. CV. Irama Widya, Bandung. 86-88, 123-128.
33. Sutrisno, R, B. 1993. *Pereaksi KLT (Kromatografi Lapis Tipis)*. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. Jakarta. 21, 37, 74, 78.
34. Ernst, E, J., Rogers, P, D. 2005. *Antifungal agent : Methods and Protocols*. Humana Press. New Jersey. 96-97.
35. E. Merck. 1988. *Culture Media Handbook*. Darmstadt. 124, 131.



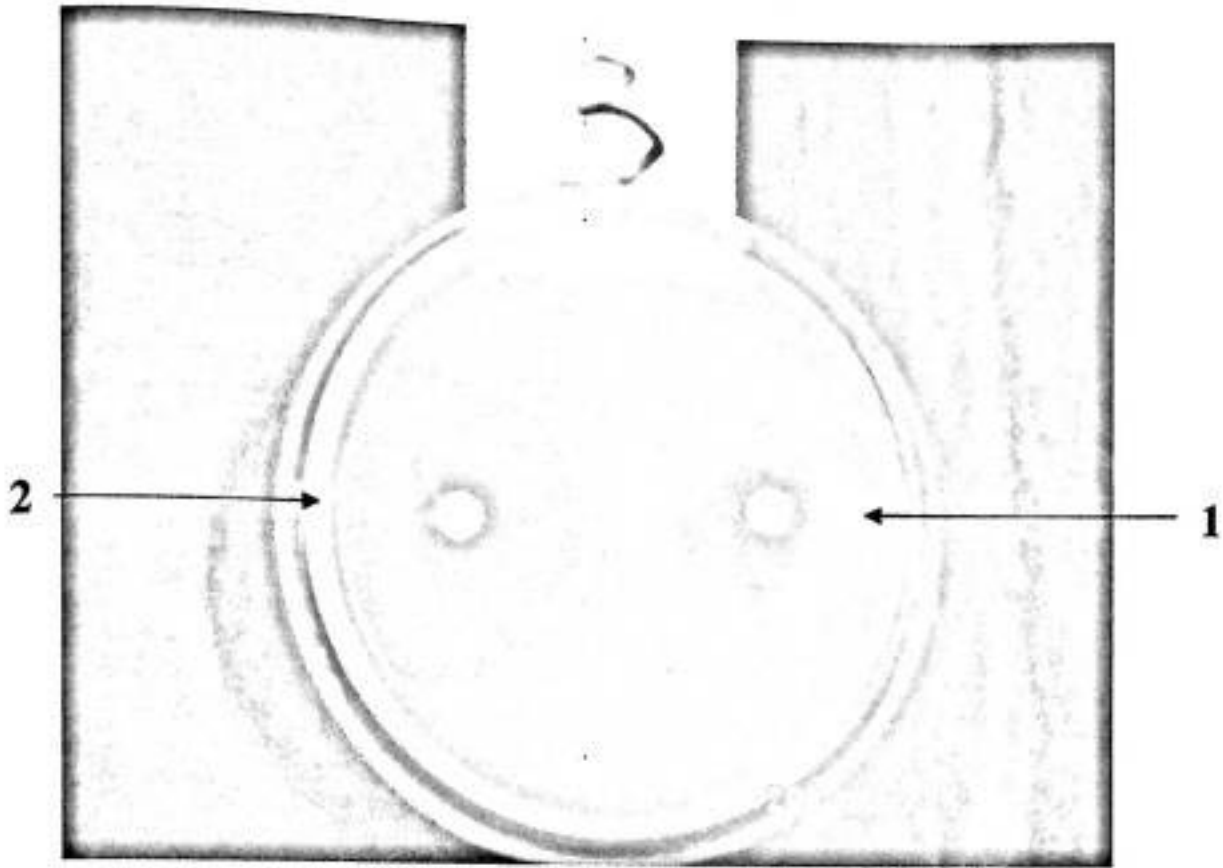
Gambar 1. Foto Skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar terhadap *Salmonella typhi*

Keterangan: 1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar 1 mg/ml
2. Kontrol chloramphenicol



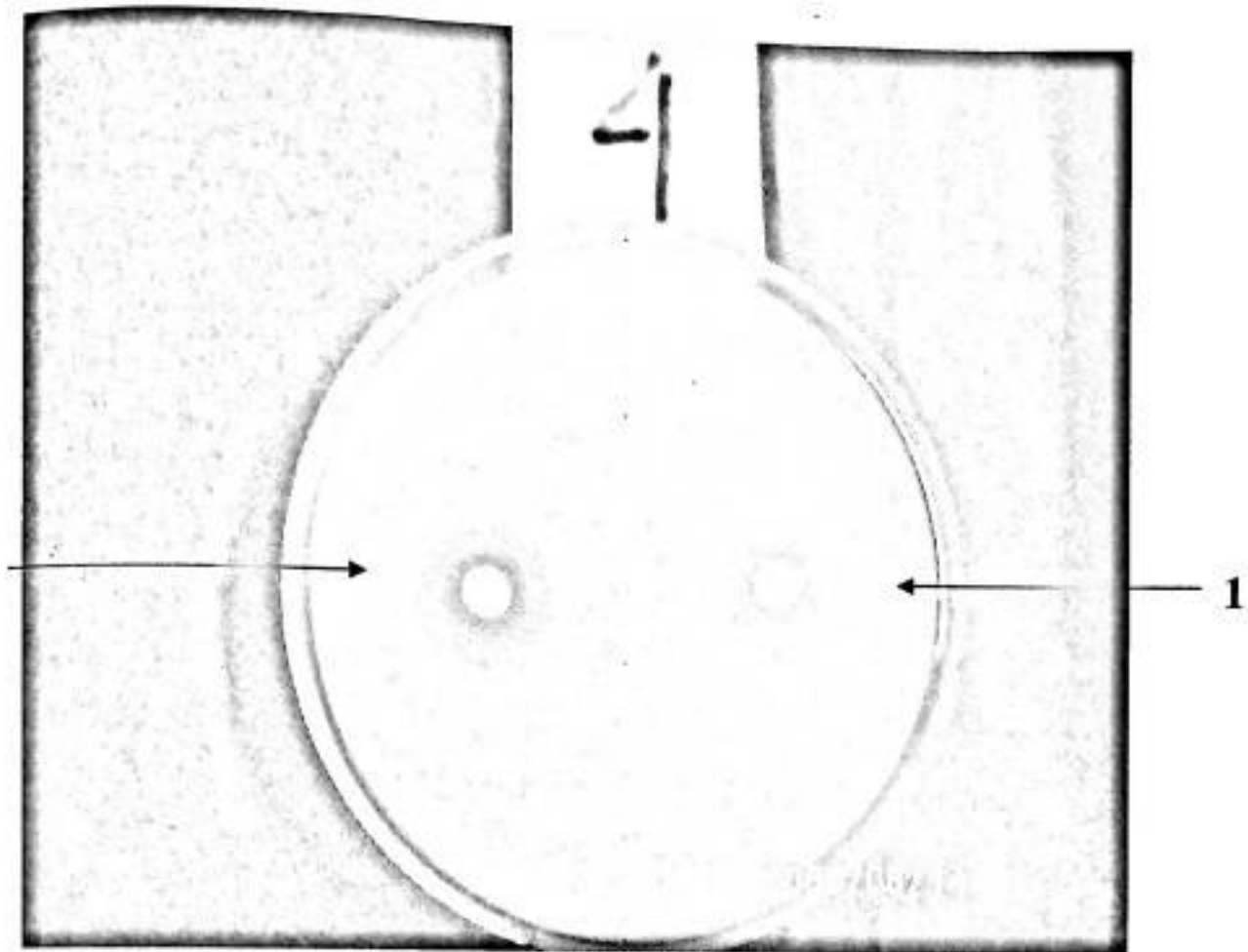
Gambar 2. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan : 1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar 1 mg/ml
2. Kontrol chloramphenicol



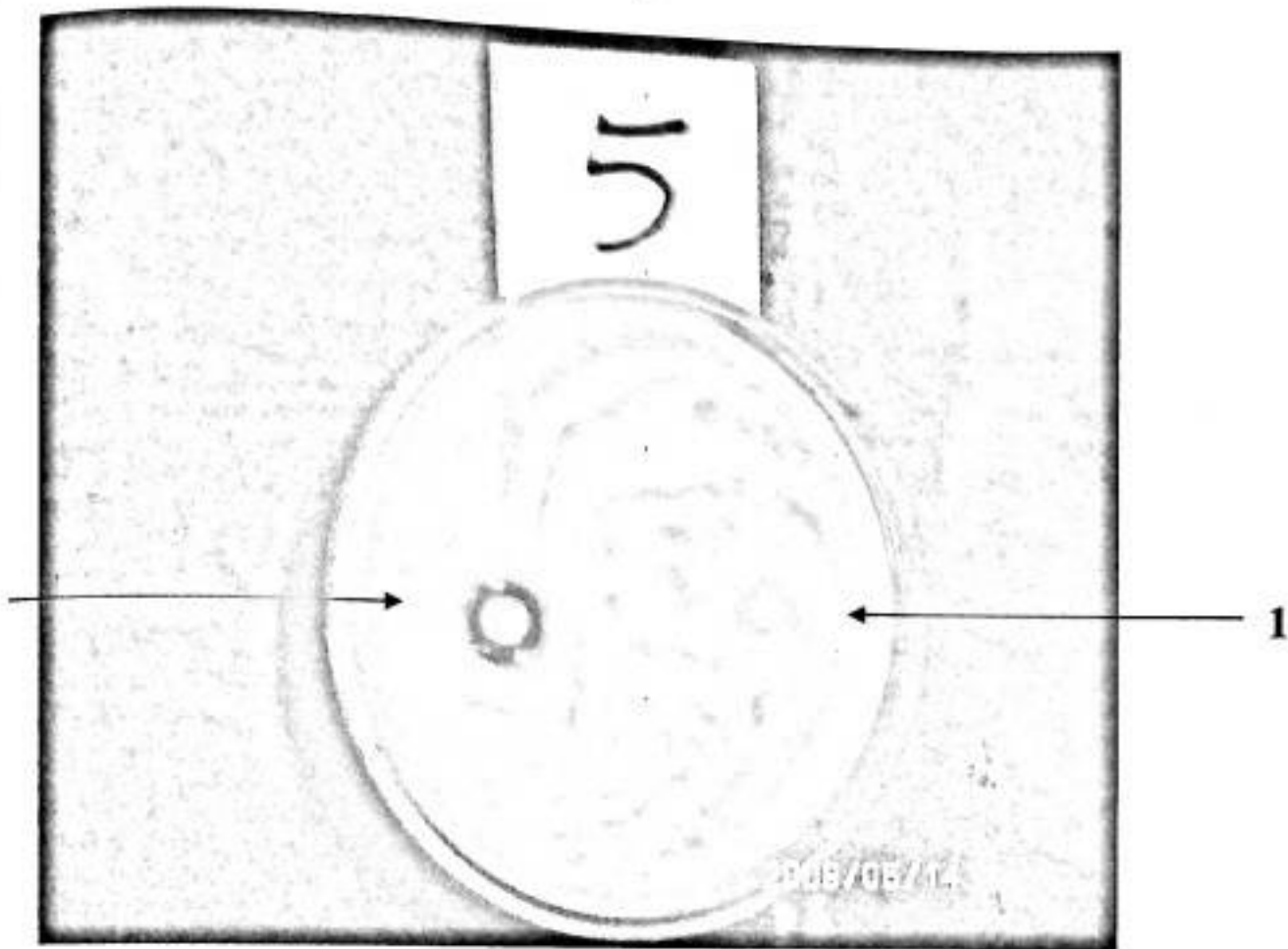
Gambar 3. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar Terhadap *E.coli*

Keterangan :
1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar 1 mg/ml
2. Kontrol chloramphenicol



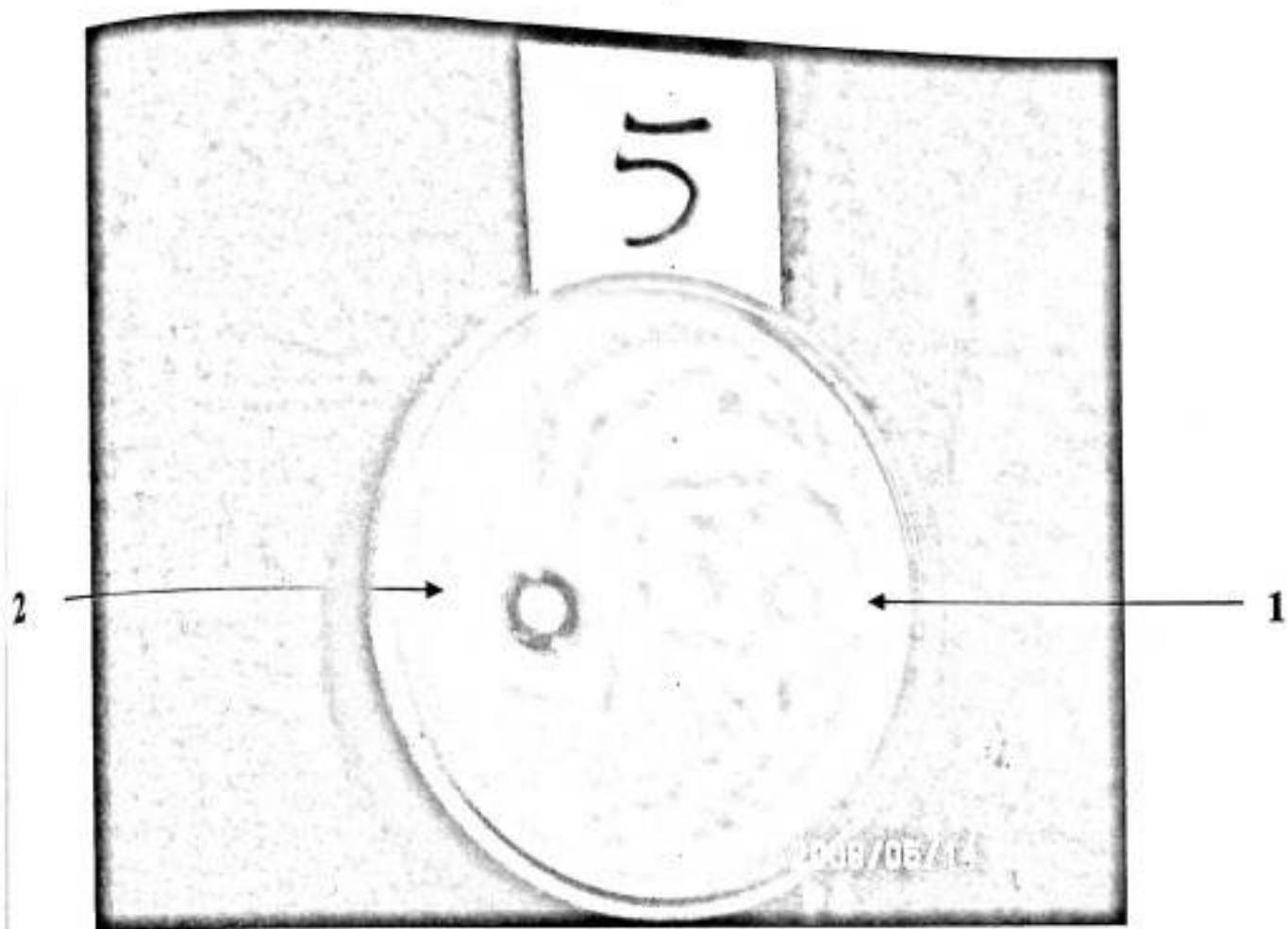
Gambar 4. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar terhadap *Asperigillus niger*

Keterangan :
1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar 1 mg/ml
2. Kontrol ketokonazol



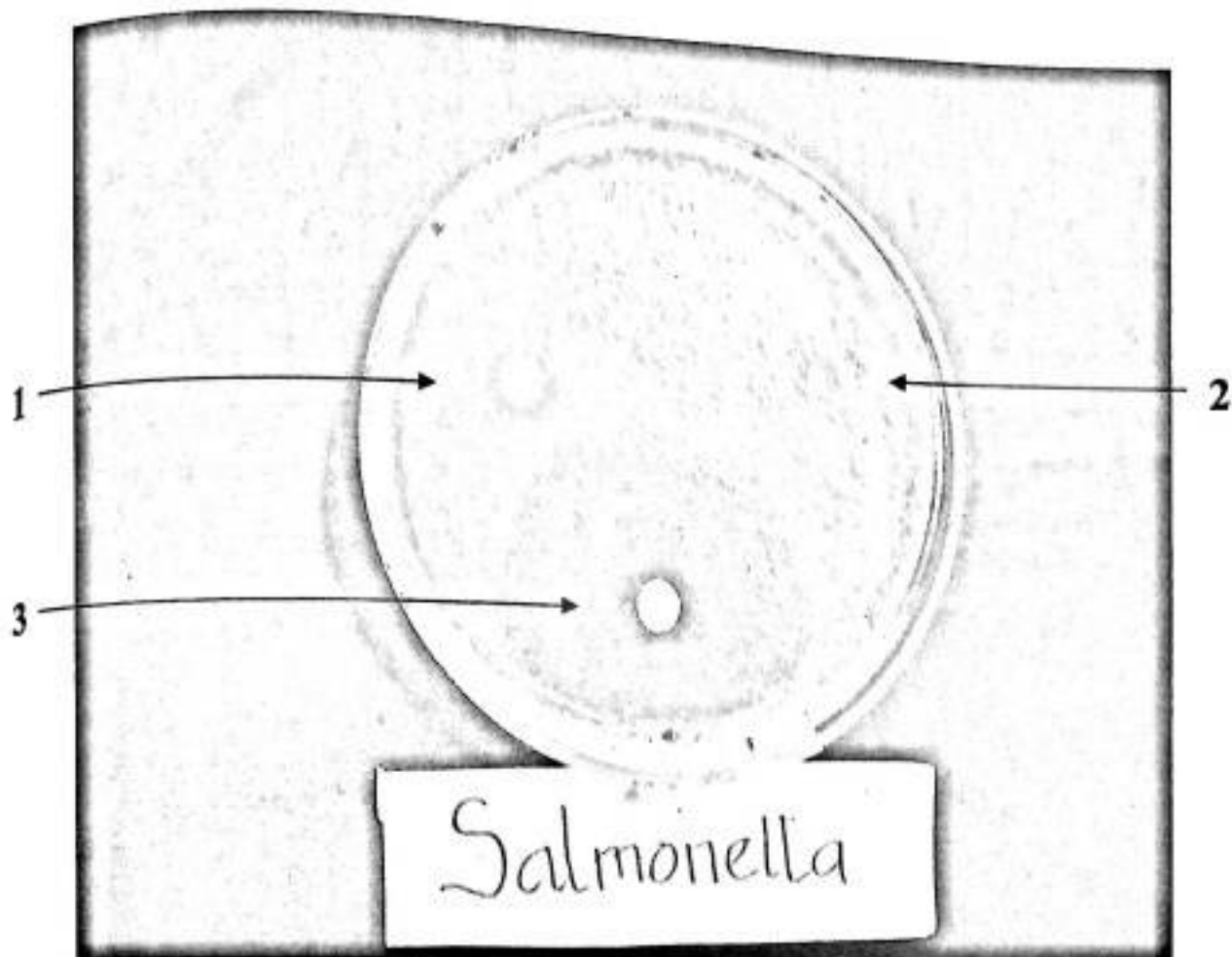
Gambar 5. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar terhadap *Candida albicans*

Keterangan : 1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar konsentrasi 1mg/ml
2. Kontrol Ketokonazol



Gambar 5. Foto skrining antimikroba ekstrak etanol daun Jarak pagar terhadap *Candida albicans*

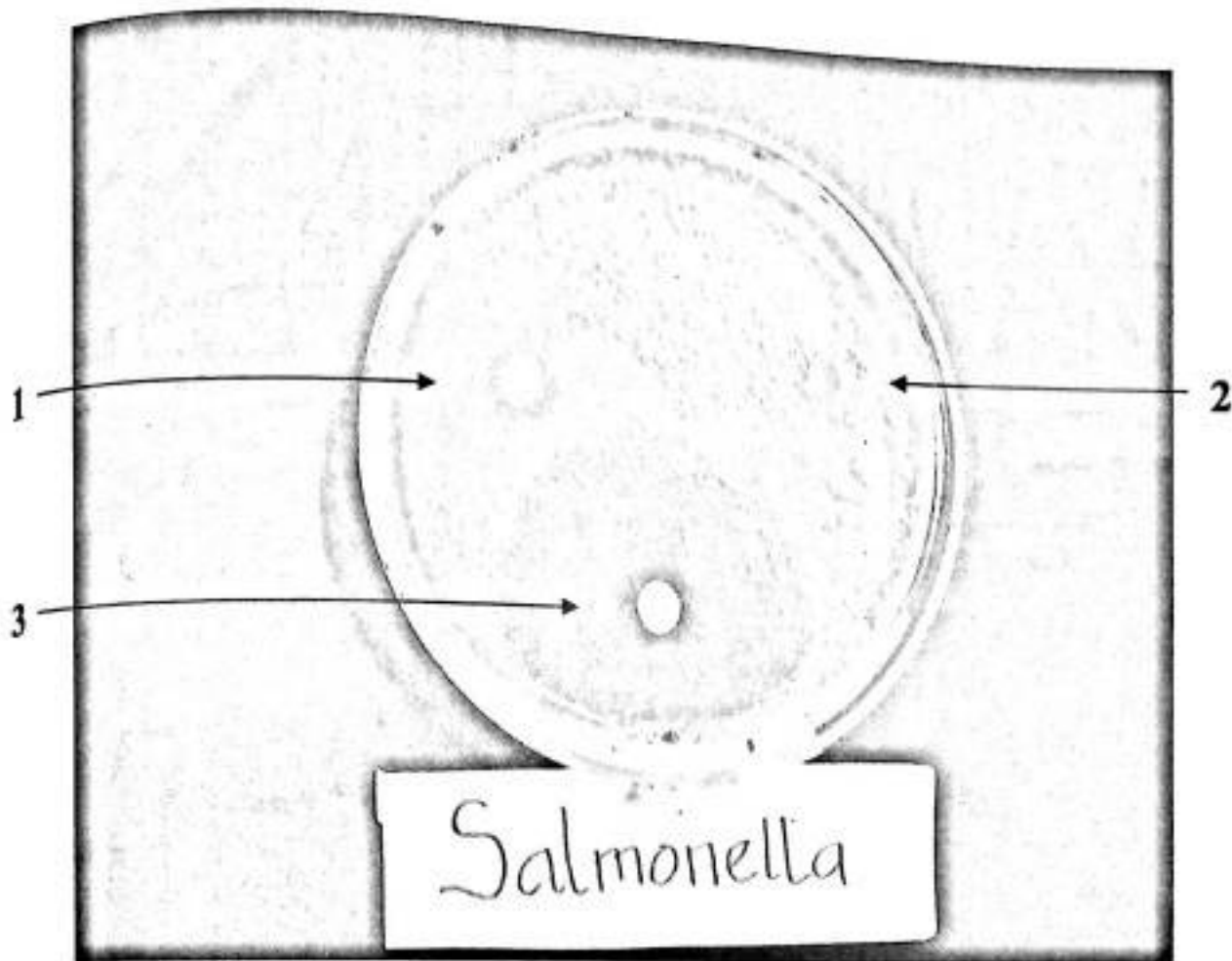
Keterangan : 1. Ekstrak etanol daun Jarak pagar konsentrasi 1mg/ml
2. Kontrol Ketokonazol



Gambar 6. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol daun Jarak pagar konsentrasi 50 mg/ml Terhadap *Salmonella typhi*

Keterangan :

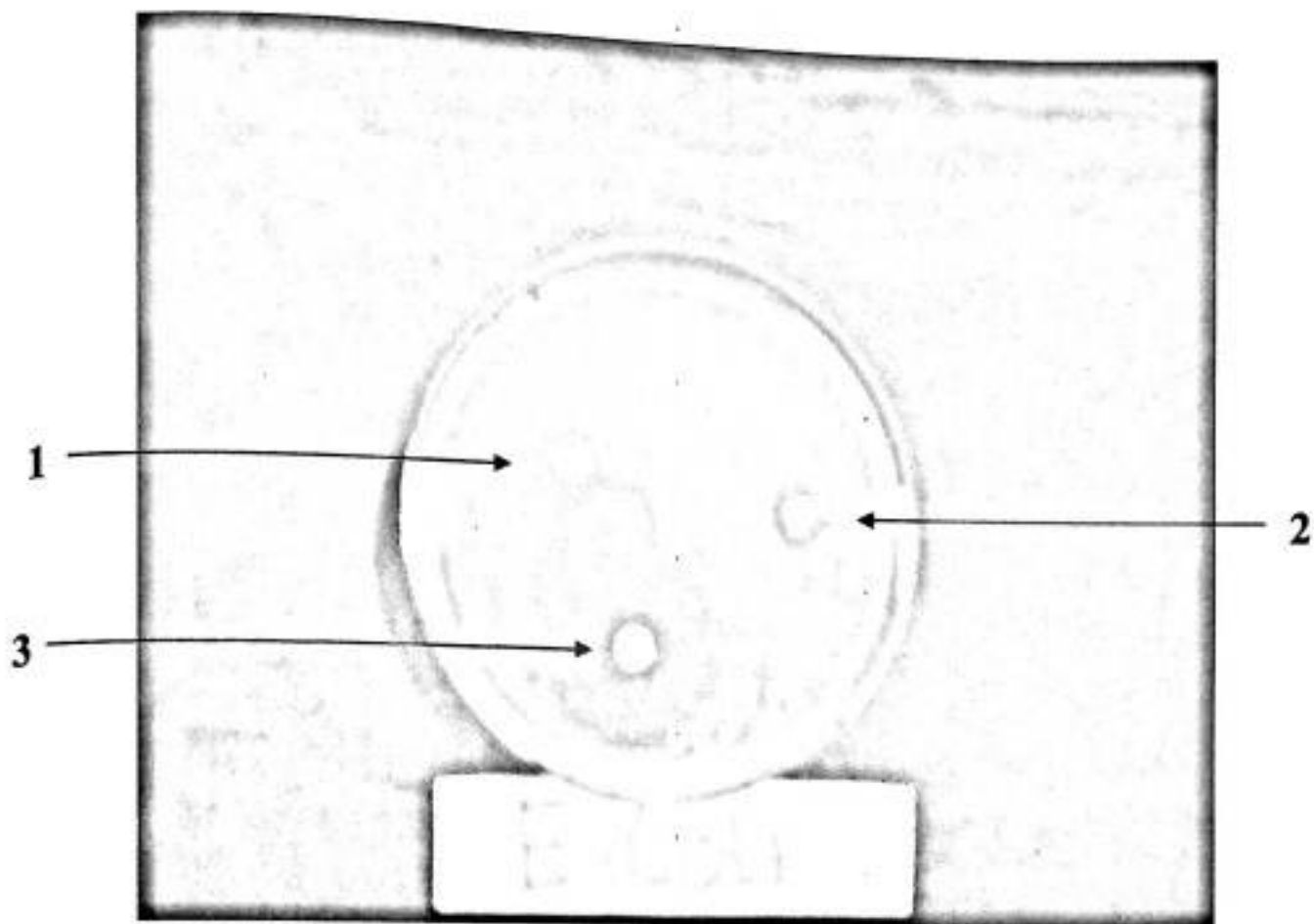
1. Ekstrak etanol larut etil asetat
2. Ekstrak etanol tidak larut etil asetat
3. Kontrol chloramphenicol



Gambar 6. Foto skringing hasil partisi ekstrak etanol daun Jarak pagar konsentrasi 50 mg/ml Terhadap *Salmonella typhi*

Keterangan :

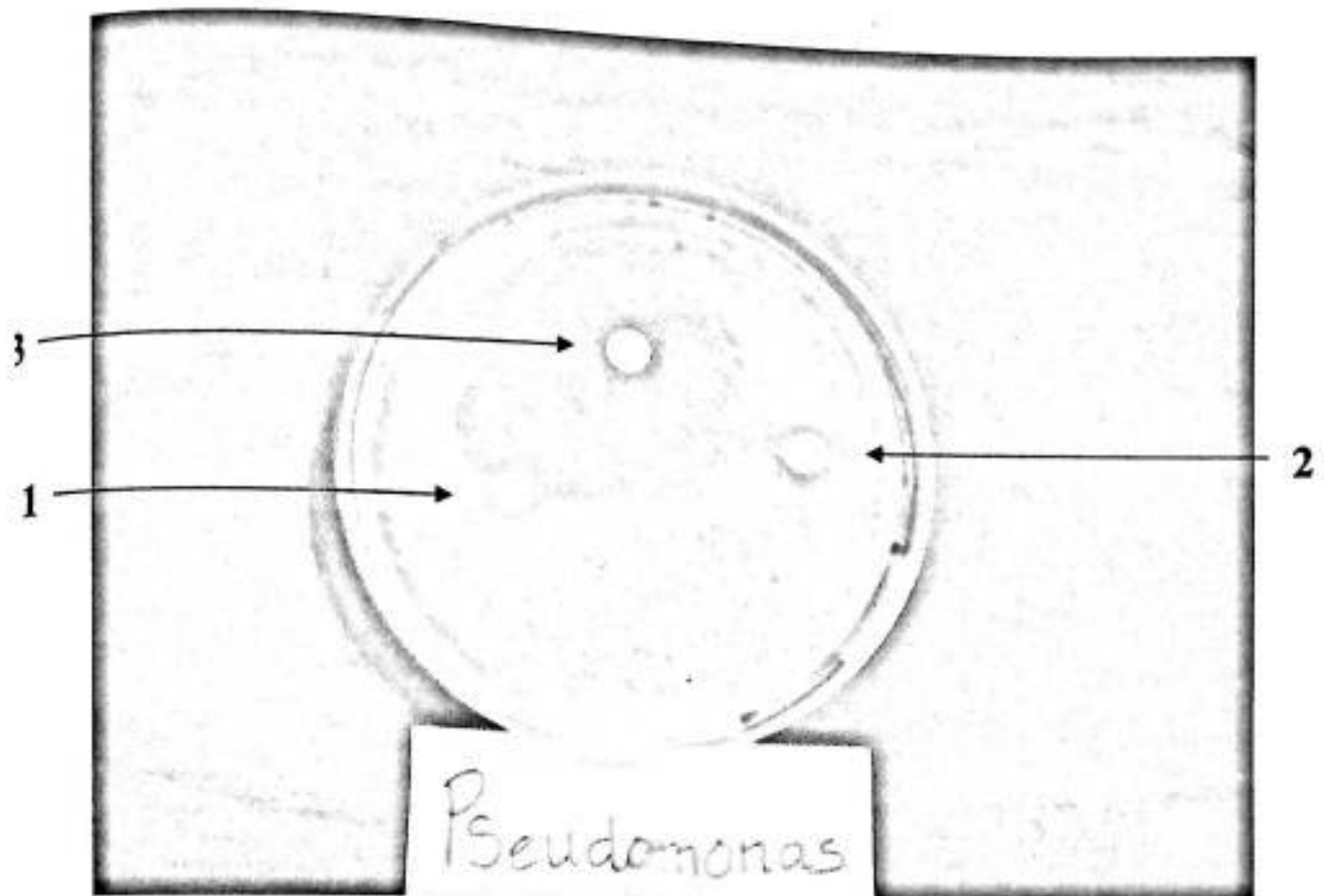
1. Ekstrak etanol larut etil asetat
2. Ekstrak etanol tidak larut etil asetat
3. Kontrol chloramphenicol



Gambar 7. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol konsentrasi 50 mg/ml terhadap *E.coli*

Keterangan :

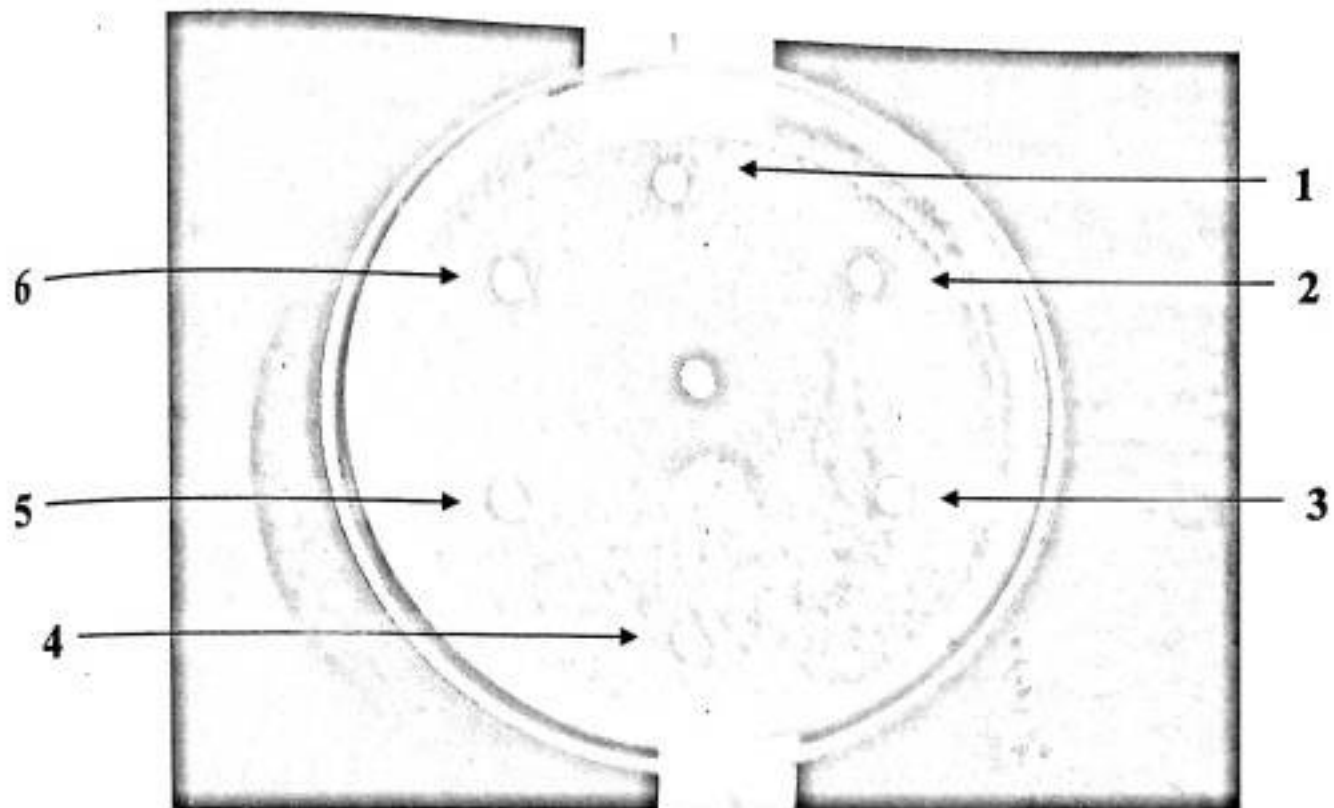
1. Ekstrak etanol larut etil asetat
2. Ekstrak etanol tidak larut etil asetat
3. Kontrol chloramphenicol



Gambar 8. Foto skrining hasil partisi ekstrak etanol Konsentrasi 50 mg/ml terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan

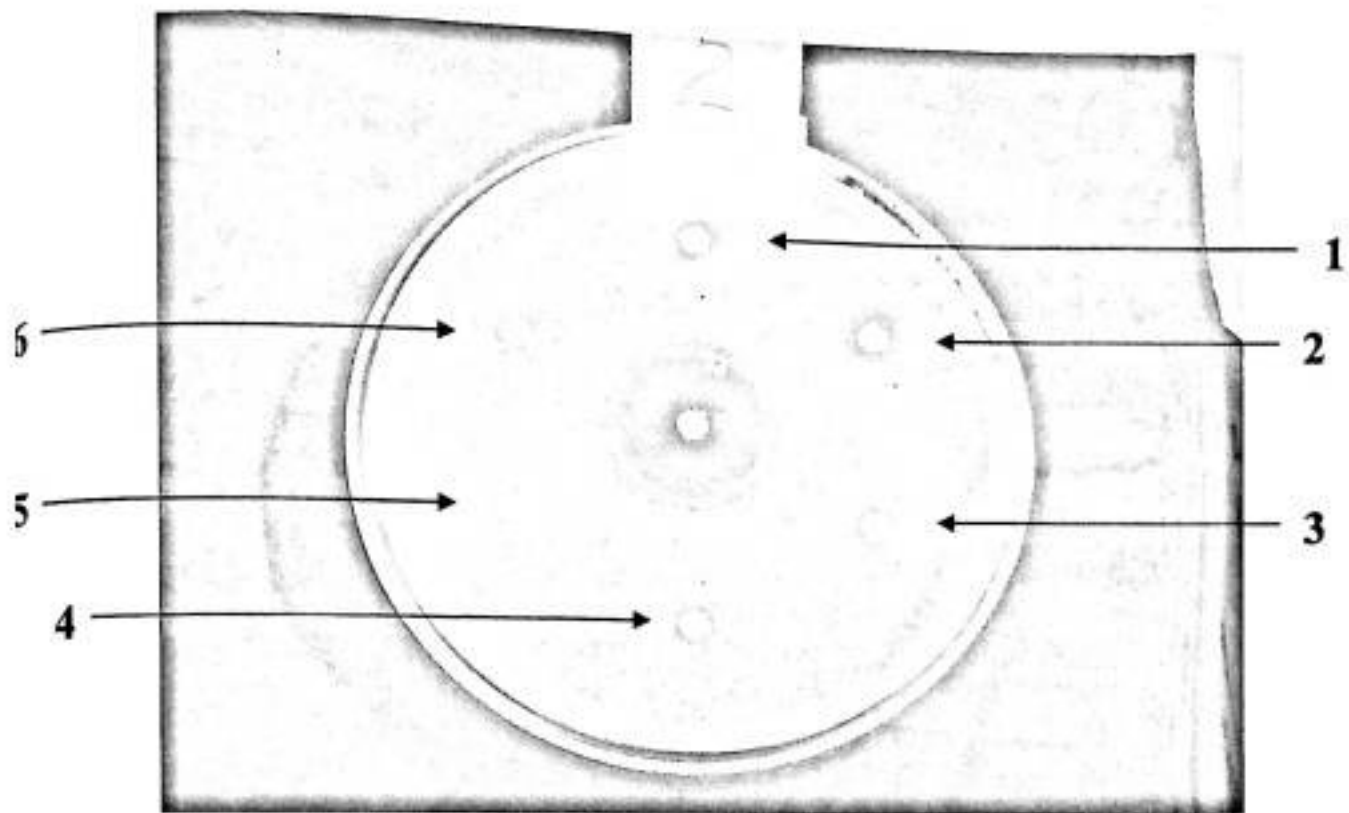
1. Ekstrak etanol larut etil asetat
2. Ekstrak etanol tidak larut etil asetat
3. Kontrol chloramphenicol



Gambar 9. Skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol larut etil asetat
Jarak pagar konsentrasi 3 mg/ml terhadap *Salmonella typhi*

Keterangan

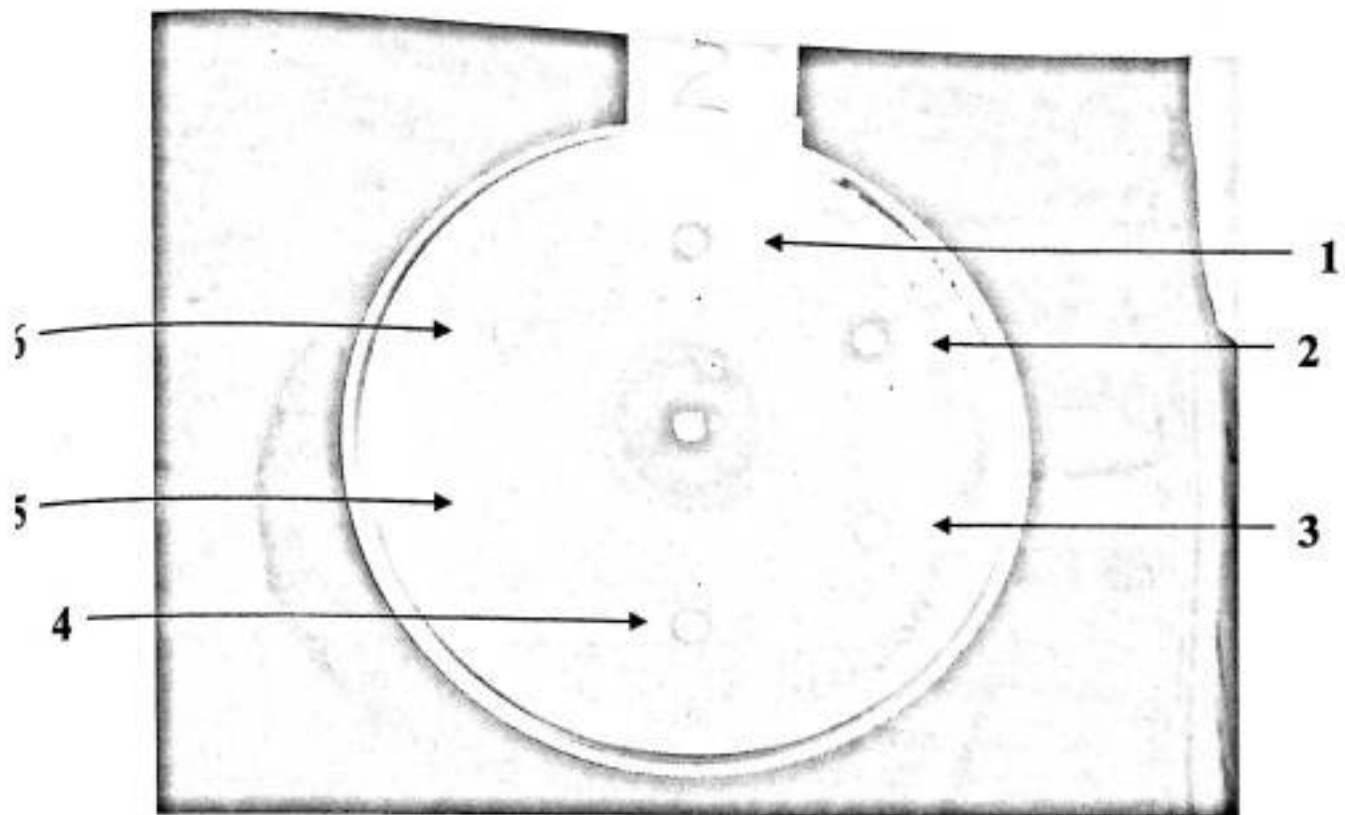
1. Fraksi I
2. Fraksi II
3. Fraksi III
4. Fraksi IV
5. Fraksi V
6. Fraksi VI



Gambar 10. Hasil skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol larut etil asetat
Jarak pagar konsentrasi 3 mg/ml terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan

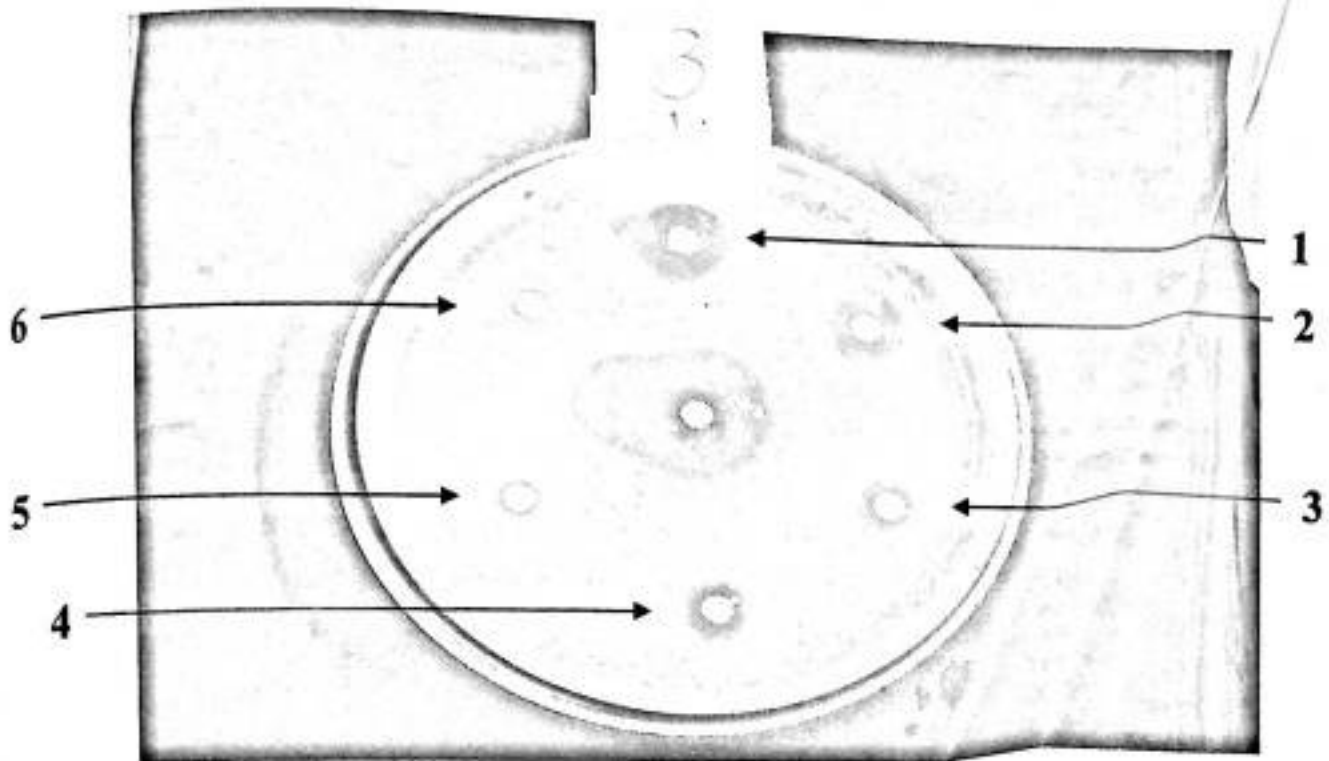
1. Fraksi I
2. Fraksi II
3. Fraksi III
4. Fraksi IV
5. Fraksi V
6. Fraksi VI



Gambar 10. Hasil skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol larut etil asetat
 Jarak pagar konsentrasi 3 mg/ml terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Keterangan

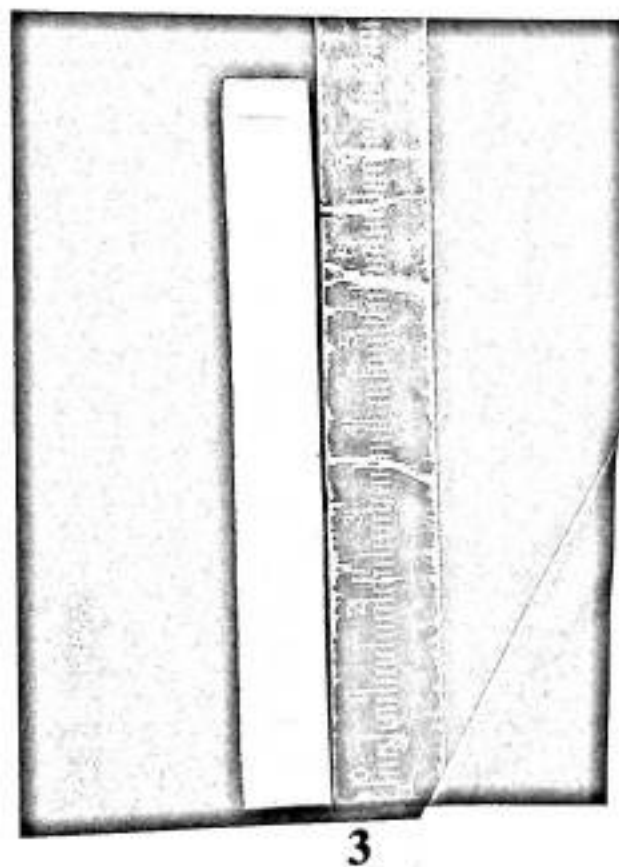
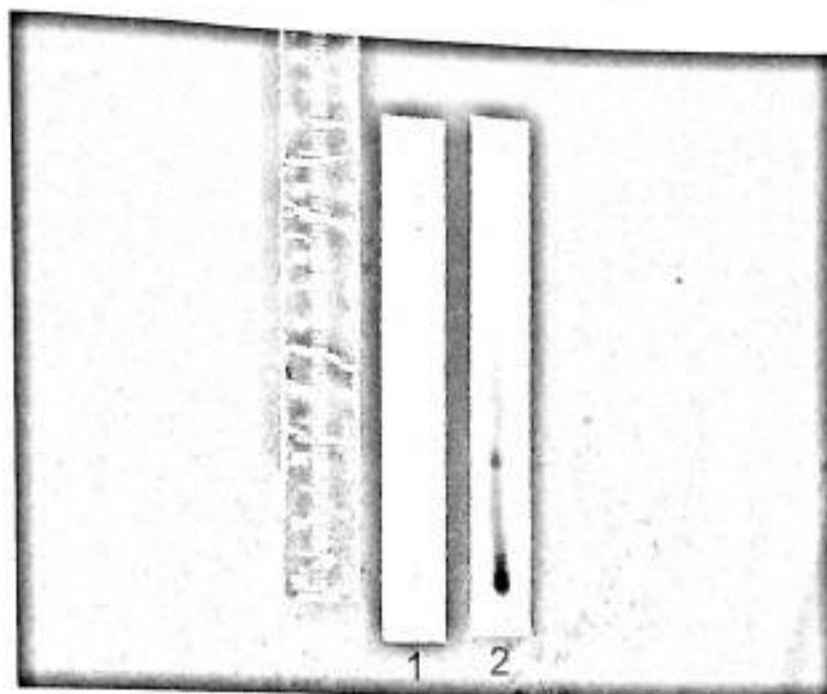
1. Fraksi I
2. Fraksi II
3. Fraksi III
4. Fraksi IV
5. Fraksi V
6. Fraksi VI



Gambar 11. Hasil skrining antimikroba hasil fraksinasi ekstrak etanol larut etil asetat daun jarak pagar konsentrasi 3 mg /ml terhadap *E.coli*

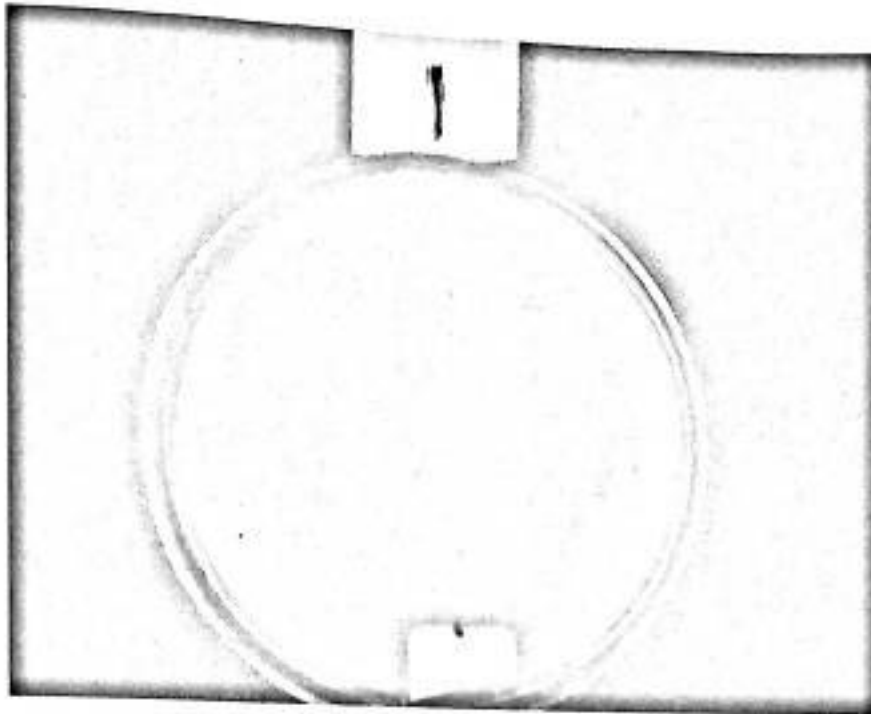
Keterangan

- 1.Fraksi I
- 2.Fraksi II
- 3.Fraksi III
- 4.Fraksi IV
- 5.Fraksi V
- 6.Fraksi VI

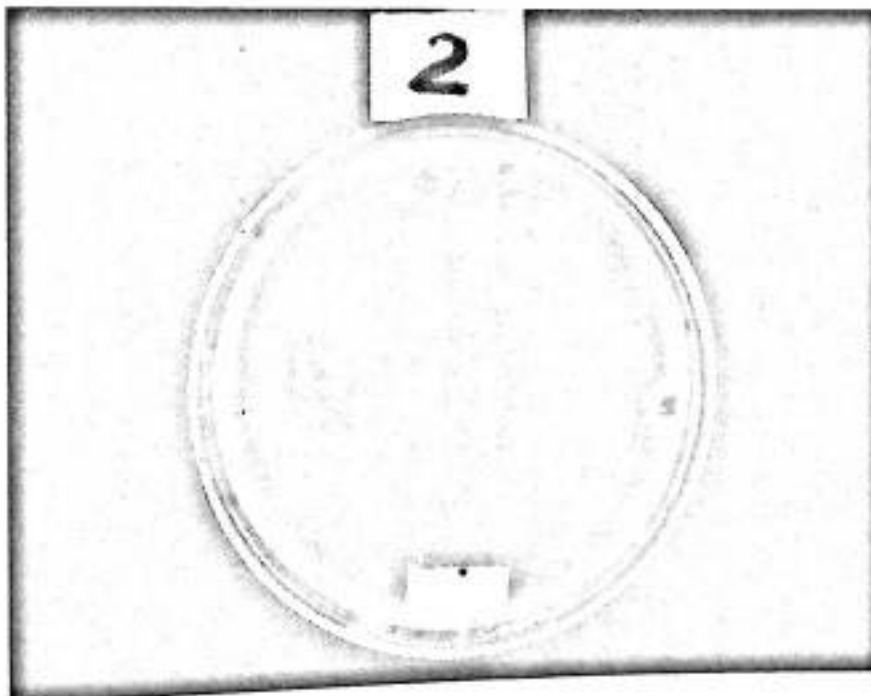


Gambar 12. Hasil Uji Identifikasi Fraksi I menggunakan eluen Heksan : Etil asetat 17 : 1

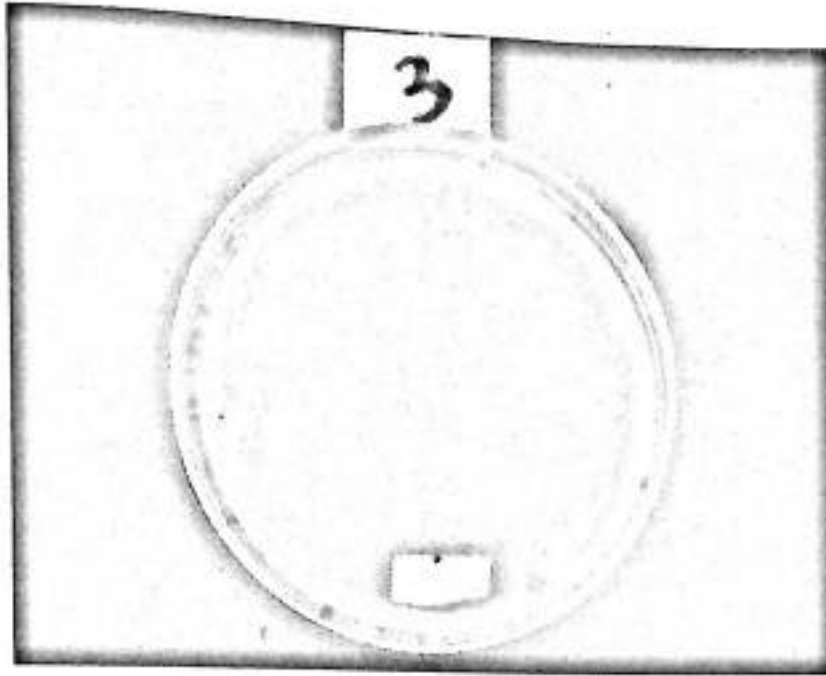
1. Menggunakan pereaksi Dragendorf
2. Menggunakan pereaksi Liebermann Bourchard
3. Menggunakan Pereaksi Sitroborat



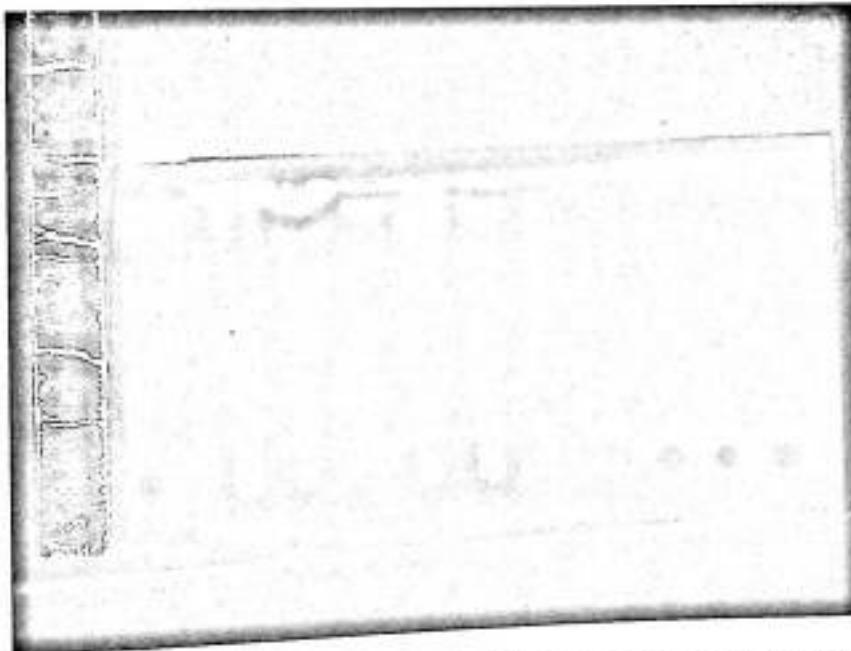
Gambar 13. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I menggunakan eluen heksan : etil asetat 17 : 1)) daun Jarak pagar terhadap *Salmonella typhi*



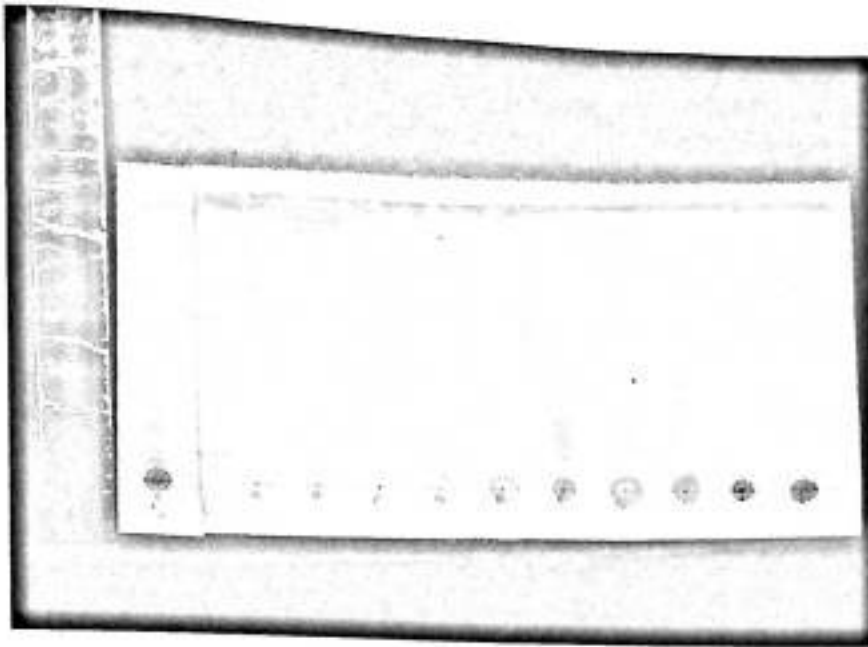
Gambar 14. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I menggunakan eluen heksan : etil asetat 17 : 1) daun Jarak pagar terhadap *Pseudomonas aeruginosa*



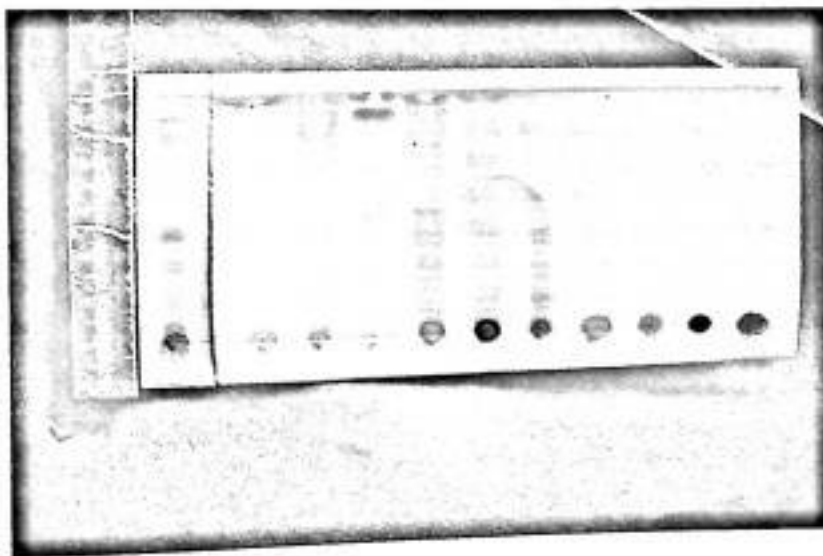
Gambar 15. Foto hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol larut etil asetat (Fraksi I menggunakan eluen heksan : etil asetat 17 : 1) daun Jarak pagar terhadap *Escherichia coli*



Gambar 16. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat (menggunakan eluen heksan : etil asetat 3 : 1) pada penampak bercak sinar UV 366 nm



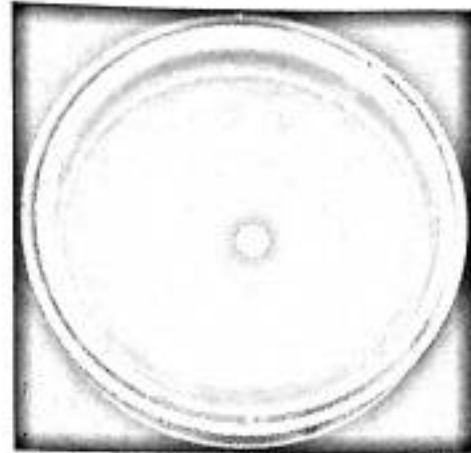
Gambar 17. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat (menggunakan eluen heksan : etil asetat 3 : 1) pada penampak bercak sinar UV 254 nm



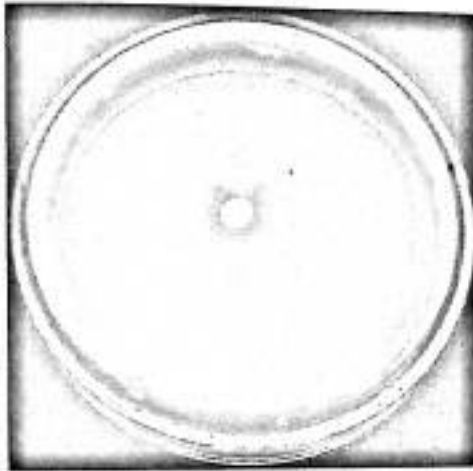
Gambar 18. Profil KLT hasil fraksinasi ekstrak etanol Jarak pagar larut etil asetat menggunakan eluen heksan : etil asetat 3 : 1 (setelah penyemprotan H₂SO₄ 10%)



Salmonella typhi



Pseudomonas aeruginosa



Escherichia coli

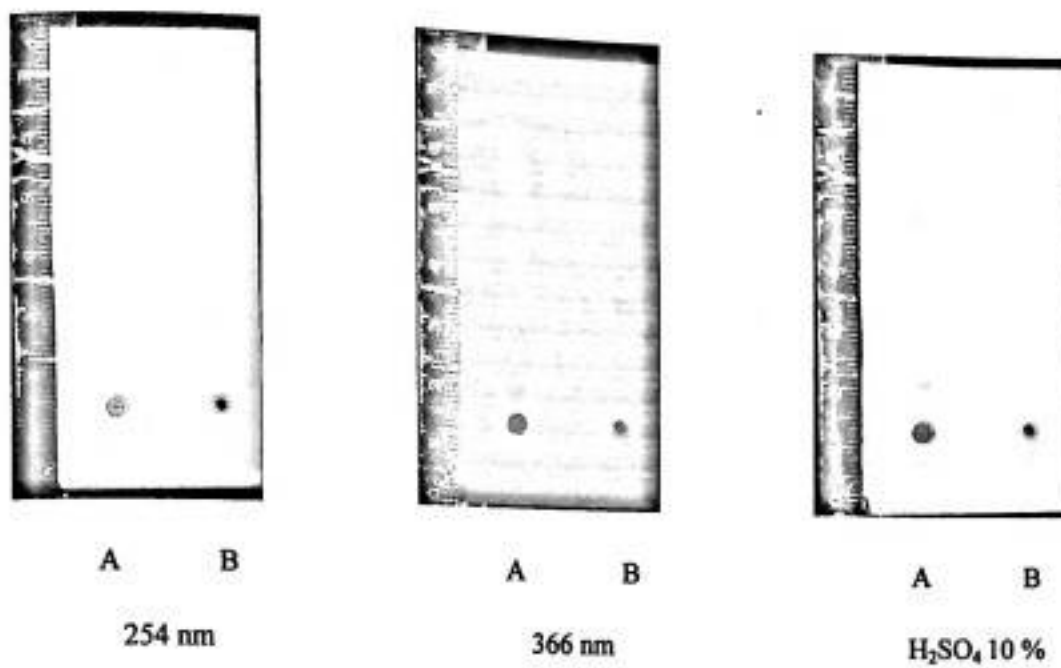


Candida albicans



Aspergillus niger

Gambar 19. Gambar kontrol negatif menggunakan disc chloramphenicol dan disc ketokonazol



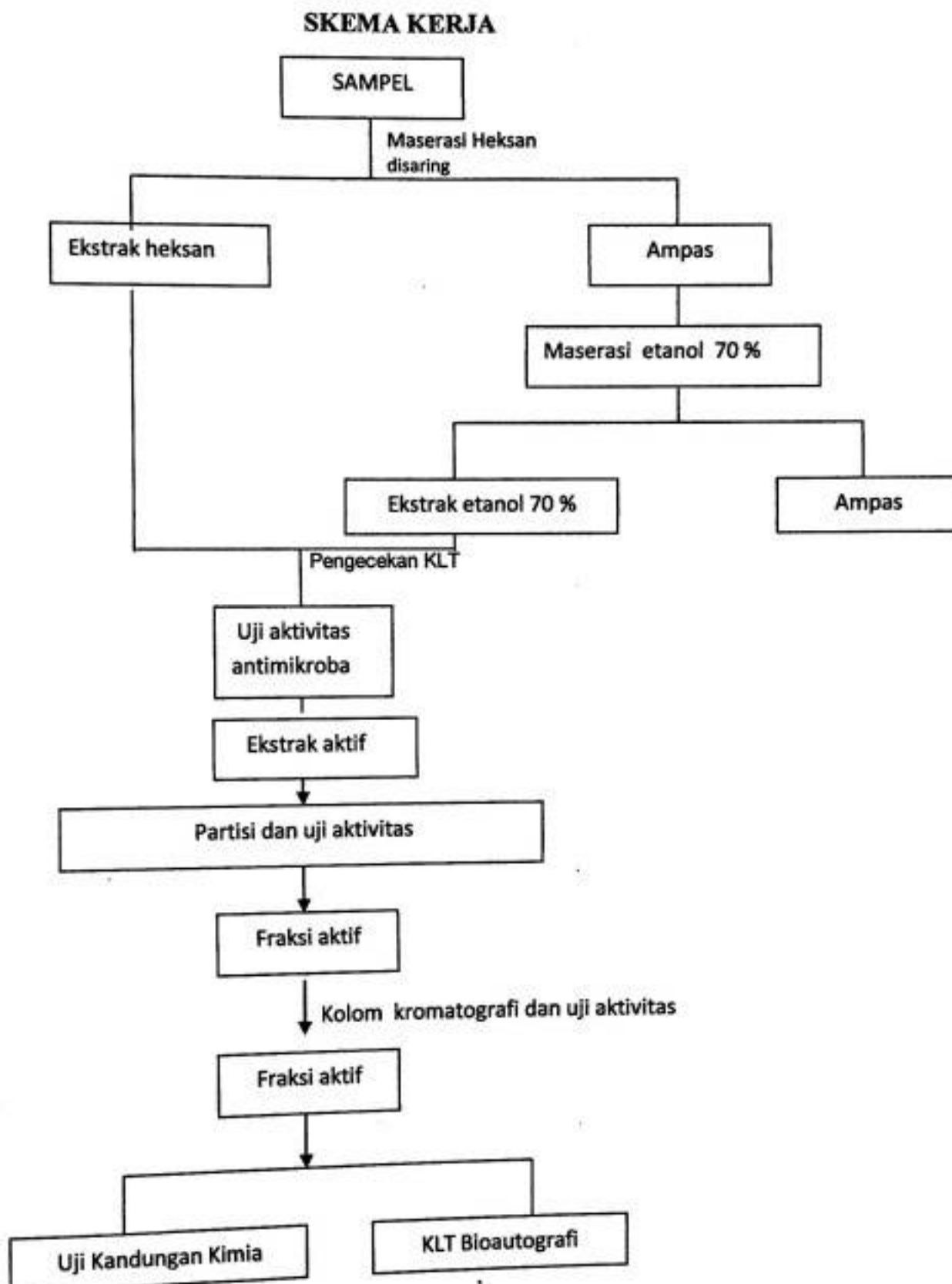
Gambar 20. Kromatogram ekstrak etanol hasil partisi etil asetat (menggunakan eluen heksan : Etil asetat 3 : 1)

Keterangan :

A. Ekstrak etanol larut etil asetat

B. Ekstrak etanol tidak larut etil asetat

Lampiran I
Skema kerja SKRINING, FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS
ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L)



Lampiran II. Foto Tanaman