

**SKRINING, FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
EKSTRAK DAUN KI HUJAN (*Samanea saman* Merr), ASAM KERANJI
(*Pithecellobium dulce* Benth), DAN JOHAR (*Cassia siamea* Lamk)
PADA BEBERAPA BAKTERI UJI**

**RAHMAD AKSA
N111 03 040**



PERUSTAKAN PUSAT UNIT HASANUDDIN	
Tgl. Terima	23 - 01 - 009
Ang. Denda	MLPA
Banyaknya	1 eksemplar
Harga	H
No. Inventaris	5
No. Klas	

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

**SKRINING, FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
EKSTRAK DAUN KI HUJAN (*Samanea saman* Merr), ASAM KERANJI
(*Pithecellobium dulce* Benth), DAN JOHAR (*Cassia siamea* Lamk)
PADA BEBERAPA BAKTERI UJI**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
Syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**RAHMAD AKSA
N111 03 040**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2008**

**SKRINING, FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA
EKSTRAK DAUN KI HUJAN (*Samanea saman* Merr), ASAM KERANJI
(*Pithecellobium dulce* Benth), DAN JOHAR (*Cassia siamea* Lamk)
PADA BEBERAPA BAKTERI UJI**

Oleh

RAHMAD AKSA

N111 03 040

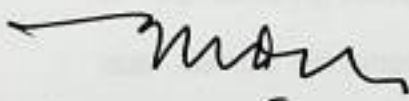
Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama,



**Dr. GEMINI ALAM, M.Si, Apt.
NIP. 131 916 413**

Pembimbing Pertama,



**Dr. M. NATSIR DJIDE, MS, Apt
NIP. 130 785 083**

Pembimbing Kedua,



**Dra. RAHMAWATI SYUKUR, M.Si, Apt
NIP. 131 012 988**

Pada Tanggal, Desember 2008

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dengan judul "Skrining, Fraksinasi dan uji Antimikroba terhadap ekstrak daun ki hujan (*Samanea saman* Merr), Asam keranji (*Pithecellobium dulce* Benth) dan Johar (*Cassia siamea* Lamk)" telah rampung atas limpahan Rahmat, Hidayah dan Tuntunan Allah SWT dimana penulis diberikan kesempatan dan kesehatan sehingga bisa menyelesaikan penyusunan skripsi ini, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana 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. Penasehat Akademik: Dra. Eva Firmina Sabu M.si, Apt
2. Pembimbing utama : Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt
3. Pembimbing pertama : Dr. M.Natsir Djide, M.S,Apt
4. 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, Firzan nainu, Nursalam Hamzah, Nursyamsu fajrin, Zuhajsyirah, Suparman, Ronald, Nadia, tika, susbandia Rahmawati, Para Laboran Fakultas Farmasi UNHAS, Teman – teman UKM Basket, Teman - teman PHARCO (Pharmacy Art Community) dan para pengurus BEM Fakultas Farmasi dan semua yang tak dapat kutuliskan namanya satu persatu

Keluarga besar penulis terutama Ayah, Ibu, saudara-saudaraku, Didi Cahyadi, Indra, Emi Eka puspita, Andika Pratama, Ayu Angelina, Syahrial, Eko priyadi, Syamsu, Rio, Farid, Amri terima kasih atas dukungan dan doanya slalu

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, Oktober 2008

Penulis

ABSTRAK

Skrining, fraksinasi dan uji aktivitas antimikroba ekstrak daun Ki hujan (*Samanea saman* Merr), daun Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), dan daun Johar (*Cassia siamea* Lamk) telah dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang menghambat aktivitas antimikroba pada bakteri uji. Sampel pertama-tama diekstraksi dengan n-heksan yang kemudian dilanjutkan dengan etanol 70 % sehingga diperoleh 6 ekstrak dan diuji aktifitas antimikrobanya terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol dan n heksan daun Ki hujan (*Samanea saman* Merr), daun Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), dan daun Johar (*Cassia siamea* Lamk) pada konsentrasi 1 mg/ml efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya ekstrak tersebut dipartisi dengan etil asetat dan diuji kembali pada 3 bakteri tersebut dan ekstrak etanol daun Johar tidak larut etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan terbaik terhadap bakteri uji. Ekstrak etanol daun Johar tidak larut etil asetat difraksinasi secara kromatografi cair vakum dengan tingkat kepolaran eluen yang dibuat bergradien yaitu heksan, etil asetat pada beberapa perbandingan. Hasil fraksinasi dibagi menjadi 4 fraksi dan fraksi III diuji KLT bioautografi menggunakan eluen heksan : etil asetat (1:2). Senyawa pada Rf 0,6 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, senyawa tersebut diidentifikasi sebagai senyawa golongan fenolik.

Kata kunci: Skrining, fraksinasi, antimikroba, Ki hujan (*Samanea saman* Merr), Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), dan Johar (*Cassia siamea* Lamk)

ABSTRACT

Screening, fractionation, and activity assay Of antimicrobial action from leaves of Ki hujan (*Samanea saman* Merr), Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), and Johar (*Cassia siamea* Lamk), had been done with purpose to know the active compound that can inhibit microbial activity. The sample was extracted by n-hexan and ethanol, therefore two kinds of extracts were derived and it activity was tested against *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. The ethanol extract at 1 mg/ml were found to be effective in inhibiting the development of *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. Further partition of Ki hujan (*Samanea saman* Merr), Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), and Johar (*Cassia siamea* Lamk) was conducted by using ethyl acetate and Johar. extract which non soluble in ethyl acetate was the most active fraction against all of tested bacteria. The Johar ethanol extract which non soluble in ethyl acetate then fractinationed by vacuum liquid chromatography which performed with gradiently by ethyl acetate end n-hexan (at variated comparison). The result of fraction was devided in 4 fraction and III (the active fraction) was analized by TLC-bioautography eluen n-hexan : ethyl acetate (1:2), and the compound on Rf 0,6 had the antimicrobial activity toward *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. It was identified as phenolic group.

Key words : Screening, fractionation, antimicrobial, Ki hujan (*Samanea saman* Merr), Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth), and Johar (*Cassia siamea* Lamk)

BAB I

PENDAHULUAN

Antimikroba merupakan zat untuk membasmi mikroba, khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia (mikroba patogen). Secara umum kerja antimikroba dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel mikroba. Kebutuhan antimikroba jenis baru saat ini meningkat karena antimikroba yang ada sekarang semakin berkurang efektivitasnya oleh karena banyak bakteri patogen yang sudah mulai resisten terhadap antibiotika yang digunakan saat ini. Tingginya kasus infeksi baik yang endemik maupun epidemik serta penggunaan obat-obat yang terus-menerus merupakan faktor-faktor yang diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi obat (1,2).

Fabaceae merupakan salah satu suku tumbuhan dikotil yang terbesar. Banyak tumbuhan budidaya termasuk dalam suku ini, dengan bermacam-macam kegunaan: antara lain sebagai bahan makanan, minuman, zat pewarna, bumbu masak, pupuk hijau, pakan ternak, hingga racun dihasilkan oleh anggota - anggotanya. Semua tumbuhan anggota suku ini memiliki satu kesamaan yaitu buahnya berupa polong (3). Beberapa tanaman dari famili Fabaceae telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antifungi dan antimikroba, seperti tanaman *Swartzia polyphylla* D.C mengandung senyawa calcona dan flavonon yang aktif sebagai antifungi. Selain itu, tanaman tersebut juga mengandung

senyawa biochanin A dan dihydrochanin A yang aktif sebagai antimikroba (4). Secara kemotaksonomi, tumbuhan dalam suku yang sama, mengandung senyawa-senyawa kimia dengan kerangka struktur sama sehingga berpotensi juga memiliki aktivitas biologis yang sama (5).

Penelitian-penelitian antimikroba dari bahan alami telah banyak dilakukan terutama dari berbagai jenis tanaman rempah-rempah. Namun para ilmuwan terus berusaha untuk mencari sumber antimikroba baru, terutama yang mudah tumbuh di Indonesia. Tumbuhan yang digunakan untuk obat tradisional dapat dijadikan alternatif pencarian zat antimikroba, contoh pada beberapa tanaman suku Fabaceae daun tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk.) yang banyak digunakan sebagai pengobatan alternative sudah banyak diteliti mengandung alkaloid yang berguna sebagai obat malaria (6). Daun Asam keranji (*Pithecellobium dulce*) mengandung saponin triterpen yang berguna sebagai antibakteri dan antifungi (7). Ekstrak etanol daun Ki hujan (*Samanea saman*) mengandung hentriacontane dan octacosanol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, daunnya juga biasa digunakan sebagai pencahar (8).

Dengan melihat uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melakukan skrining dan fraksinasi komponen kimia yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dari ekstrak beberapa tanaman famili Fabaceae seperti

Ki hujan (*Samanea saman*), Asam keranji (*Pithecellobium dulce*), dan Johar (*Cassia siamea*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1. Ki hujan (*Samanea saman* Merr)

a. Klasifikasi (9)

- Kingdom : Plantae
- Subdivision : Spermatophyta
- Division : Magnoliophyta
- Class : Magnoliopsida
- Subclass : Rosidae
- Order : Fabales
- Family : Fabaceae
- Genus : *Samanea*
- Species : *Samanea saman* Merr.

b. Nama Daerah(10)

Jawa : Ki hujan

Makassar : Merak

c. Morfologi

Pohon dengan batang yang pendek sudah bercabang; tinggi 10 – 25 m. Kayu sangat rapuh. Daun sempurna menyirip sempurna menyirip rangkap, panjang sampai 30 cm. Bongkol diketiak. Bunga bertangkai,

beraturan, berbilangan 5. Tabung mahkota berbentuk corong, panjang 1 cm. Polongan lurus atau bengkok sedikit, tidak bertangkai, tidak membuka boleh dikatakan tidak bercangap, panjang 15 – 20 cm. Dari amerika tropis, ditanam sebagai pohon peneduh; 1 – 1.800 m.(10)

d. Penggunaan

Daun digunakan sebagai pencahar dan dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*(8)

e. Kandungan Kimia

Daun tanaman Ki Hujan mengandung hentriacontan dan octacosanol (8).

II.1.2 Asam keranji (*Pithecellobium dulce*)

a. Klasifikasi (11)

Kingdom	: Plantae
Subdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Rosidae
Order	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Pithecellobium</i>
Species	: <i>Pithecellobium dulce</i> Benth.



b. Nama daerah (6)

Jawa : Asem londa/asam keranji

Makassar : Camba - camba

c. Morfologi

Tumbuhan ini merupakan pohon yang tingginya 5 – 15 m. merupakan tumbuhan asli Amerika yang dibawa di Jawa tengah oleh bangsa Portugis. Pada buah polongnya hampir berbentuk bulat torak, diantara biji terdapat lekuk – lekuk, panjang 6 – 12 cm dan lebar 9 – 12 cm; polongnya memiliki biji 1 – 10 yang berwarna hitam dengan daging biji berwarna putih. besar serta dapat dimakan (6)

d. Penggunaan

sebagai antibakteri dan antifungi (6)

e. Kandungan kimia

Daun asam keranji mengandung triterpen saponins, (7)

II.1.3 Johar (*Cassia siamea Lamk*)

a. Klasifikasi (12)

Kingdom : Plantae

Subdivision : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Subclass : Rosidae

Order : Fabales

Family : Fabaceae

Subfamily : Caesalpinioideae

Genus : *Cassia*.

Species : *Cassia siamea Lamk*

b. Nama daerah (6)

Jawa : Johar

Makassar : Kasia

c. Morfologi

Tumbuhan ini merupakan pohon, banyak dikenal, tumbuh cepat pada umumnya tinggi 10 sampai 15 m dan besar batang 40 sampai 50 cm, tumbuhan ini merupakan salah satu jenis pohon yang banyak dibudidayakan dipulau jawa pada ketinggian kurang dari 1000 m diatas permukaan laut. Merupakan tanaman asli India serta disumatera sekitar khatulistiwa (6)

d. Penggunaan

Daun tanaman johar digunakan sebagai obat Antimalaria(6)

e. Kandungan Kimia

Daun tanaman johar mengandung alkaloid (13)

II.2 Uraian Mikroba

II.2.1 Mikroba Uji Yang Digunakan :

1. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Procaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Bangsa : Enterobacteriaceae

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Escherichia

Jenis : *Escherichia coli*

b. Sifat dan Morfologi

Berbentuk batang lurus, berukuran 1,1-1,5 x 2,0-6,0 μm , terdapat dalam bentuk berpasangan atau tunggal, Gram negatif, non motil, fakultatif anaerobik dan kemoorganotropik. Memiliki metabolisme tipe fermentatif dan respirasi. Suhu optimum 37°C. D-glukosa dan karbohidrat lainnya dikatabolis dengan membentuk asam dan gas. Mengandung enterotoksin dan atau faktor-faktor virulen lainnya, termasuk faktor-faktor perpindahan dan faktor kolonisasi, menyebabkan diare. *Escherichia coli* juga penyebab utama infeksi saluran kencing dan nosokomial termasuk septemia dan meningitis (15).

2. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Procaryotae

Divisi : Firmicutes

Kelas : Firmibacteria

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Micrococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus aureus*

b. Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, bergaris tengah 0,5 -1,5 μm , terdapat bergerombol seperti buah anggur, satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, tidak tahan asam, di atas pembenihan padat berupa koloni bulat dengan diameter 1-2 mm, sedikit cembung, amorf dan tidak transparan. Biasanya terdapat di atas permukaan kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bermanah, infeksi luka, radang paru-paru dan selaput lendir lainnya, dapat tumbuh pada suhu 10-45⁰ C, suhu pertumbuhan optimum 37⁰ C, pada pH 7,0-7,5 (15).

3. *Salmonella thypi*

a. Klasifikasi (14)

Kerajaan : Procaryotae

Divisi : Protophyta

Kelas : Schyzomycetes

Bangsa : Enterobacteriales

Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Salmonella

Jenis : *Salmonella thypi*

b. Sifat dan Morfologi

Bakteri Gram negatif berbentuk batang, tidak berspora, ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , 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 H₂S dan tidak membentuk gas pada suhu 56°C juga pada keadaan kering, dalam air bisa bertahan selama 4 minggu.

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

Candida albicans merupakan khamir yang berbentuk lonjong, berukuran 3-6 µm, bertunas yang menghasilkan Pseudo mysellium baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. *Candida albicans* anggota flora normal selaput lendir, saluran pencernaan, saluran pernafasan dan genitalia wanita. Pada sediaan mikroskopik tampak sebagai ragi lonjong, bertunas yang memanjang menyerupai hifa. Pada medium agar yang dieramkan pada suhu kamar berbentuk koloni berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. *Candida albicans* dapat meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan gas,

menghasilkan asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa.(14,16).

5. *Aspergillus niger*

a. Klasifikasi (17)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Emycetes

Kelas : Ascomycetes

Bangsa : Endomycetes

Suku : Euroticeae

Marga : *Aspergillus*

Jenis : *Aspergillus niger*

b. Morfologi

Konidia yang tidak bercabang muncul dari sel kaki dan berakhir sebagai vesikel yang menyebabkan munculnya sterigma berbentuk botol. Rantai-rantai konidia terbentuk pada sterigmata sekunder (cabang-cabang sterigmata primer). Pada beberapa spesies kepala sporanya berbentuk bola, pada spesies-spesies lain penataan sterigmatanya memberikan penampilan seperti kipas atau silinder, beberapa spesies menghasilkan askospora. Bila dibentuk, ada 8 askospora berbentuk bundar seperti lonjong di dalam setiap askus. Askus-askus tersebut tertata secara tidak beraturan di seluruh peritesium. Sporanya berwarna-warni dan karena itulah kapang ini mempunyai warna yang khas (17).

II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat hewan atau beberapa jenis ikan dengan menggunakan metode dan pelarut tertentu (18).

II.3.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi secara umum, disesuaikan dengan 4 situasi (19):

1. Senyawa kimia telah diketahui identitasnya untuk diekstraksi dari organisme diekstraksi dengan dibuat modifikasi yang sesuai untuk mengembangkan proses atau menyesuaikannya dengan kebutuhan pemakai.
2. Bahan diperiksa untuk menemukan kelompok senyawa kimia tertentu, misalnya alkaloid, flavonoid, atau saponin meskipun struktur kimia sebetulnya dari senyawa ini, bahkan keberadaannya belum diketahui. Dimana, metode umum yang digunakan untuk senyawa kimia yang diminati dapat diperoleh dari pustaka. Hal ini dikuti dengan uji kimia atau kromatografik yang sesuai untuk kelompok senyawa kimia tersebut.
3. Organisme (tanaman atau hewan) digunakan dalam pengobatan Cina (Traditional Chinese Medicine / TCM) seringkali membutuhkan herba yang dididihkan dalam air untuk diberikan sebagai obat. Proses ini harus ditiru sedekat mungkin jika ekstrak akan melalui kajian ilmiah biologi atau kimia lebih lanjut, khususnya jika tujuannya untuk memvalidasi penggunaan tradisional.

4. Sifat senyawa yang akan diisolasi belum ditentukan sebelumnya dengan cara apapun. Situasi ini (utamanya dalam program skrining) dapat timbul jika tujuannya adalah untuk menguji organisme, baik yang dipilih secara acak atau didasarkan pada penggunaan tradisional untuk mengetahui adanya senyawa dengan aktivitas biologis khusus. Oleh karena itu perlu pemilihan metode ekstraksi yang sesuai dengan bioassay dan juga mencoba mengekstraksi sebanyak mungkin tipe senyawa kimia. Secara umum hal ini dicapai dengan menggunakan serangkaian pelarut, tetapi jumlah pelarut yang digunakan harus dibatasi oleh skala program skrining. Jika hanya sedikit organisme yang diuji dapat dibuat berbagai jenis ekstrak dari tiap sampel, sedangkan dalam program skrining skala besar yang mencakup ribuan organisme, hanya satu atau dua ekstrak (biasanya dengan polaritas berbeda) yang dibuat dari masing-masing sampel.

II.3.3 Metode Ekstraksi

Cara ekstraksi atau penyarian bahan berkhasiat dari bahan alam (simplisia) pada dasarnya dibagi atas 2 bagian besar yaitu cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi serta cara panas meliputi refluks, sokletasi, destilasi uap air.

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi 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 dan karena adanya

perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (18).

Cairan penyari yang dapat digunakan berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

II.4.Tinjauan Umum Antimikroba

II.4.1 Pengertian Antimikroba

Antimikroba adalah zat untuk membasmi mikroba, khususnya mikroba yang bersifat merugikan manusia (mikroba patogen). Secara umum kerja antimikroba dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel mikroba (1). Dalam hal membasmi mikroba masih dikenal berbagai istilah lain, yaitu (16) :

- a. Antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi yang dapat menghambat atau membasmi mikroba jenis lain.
- b. Antiseptika adalah suatu substansi yang melawan infeksi (sepsis) atau mencegah pertumbuhan atau kerja mikroorganisme dengan cara

menghancurkan mereka atau menghambat pertumbuhan serta aktivitasnya pada jaringan hidup.

- c. Desinfektansi adalah suatu bahan, biasanya zat kimia yang mematikan sel vegetatif tetapi belum tentu mematikan bentuk-bentuk spora mikroorganisme penyebab penyakit.
- d. Sanitizer adalah senyawa kimia yang digunakan untuk mengurangi jumlah mikroba yang mengkontaminasi ke suatu tingkat yang dinilai aman dan biasanya digunakan pada benda mati.

II.5 Uraian Umum Bakteri

Sifat-sifat bakteri antara lain ada yang hidup parasit, saprofit ataupun bersifat patogen pada manusia, hewan dan tumbuh-tumbuhan. Habitat bakteri tersebar luas di alam, di dalam tanah, di udara, di tempat-tempat tertentu seperti pada sedimen laut, di dalam tubuh manusia, hewan dan tumbuh-tumbuhan dan jumlah bakteri tergantung dari keadaan sekitar (14).

Bakteri merupakan mikroba uniseluler, yang termasuk kelas Schyzomycetes, pada umumnya bakteri tidak mempunyai klorofil. Tetapi ada beberapa yang fotosintetik. Ukuran bakteri bervariasi tergantung pada spesiesnya dan fase pertumbuhannya. Pada umumnya mempunyai ukuran antara 0,2-2,0 μm (14).

Berdasarkan bentuk morfologisnya bakteri dapat digolongkan kokus dan golongan spiral. Bakteri berkembangbiak dengan cara vegetatif dan aseksual. Pemiakan ini berlangsung sangat cepat jika keadaan

sekelilingnya memungkinkan seperti pH, suhu, dan komposisi medium itu sendiri. Produksi aseksualnya secara transversal atau biner (20).

II.6 Uraian Umum Khamir

Khamir merupakan salah satu jenis fungi yang biasanya uniseluler. Khamir bersifat fakultatif, artinya mereka dapat hidup baik dalam keadaan aerobik maupun keadaan anaerobik. Pada umumnya sel khamir lebih besar kebanyakan bakteri, tetapi khamir yang paling kecil tidak sebesar bakteri yang besar. Khamir sangat beragam ukurannya, berkisar antara 1 sampai 5 μm lebarnya dan panjangnya dari 5 sampai 30 μm atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung pada umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengkapi flagellum atau organ-organ penggerak lainnya (14,16).

II.7 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme Kerja Utama Antimikroba (1)

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino parabenzoat (PABA) menang bersaing dengan asam para amino benzoat (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Untuk dapat bekerja,

dihidrofolat harus diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat. Contoh obat yaitu sulfonamida, trimetoprin, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

2. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

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

Antimikroba ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Contohnya basitrasin, sefalosporin, sikloserin, penisilin, vankomisin.

3. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan menghambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba akan mati.

Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel akan rusak. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol sitoplasma pada jamur, dan merusak membran sel bakteri Gram negatif. Contohnya amfoterisin β , kolistin, imidasol, triazol, polien, polimiksin.

4. Penghambatan terhadap sintesis protein

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

Antimikroba mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menerjemahkan tanda m-RNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contohnya aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, linkomisin.

5. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat total pada sel.

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total dalam sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA, dependen RNA polimerasi bakteri, memblokir helix DNA.

Contohnya Quinolon, pyrimethamin, rifampisin, sulfonamide, trimetoprim, metotrexat.

6. Penghambatan proses biosintesis sel dan mencegah mitosis

Senyawa pengalkilasi (senyawa reaktif yang dapat mengalkilasi DNA, RNA, dan enzim-enzim tertentu) membentuk senyawa kationik antara yang tidak stabil, diikuti pemecahan cincin membentuk ion karbonium reaktif. Ion ini bereaksi melalui reaksi alkilasi, membentuk ikatan kovalen dengan gugus-gugus donor elektron, seperti gugus-gugus karboksilat, amin, fosfat, dan tiol, yang terdapat pada struktur asam amino, asam nukleat, dan protein, yang sangat dibutuhkan untuk biosintesis sel. Reaksi ini membentuk hubungan melintang (cross-linking) antara dua rangkaian DNA dan mencegah mitosis.

II.8 Pengujian Secara Mikrobiologis

Walaupun pada umumnya pengujian dilakukan terhadap kebanyakan antibiotika, namun sebenarnya cara ini dapat dipakai untuk bahan-bahan lain yang diduga mempunyai daya hambat atau membunuh pertumbuhan mikroba. Secara umum dapat dilakukan dengan dua cara (20,21):

1. Cara difusi (penyerapan)

Pada metode ini kemampuan antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang terjadi.

a. Cara difusi dengan lempeng-silinder

Cara ini berdasarkan difusi antibiotik dari silinder yang dipasang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri atau lempeng, sehingga mikroba yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau "zona" di sekeliling silinder yang berisi larutan antibiotik.

b. Cara difusi dengan kertas saring

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

Cara difusi ini telah direkomendasikan oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) dan International Collaborative Study (ICS) and regulations, yang dimodifikasi oleh Bauer, Kirby, Sherris dan Turch.

Keuntungan dari cara ini adalah prosedurnya sederhana (mudah dan praktis), dapat menggunakan beberapa jenis antibiotik untuk satu jenis strain patogen yang dites. Hanya saja konsentrasi obat telah ditentukan masing-masing oleh pabriknya, pada setiap kertas cakram (paper disk).

2. Cara dilusi / pengenceran

Penghambatan pertumbuhan (berkurangnya kekeruhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroba dapat diukur dengan alat spektrofotometer. Prinsip kerjanya yaitu energi cahaya yang mengenai zat-zat mikroorganisme di dalam sampel suspensi mikroba akan dihamburkan sedangkan cahaya yang diteruskan diubah oleh tabung fotoelektrik menjadi energi listrik yang dicatat oleh galvanometer sebagai persen transmittan (%T). Semakin sedikit jumlah sel di dalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos dan makin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

Potensi antimikroba dapat diketahui dengan melihat kekeruhan yang terjadi akibat dari pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi tertentu, dan dapat diketahui konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji tersebut MIC (*Minimum Inhibitory concentration*).

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

II.9 Metode Pemisahan

II.9.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan, tapi dapat juga merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dan udara. Keuntungan dari metode ini peralatan yang sedikit, murah, sederhana, waktu analisis cepat dan daya pisah cukup baik. (22)

Fase gerak dapat berupa pelarut murni atau campuran pelarut organik (yang kepolarannya tidak berbeda jauh) agar diperoleh kepolaran yang diinginkan atau tepat untuk pemisahan tertentu. KLT biasanya dilakukan dengan cara pengembangan naik di dalam suatu bejana yang dindingnya dilapisi kertas saring sehingga atmosfer di dalam bejana jenuh dengan fase pelarut (23).

Nilai ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Nilai R_f didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak yang ditempuh pelarut pengembang.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal sampai noda yang terbentuk}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh larutan pengembang dari titik asal sampai batas atas}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai R_f adalah (24):

- a. struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. sifat dari penyerap (adsorben) dan derajat aktivitasnya
- c. tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- d. pelarut sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya
- e. kejenuhan dari uap dalam chamber
- f. jumlah cuplikan yang digunakan

Kelebihan yang nyata dari KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, ketajaman pemisahan dan kepekannya yang tinggi, pemakaian pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit.

II.9.2 KLT- Bioautografi

Bioautografi adalah metode untuk menemukan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktivitas antimikroba pada kromatogram. Metode ini didasarkan pada efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, antitumor, antiviral) dari substansi yang telah diteliti (25).

Bioautografi dibagi 3 kelompok yaitu (26) :

- a. Bioautografi langsung, dimana mikroorganisme tumbuh secara langsung di atas 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 sesuai.

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

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Lempeng kromatografi ini ditempatkan di atas permukaan medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme. Setelah 15-30 menit lempeng kromatografi dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari kromatogram ke dalam medium agar akan menghambat

pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi, hingga noda yang menghambat tampak pada permukaan.

c. Bioautografi pencelupan, dimana medium agar yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng kromatografi lapis tipis.

Dalam metode ini lempeng kromatografi yang dielusi diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaan ditutupi oleh medium agar yang berfungsi sebagai 'based 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 prosedur yang dikemukakan di atas masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Menurut Horman dan Fuchs (1998), 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 (1998) menyatakan bioautografi secara langsung, untuk aktivitas antibakteri sangat sensitif dan melokalisir 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

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

III.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah Labu Erlenmeyer (*Pyrex*), mikropipet (*Memmert*), neraca analitik (*Sartorius*), oven, seperangkat alat rotavapor (*Buchii*), bejana maserasi, chamber, eksikator, gelas ukur, labu alas bulat, otoklaf, LAF (Laminar Air Flow), Vortex, sentrifus (*Hetich*), timbangan analitik (*sartorius*), Magnetik stirer (*Nouva II Stryrer*), Oven listrik (*Memet*), cawan petri, lampu spiritus, spoit, inkubator aerob, spektrofotometer UV (*Hewlett Packard*), penangas air, lampu UV 254 dan 366 nm, timbangan Kasar (*O' Hauss*), Paper disk (*oxid*)

III.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel : daun Ki hujan (*Samanea saman*), Asam keranji (*Pithecellobium dulce*), Johar (*Cassia siamea*), Pereaksi semprot : asam sulfat 10%, FeCl_3 , Dragendorff, Sitroborat; pelarut organik : heksan, 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%, aquadest, kloramfenikol kapsul dan ketokonazole tablet, biakan mumi : *Escherichia*

coli, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi farmasi.

III.2. Pengambilan dan Penyiapan Sampel Penelitian

Sampel diambil di lingkungan kampus Universitas Hasanuddin Tamalanrea Makassar. Sampel daun Ki hujan (*Samanea saman*), daun Asam keranji (*Pithecellobium dulce*), dan daun Johar (*Cassia siamea*) diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, dan dikeringanginkan lalu dipotong-potong kecil.

III.3. Ekstraksi Sampel

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 300 g kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi, cairan pengekstraksi berupa n-hexan dimasukkan ke dalam bejana hingga 2 ml diatas sampel dan disimpan selama 3 hari. Campuran kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut n-hexan. Proses penyarian dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil maserasi dikumpulkan kemudian diuapkan dengan cara dikeringanginkan sehingga diperoleh ekstrak heksan, lalu ampasnya diangin-anginkan sampai kering. Ampas rotavapor selanjutnya dimaserasi lagi dengan etanol 70% selama 3 hari dengan tiga kali penyarian. Hasil maserasi lalu diuapkan dengan rotavapor, hingga diperoleh ekstrak etanol 70%. Kedua jenis ekstrak tersebut lalu dimasukkan dalam eksikator.

III.4. Partisi dengan Etil Asetat

Sebanyak 10 gram ekstrak etanol kering daun Johar, daun Ki hujan dan daun Asam Keranji dipartisi menggunakan pelarut etil asetat

sebanyak 150 ml. Kemudian diaduk dengan magnetik stirer dan filtrat disentrifus sehingga terpisah dari endapan yang tidak larut. Kemudian 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 (1:1). Selanjutnya dilakukan skrining antimikroba.

III.5 Fraksinasi

Ekstrak aktif (ekstrak etanol daun Johar tidak larut etil asetat) difraksinasi secara kromatografi cair vakum menggunakan eluen n-hexan: etil asetat dengan perbandingan (25:1,15:1,10:1,5:1,3:1,1:1,1:5) dan etil asetat - metanol (10:1,5:1,1:1). Fraksi-fraksi yang diperoleh dimonitor profil KLTnya menggunakan eluen Hexan - etil asetat (1:1). Fraksi dengan profil KLT yang sama digabung dan diperoleh 4 fraksi (fraksi I, II, III, IV). Keempat fraksi tersebut lalu diuji aktivitas antimikrobanya.

III.6. Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba

III.6.1 Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan, khususnya alat-alat yang terbuat dari kaca antara lain : botol pengencer, cawan petri, tabung reaksi, vial, serta paper disk yang telah dimasukkan dalam suatu cawan petri lalu disterilkan di dalam oven 180°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 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. 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. 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 aquades sebanyak 1 L sehingga semua bahan larut. Untuk melarutkan bahan tersebut dilakukan pemanasan sampai semua bahan larut. Disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.6.3. Peremajaan Kultur Murni Mikroba

Bakteri uji berupa *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, 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

dengan cara menggoreskan pada medium PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 x 24 jam.

III.6.4 Pembuatan Suspensi Mikroba

Bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*, yang telah diremajakan disuspensikan dengan NaCl 0,9% steril sedikit demi sedikit pada bakteri uji dan diukur dengan Spektrofotometer sampai didapat transmittan 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 sedikit demi sedikit pada jamur uji dan diukur dengan Spektrofotometer sampai didapat transmittan 75% yang diukur pada panjang gelombang 580 nm menggunakan spektrofotometer.

III.6.5 Skrining Aktivitas Antimikroba

Ekstrak etanol 70% ketiga tanaman ditimbang 10 mg lalu dilarutkan dengan Dimetilsulfoksida (DMSO). Campuran tersebut diteteskan di atas paper disk standar sedikit demi sedikit sambil dihairdryer agar pelarutnya menguap. Medium NA 10 ml dituang ke dalam cawan petri lalu dibiarkan memadat. Setelah medium memadat paper disk dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi medium dengan menggunakan pinset. Untuk kontrol positif bakteri digunakan kloramfenikol dan untuk jamur digunakan ketokonazol. Sedangkan kontrol negatif menggunakan medium saja. Lalu

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 72 jam pada suhu kamar untuk jamur.

Hal yang sama juga dilakukan pada ekstrak heksan. Lalu diamati ekstrak yang memiliki aktivitasnya terhadap mikroba, yang ditandai dengan tidak adanya atau sedikitnya pertumbuhan mikroba pada daerah sekeliling paper disk.

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif (+) bakteri dan ketokonazol sebagai kontrol positif (+) jamur, kontrol negatif (-) dibuat dengan menumbuhkan bakteri atau jamur dalam media saja.

III.7. KLT-Bioautografi

Suspensi bakteri dimasukkan dalam cawan petri sebanyak 1 ml lalu medium Nutrient Agar (NA) steril yang telah didinginkan sebanyak 15 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dilakukan secara aseptis. Setelah medium agak memadat, lempeng KLT yang telah dielusi dengan eluen heksan - etil asetat (1:2) 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.

III.8. Identifikasi Komponen Kimia

III.8.1 Identifikasi Komponen Kimia

- Uji Kromatografi Lapis Tipis (27)

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 (1:2) 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 sebagai berikut :

- FeCl_3 , positif fenolik jika terjadi perubahan warna noda menjadi hijau kehitaman
- Pereaksi sitroborat, lalu kromatogram dimasukkan dalam oven pada suhu 100°C selama 5-10 menit lalu diamati warna noda yang tampak. Positif flavonoid jika terjadi perubahan warna pada noda menjadi kuning.
- pereaksi 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.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil

IV.1.1 Skrining Antimikroba Ekstrak

Ekstrak Heksan dan Etanol pada sampel daun Ki hujan 14 gram, daun asam keranji 15 gram dan daun Johar 12 gram diskruining aktivitas antimikrobanya dengan metode difusi yang menggunakan paper disk. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semua ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji namun ekstrak yang menghambat pertumbuhan jamur tidak ada, Ekstrak yang paling aktif terhadap penghambatan bakteri adalah ekstrak etanol Ki hujan dan ekstrak n-heksan Asam keranji, (lihat pada tabel 1 gambar 1-3).

IV.1.2 Skrining Antimikroba Hasil Partisi

Keenam ekstrak dipartisi dengan menggunakan etil asetat sehingga diperoleh 12 ekstrak hasil partisi yaitu ekstrak etanol Ki hujan, Asam keranji, Johar yang larut dan tidak larut etil asetat, serta ekstrak heksan Ki hujan, Asam keranji, Johar yang larut dan tidak larut dalam etil asetat. Dilakukan uji antimikroba pada kedua belas ekstrak tersebut, dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol johar yang tidak larut etil asetat memiliki penghambatan yang paling baik terhadap bakteri uji (lihat pada tabel 2 dan gambar 4-12).

IV.1.3 Uji Antimikroba Fraksi

Ekstrak etanol daun Johar tidak larut etil asetat difraksinasi secara kromatografi cair vakum dan diperoleh 4 fraksi gabungan (fraksi I, fraksi II, fraksi III, dan fraksi IV), keempat fraksi tersebut diuji efek antimikrobanya dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi III yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri uji (lihat pada tabel 3 dan gambar 13 - 15).

IV.1.4 KLT-Bioautografi

Fraksi III di KLT-bioautografi dan diperoleh hasil bahwa bercak dengan nilai Rf 0,6 pada kromatogram memiliki aktivitas antimikroba (lihat pada gambar 16-18).

Bercak dengan nilai Rf 0,6 pada kromatogram disemprot dengan FeCl_3 dan terjadi perubahan warna bercak pada kromatogram menjadi hijau kehitaman, hal ini menunjukkan bahwa bercak dengan nilai Rf 0,6 mengandung fenolik. Dengan sitroborat tidak terjadi perubahan warna bercak menjadi kuning muda, hal ini menunjukkan bahwa bercak tersebut tidak mengandung senyawa flavonoid, Begitupun pada penyemprotan dengan dragendorf tidak terjadi perubahan apa - apa (lihat pada gambar 19).

IV.2 Pembahasan

Daun Ki hujan (*Samanea saman*), Asam keranji (*Pithecellobium dulce*), dan Johar (*Cassia siamea*) diekstraksi secara maserasi hal ini merupakan jenis ekstraksi yang sesuai dengan tekstur ketiga tanaman yang lunak, khususnya pada bagian daun serta dapat mencegah kerusakan komponen - komponen kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Sampel dimaserasi dengan menggunakan n-heksan terlebih dahulu kemudian dimaserasi kembali dengan etanol 70%, agar komponen kimia dapat terpisah dengan baik yang mana komponen yang bersifat non polar dapat tersari pada heksan dan komponen kimia yang bersifat polar dapat tersari pada etanol 70%. Hal ini dilakukan agar mempermudah skrining senyawa aktif antimikroba pada ketiga sampel tersebut.

Skrining aktivitas antimikroba keenam ekstrak (ekstrak heksan dan etanol daun Ki hujan, daun Asam keranji, daun Johar) dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan paper disk pada bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, serta jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Hasil skrining antimikroba menunjukkan bahwa keenam ekstrak pada konsentrasi 1 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan semua bakteri sehingga dikategorikan aktif sebagai antimikroba (dapat dilihat pada Tabel I gambar 1-3). Pada uji selanjutnya hanya dilakukan fraksinasi terhadap keenam ekstrak tersebut dimana ekstrak etanol johar etanol memiliki

diameter penghambatan yang paling besar. Berikut ini adalah hasil skrining aktivitas antimikroba keenam ekstrak tersebut :

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Antimikroba Ekstrak etanol dan Heksan pada daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar pada paper disk

Sampel	Diameter Hambatan (mm)				
	E.C	S.A	S.T	C.A	A.N
Ekstrak heksan Asam keranji	15,36	17,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Asam keranji	8,0	9,0	8,0	6,0	6,0
Ekstrak Heksan Johar	6,0	10,0	8,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Johar	9,72	6,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Heksan Ki hujan	9,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Ki hujan	10,38	10,0	8,8	6,0	6,0

Keterangan :

Paper disk dengan diameter 6 mm

E.C = *Escherichia coli*

S.A = *Staphylococcus aureus*

S.T = *Salmonella thypi*

C.A = *Candida albicans*

A.N = *Aspergillus niger*

Keenam ekstrak tanaman tersebut yang telah diuji menunjukkan aktivitas antimikrobanya terhadap bakteri uji, hal ini dapat diperoleh bahwa senyawa yang terdapat pada sampel bersifat antibakteri bukan antifungi. Dengan melihat mekanisme dari antimikroba, terdapat perbedaan mendasar antara antibakteri dan antifungi. Antifungi memiliki mekanisme penghambatan permeabilitas pada membran, sedangkan antibakteri memiliki mekanisme penghambatan sintesis protein, sintesis dinding sel, sintesis asam nukleat total pada sel dan metabolisme sel mikroba (1).

Adanya perbedaan ekstrak yang aktif yaitu heksan maupun etanol terhadap bakteri uji dikarenakan kecenderungan komponen kimia yang aktif lebih larut pada cairan penyari etanol. Pada tabel 1 nampak bahwa

ekstrak etanol pada umumnya lebih aktif dibandingkan ekstrak heksan, sehingga diduga senyawa yang aktif sebagai antibakteri adalah senyawa yang bersifat polar. Kemudian dilakukan partisi pelarut terhadap ekstrak etanol daun dan Heksan pada daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar, hasil uji antimikrobanya sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Partisi Ekstrak etanol dan Heksan pada daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar pada paper disk

Sampel	Diameter Hambatan Rata-rata (mm)		
	E.C	S.A	S.T
Ekstrak Etanol Ki hujan Larut Etil Asetat	9,7	11,83	8,4
Ekstrak Etanol Ki hujan Tidak Larut Etil Asetat	9,7	11,83	9,3
Ekstrak Hexan Ki hujan Larut Etil Asetat	9,1	7,0	8,73
Ekstrak Hexan Ki hujan Tidak Larut Etil Asetat	7,1	8,1	7,1
Ekstrak Etanol As Keranji Larut Etil Asetat	12,1	9,73	11,4
Ekstrak Etanol As Keranji Tidak Larut Etil Asetat	7,1	6,8	7,1
Ekstrak Hexan As Keranji Larut Etil Asetat	7,1	6,1	10,1
Ekstrak Hexan As Keranji Tidak Larut Etil Asetat	7,76	6,0	9,8
Ekstrak Etanol Johar Larut Etil Asetat	10,7	13,43	11,1
Ekstrak Etanol Johar Tidak Larut Etil Asetat	7,1	26,2	9,1
Ekstrak Hexan Johar Larut Etil Asetat	6,4	6,76	8,1
Ekstrak Hexan Johar Tidak Larut Etil Asetat	8,0	6,1	7,0

Tabel di atas menunjukkan bahwa yang paling aktif untuk diisolasi komponen aktif antimikrobanya adalah ekstrak etanol Johar yang tidak larut etil asetat. Berdasarkan kelarutannya dalam pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dan partisi diduga senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak bersifat polar maka pada pemisahan dengan kromatografi kolom vakum cair digunakan eluen Heksan : etil asetat (25:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:5), dan etil asetat : metanol(10:1, 5:1, 1:1). Fraksi-fraksi

yang diperoleh dimonitor profil KLT-nya menggunakan eluen Heksan - etil asetat (1:1). Fraksi dengan profil KLT yang sama digabung dan diperoleh 4 fraksi (fraksi I, II, III, IV). Keempat fraksi tersebut lalu diuji aktivitas antimikrobanya. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa yang memiliki aktivitas paling baik adalah fraksi III .

Pengujian fraksi III dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Kromatogram lapis tipis hasil elusi fraksi III, menggunakan campuran eluen heksan - etil asetat (1:2) menunjukkan adanya 1 bercak yang meredam UV 254 dengan nilai Rf 0,6 yang juga tampak pada pada lampu UV 366 nm dan H₂SO₄ 10 %. Berdasarkan hasil KLT bioautografi tersebut, menunjukkan bahwa bercak pada Rf 0,6 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona bening pada permukaan medium tempat berdifusinya bercak tersebut.

Identifikasi lebih lanjut terhadap bercak pada fraksi III (bercak dengan Rf 0,6) dilakukan dengan Dragendorff yang mana tidak menunjukkan adanya perubahan warna bercak jingga pada lempeng berwarna kuning (negatif untuk alkaloid). Sedangkan pada penyemprotan dengan FeCl₃ menunjukkan adanya perubahan warna bercak pada kromatogram menjadi hijau kehitaman yang mengindikasikan adanya fenolik, serta dengan sitroborat tidak menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning muda.

BAB V

PENUTUP

V.1 KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian pengujian aktivitas antimikroba terhadap terhadap beberapa sampel tanaman famili Fabaceae, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Keenam ekstrak (ekstrak heksan dan etanol daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar) dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*, dan *Escherichia coli* namun tidak menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.
2. Ekstrak etanol Johar yang tidak larut etil asetat memiliki penghambatan yang paling baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*, dan *Escherichia coli*.
3. Bercak aktif antibakteri dari fraksi III ekstrak etanol daun Johar yang tidak larut etil asetat dengan nilai Rf 0,6 pada elusi dengan heksan - etil asetat (1 : 2) memberikan hasil yang positif terhadap penampak bercak golongan fenolik.

V.2 SARAN

1. Perlu dilakukan isolasi serta elusidasi struktur senyawa aktif antimikroba ekstrak daun Johar (*Cassia siamea*).



DAFTAR PUSTAKA

1. Ganiswarna, S.G. (1995), *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Bagian Farmakologi fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. (572)
2. Ervizal,A,M.,Zuhud.,Rahayu,W,P.,Wijaya,H., Sari,P,P.2001, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parka roxburghii* G. Don) Terhadap Bakteri Patogen. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Vol XII*no.1.
3. Anonim.,2002. <http://id.wikipedia.org/w/index.php?title=Caesalpinioideae&action=edit> diakses 25 februari 2008
4. Jose M, Ansuategui M,& Bernejo P., 2007, Active Antifungi Substances From Natural Resorce, *Arkivoc Vol VII*, 116-145.
5. Tringali C., 2001. *Bioactive Compounds from Natural Sources*. Taylor and francis. Universita di Catania. Italy
6. Heyne, K.1987. *Tumbuhan berguna Indonesia* edisi II, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan. Penerbit Yayasan sarana Wana Jaya, Jakarta.864 – 865, 926-927
7. Anonim.2008.<http://www.pharmainfo.net/Full+Text+Articles>.diakses 10september2008
8. Duke,A,J. 1983. Handbook of Energy Crops.Purdue university.
9. Isely,D. 1990. *Vascular flora of the southeastern United States. Vol. 3, Part 2 Leguminosae(Fabaceae)* University of Minnesota Press
10. Steenis,V.,C.G.G.J. 2003. *Flora*.PT Pradnya Paramita,Jakarta. 203 – 204
11. Barneby, R. C. & J. W. Grimes. 1997. *Silk tree, guanacaste, monkey's earring: a generic system for the synandrous Mimosaceae of the Americas. Part II. Pithecellobium, Cojoba, and Zygia*. Mem. New York Bot. Gard. (23)
12. Joker,D. 2001. *Informasi Singkat Benih,Cassia siamea*. Direktorat Perbenihan Tanaman Hutan. Departemen Kehutanan. Indonesia Forest Seed. Bandung.

13. B, Dzulkarnain. 2007. *Tanaman-tanaman antimalaria* (online) <http://www.indonesia.com/intisari/1998/September/antimal.htm>. diakses 10 februari 2008
14. Buchanan, R, E., & Gibbons, N.E. (1974), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Eight edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 290,292).
15. Bonang, C & Koeswandon, E.S., (1982). *Mikrobiologi Kedokteran*. PT Gramedia, Jakarta, 17, 18)
16. Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S., (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid I Penerjemah Ratna Sri Hadjoetomo, dkk, UI Press, Jakarta, 148-149, 202-205
17. William B.D., *Teks Book Of Microbiology*, Nineteenth edition. 714-716
18. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen kesehatan republik Indonesia. Jakarta. 9, 66
19. Houghton, Peter, J., Raman, A. 1998. *Laboratory Handbook For The Fractination of Natural Extract*. 11, 12, 75, 77, 83
20. Unus, S. 1987. *Pengantar Mikrobiologi umum*. Angkasa Bandung. Hal, 29-33, 60-69
21. Yamaguchi, K. *susceptibility testing*, Departemen of Mikrobiologi, Toho University School of Medicine, 233-237.
22. Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi UGM. Kanisius. Yogyakarta. 167
23. Sastrohamidjoyo H. 1985. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. 26, 30, 34, 36
24. Gritter R.J., Bobbot J.M., Schawarting E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi kedua. Penerbit ITB. Bandung, 107, 105
25. Betina V, 1972. *Pharmaceutical Aplication of Thin Layer and Paper Chromatography*, Amsterdam, 503-507
26. Djide, M.N., Sartini. 2003. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi. Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. Makassar.

27. Sutrisno, R, B. 1993. *Pereaksi KLT (Kromatografi Lapis Tipis)*. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. Jakarta. 21, 37, 74, 78.

LAMPIRAN

Tabel 1. Rata-rata Hasil Uji Skrining Antimikroba Ekstrak Heksan dan Etanol Sampel pada daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar pada paper disk

Sampel	Diameter Hambatan Rata – rata (mm)				
	E.C	S.A	S.T	C.A	A.N
Ekstrak heksan Asam keranji	15,36	17,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Asam keranji	8,0	9,0	8,0	6,0	6,0
Ekstrak Heksan Johar	6,0	10,0	8,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Johar	9,72	6,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Heksan Ki hujan	9,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Ekstrak Etanol Ki hujan	10,38	10,0	8,8	6,0	6,0

Keterangan :

Paper disk dengan diameter 6 mm

E.C = *Escherichia coli*

S.A = *Staphylococcus aureus*

S.T = *Salmonella thypi*

C.A = *Candida albicans*

A.N = *Aspergillus niger*

Tabel 2. Rata-rata Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Partisi Ekstrak etanol dan Heksan pada daun Ki hujan, Asam keranji dan Johar pada paper disk

Sampel	Diameter Hambatan Rata-rata (mm)		
	E.C	S.A	S.T
Ekstrak Etanol Ki hujan Larut Etil Asetat	9,7	11,83	8,4
Ekstrak Etanol Ki hujan Tidak Larut Etil Asetat	9,7	11,83	9,3
Ekstrak Hexan Ki hujan Larut Etil Asetat	9,1	7,0	8,73
Ekstrak Hexan Ki hujan Tidak Larut Etil Asetat	7,1	8,1	7,1
Ekstrak Etanol As Keranji Larut Etil Asetat	12,1	9,73	11,4
Ekstrak Etanol As Keranji Tidak Larut Etil Asetat	7,1	6,8	7,1
Ekstrak Hexan As Keranji Larut Etil Asetat	7,1	6,1	10,1
Ekstrak Hexan As Keranji Tidak Larut Etil Asetat	7,76	6,0	9,8
Ekstrak Etanol Johar Larut Etil Asetat	10,7	13,43	11,1
Ekstrak Etanol Johar Tidak Larut Etil Asetat	7,1	26,2	9,1
Ekstrak Hexan Johar Larut Etil Asetat	6,4	6,76	8,1
Ekstrak Hexan Johar Tidak Larut Etil Asetat	8	6,1	7

Keterangan :

Paper disk dengan diameter 6 mm

E.C = *Escherichia coli*

S.A = *Staphylococcus aureus*

S.T = *Salmonella thypi*

Tabel 3. Rata-rata Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Fraksi Ekstrak Etanol daun Johar tidak larut Etil Asetat pada paper disk

KELOMPOK FRAKSI	Diameter Hambatan Rata-rata (mm)		
	E.C	S.A	S.T
Fraksi I	7,8	7,5	8,3
Fraksi II	8,0	7,8	8,2
Fraksi III	9,2	9,5	8,8
Fraksi IV	8,7	8,6	9,0

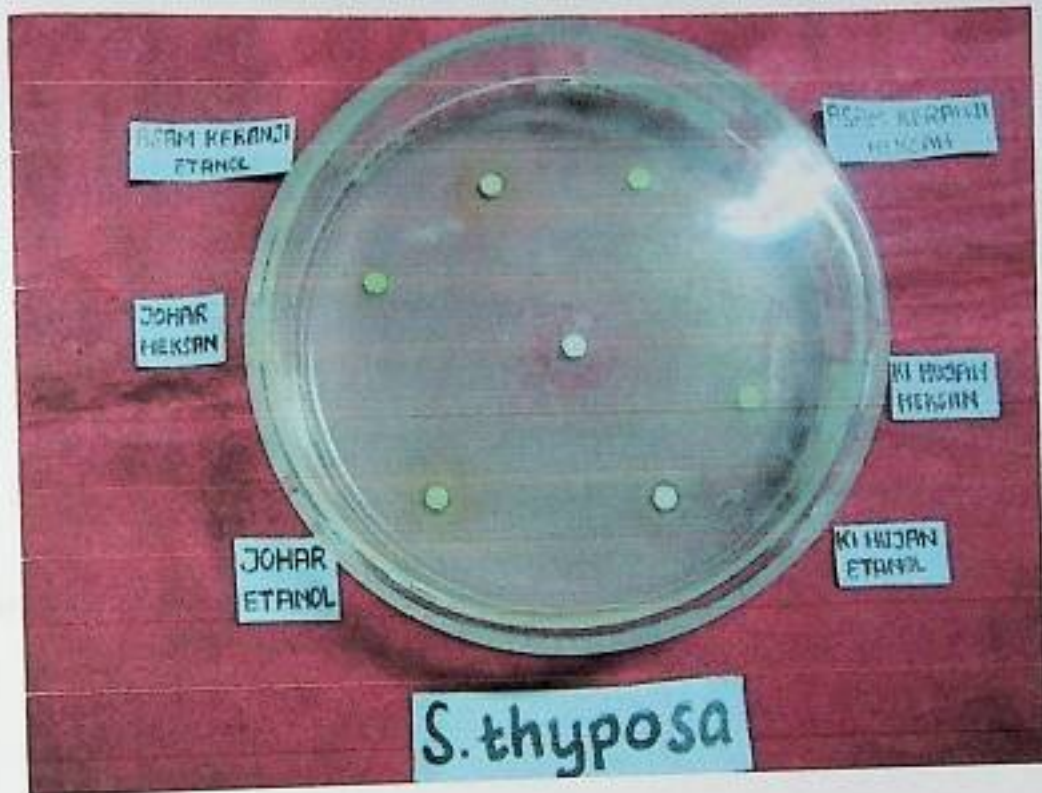
Keterangan :

Paper disk dengan diameter 6 mm

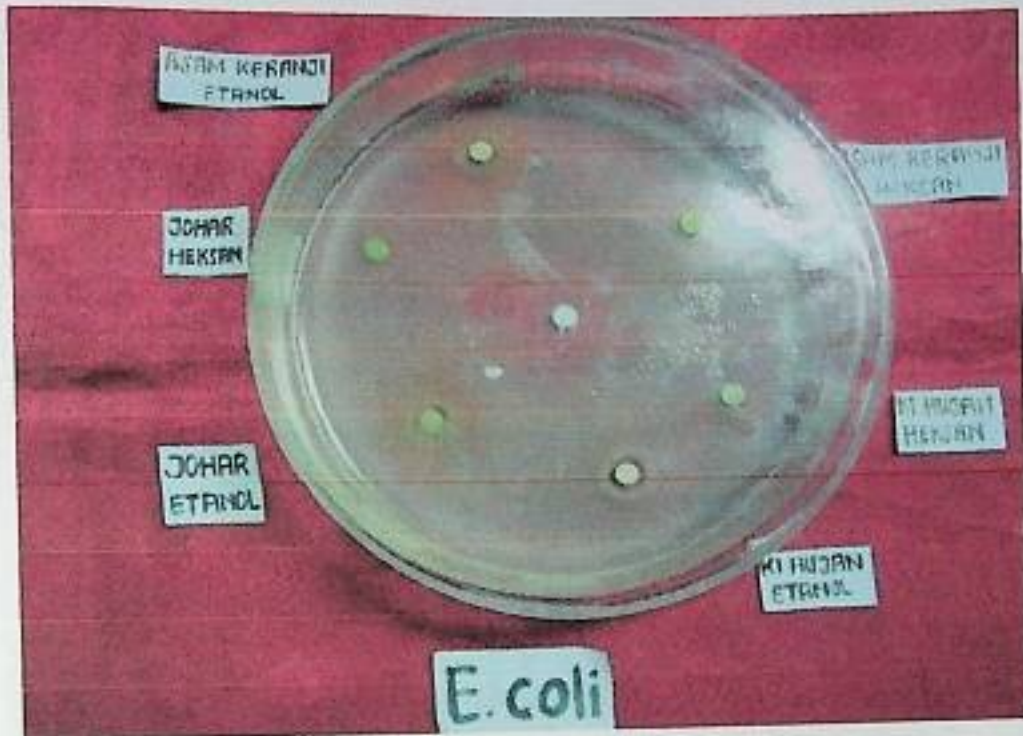
E.C = *Escherichia coli*

S.A = *Staphylococcus aureus*

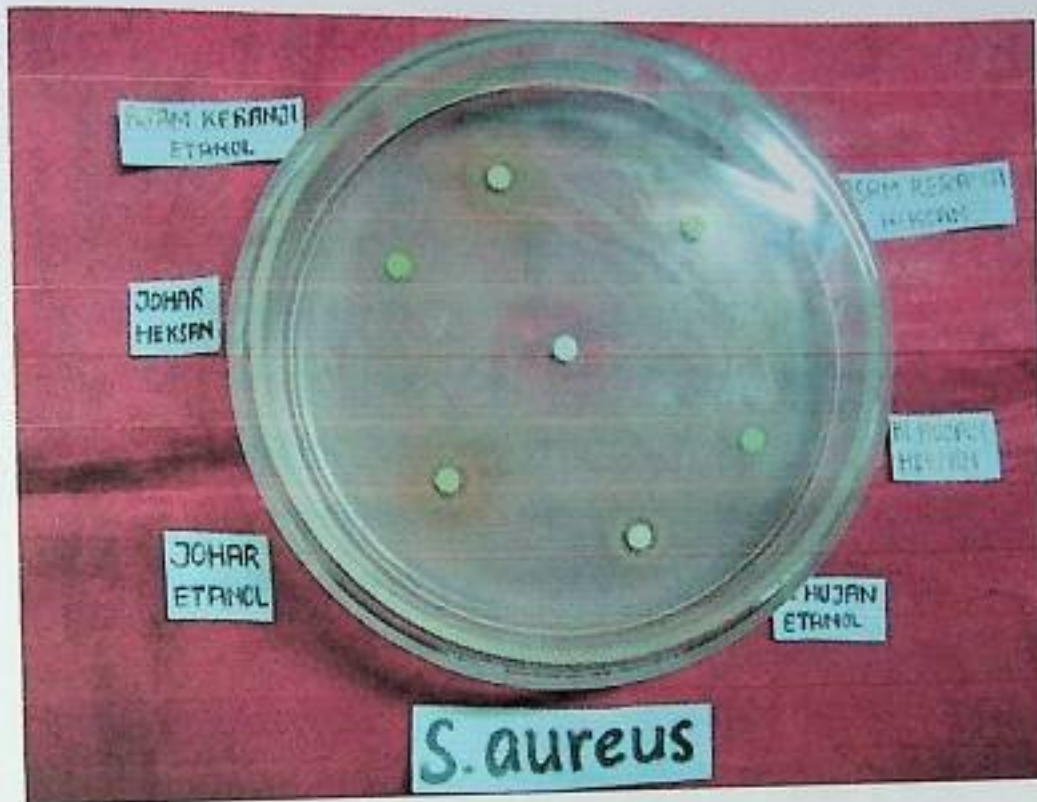
S.T = *Salmonella thypi*



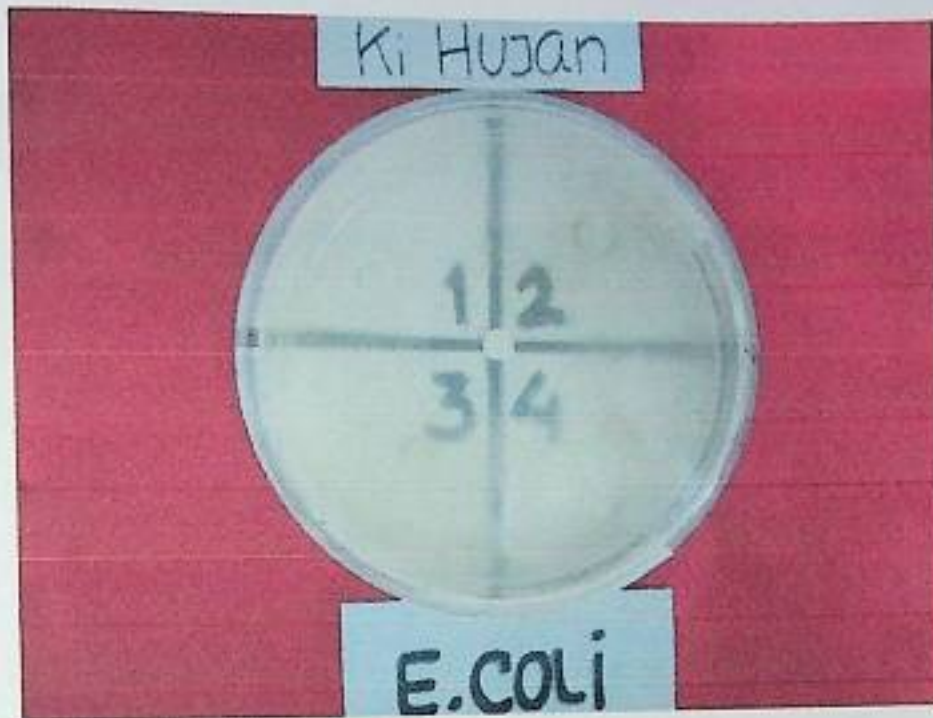
Gambar 1. Foto Skrining Antimikroba Ekstrak Heksan dan Etanol Sampel Terhadap *Salmonella thypii* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Gambar 2. Foto Skrining Antimikroba Ekstrak Heksan dan Etanol Sampel Terhadap *Eschericia coli* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Gambar 3. Foto Skring Antimikroba Ekstrak Heksan dan Etanol Sampel Terhadap *Staphylococcus Aureus* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Gambar 4. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Ki hujan dengan konsentrasi 1 mg/ml

Keterangan :

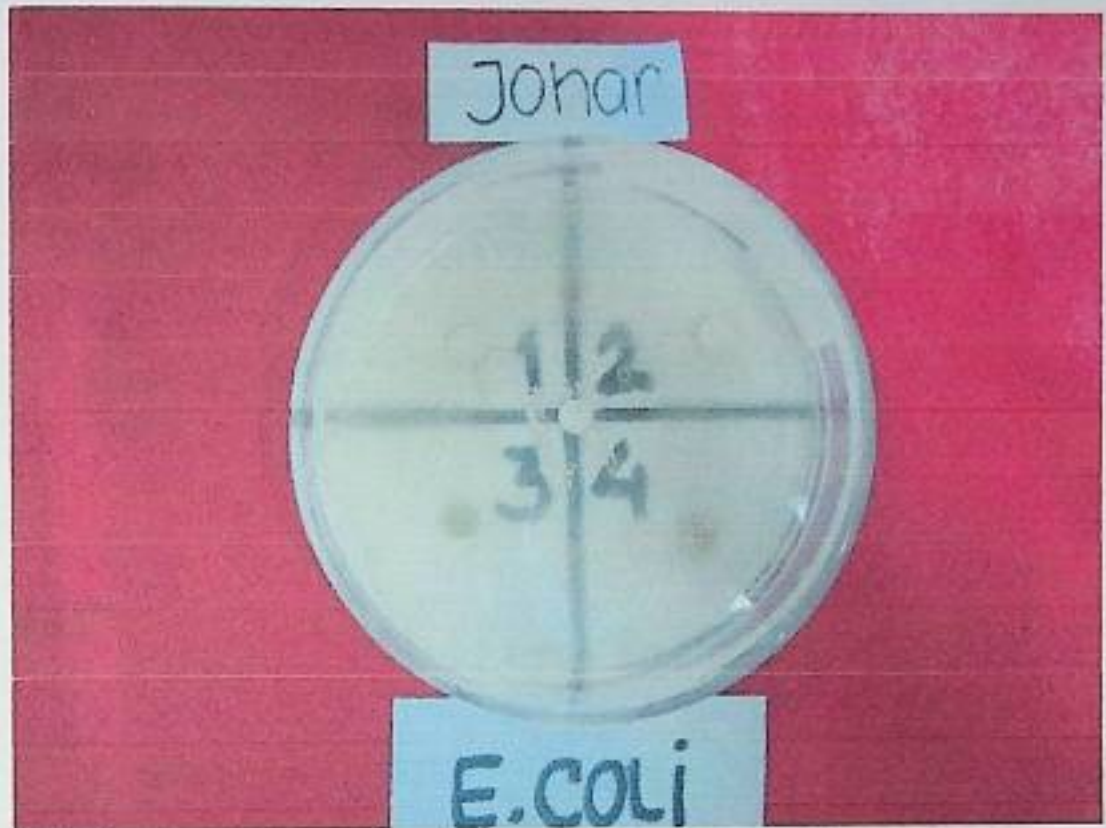
1. Ekstrak etanol Ki hujan larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Ki hujan tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Ki hujan larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Ki hujan tidak larut etil asetat



Gambar 5. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Asam keranji dengan konsentrasi 1 mg/ml

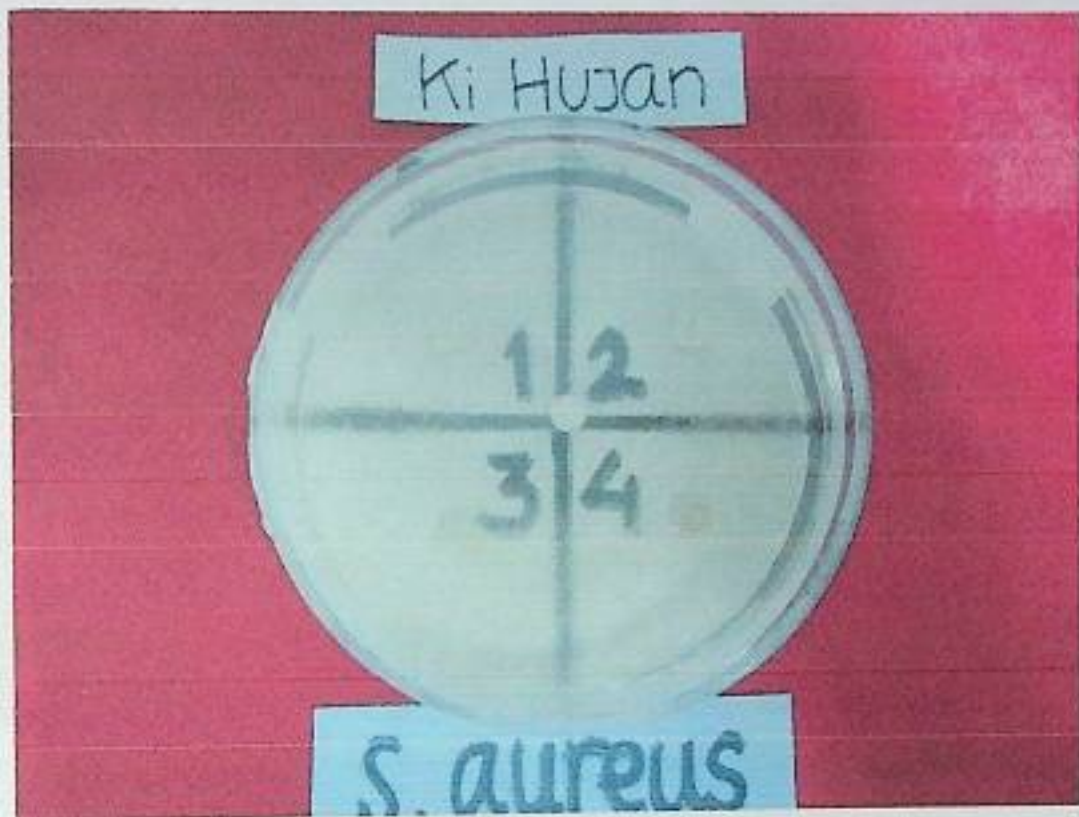
Keterangan :

1. Ekstrak etanol Asam keranji larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Asam keranji tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Asam keranji larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Asam keranji larut etil asetat



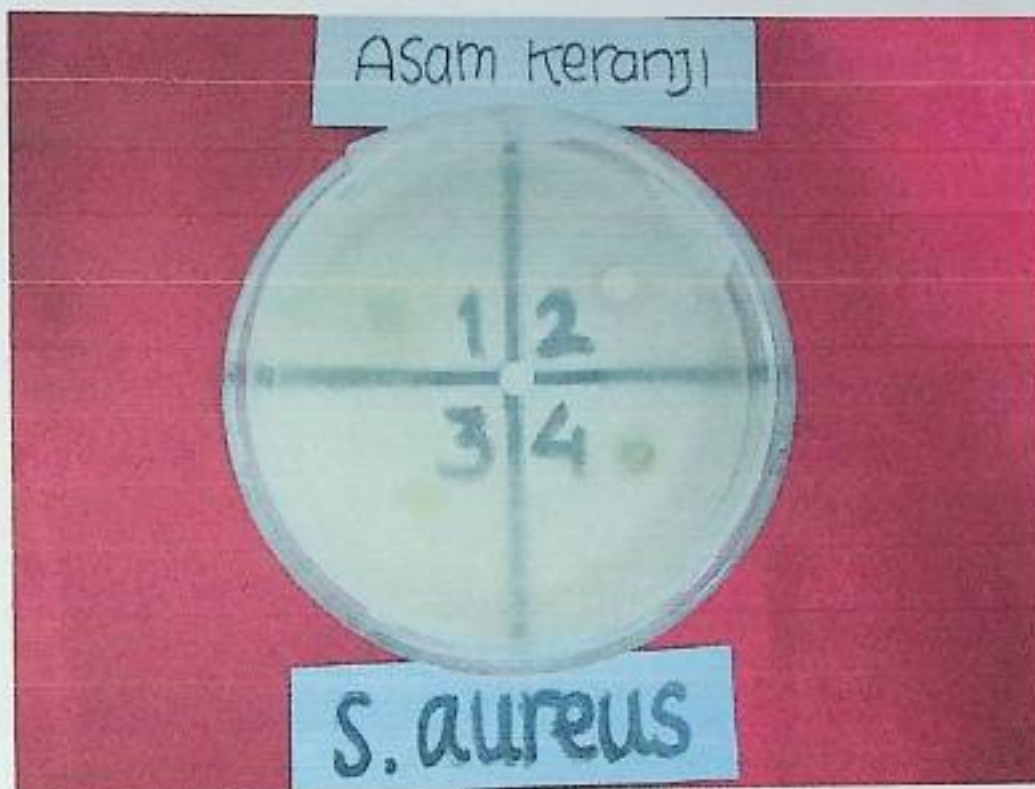
Gambar 6. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Johar dengan konsentrasi 1 mg/ml

- Keterangan :
1. Ekstrak etanol Johar larut etil asetat
 2. Ekstrak etanol Johar tidak larut etil asetat
 3. Ekstrak Heksan Johar larut etil asetat
 4. Ekstrak Heksan Johar larut etil asetat



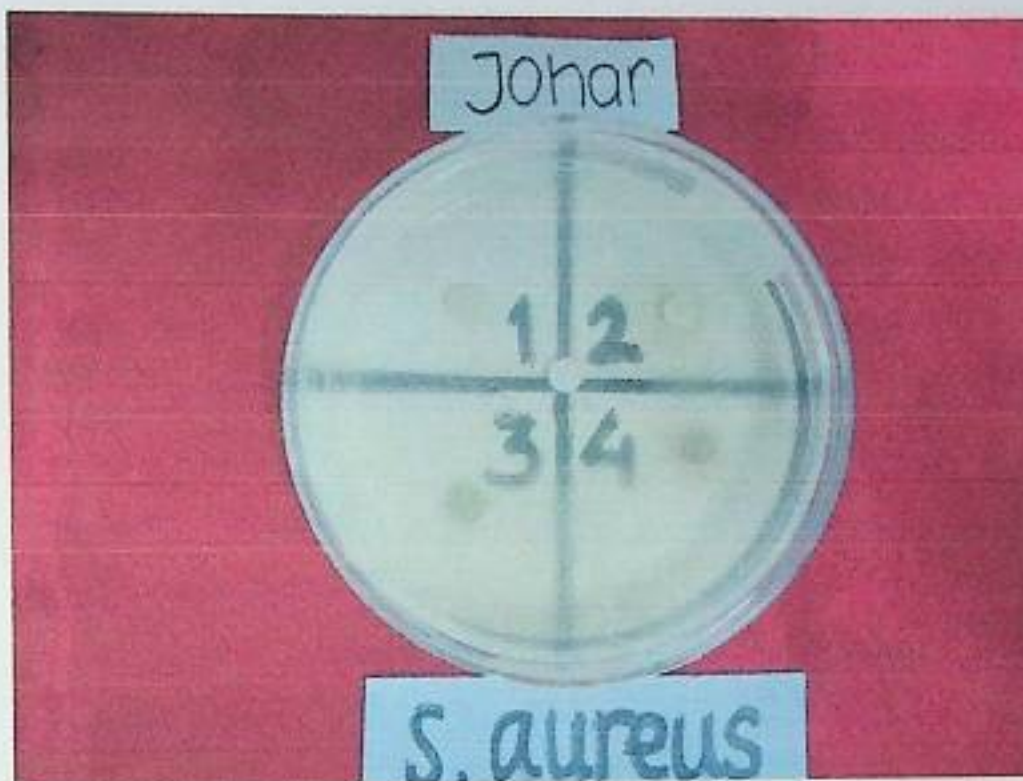
Gambar 7. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Ki hujan dengan konsentrasi 1 mg/ml

- Keterangan :
1. Ekstrak etanol Ki hujan larut etil asetat
 2. Ekstrak etanol Ki hujan tidak larut etil asetat
 3. Ekstrak Heksan Ki hujan larut etil asetat
 4. Ekstrak Heksan Ki hujan tidak larut etil asetat



Gambar 8. Foto Skringing Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Asam keranji dengan konsentrasi 1 mg/ml

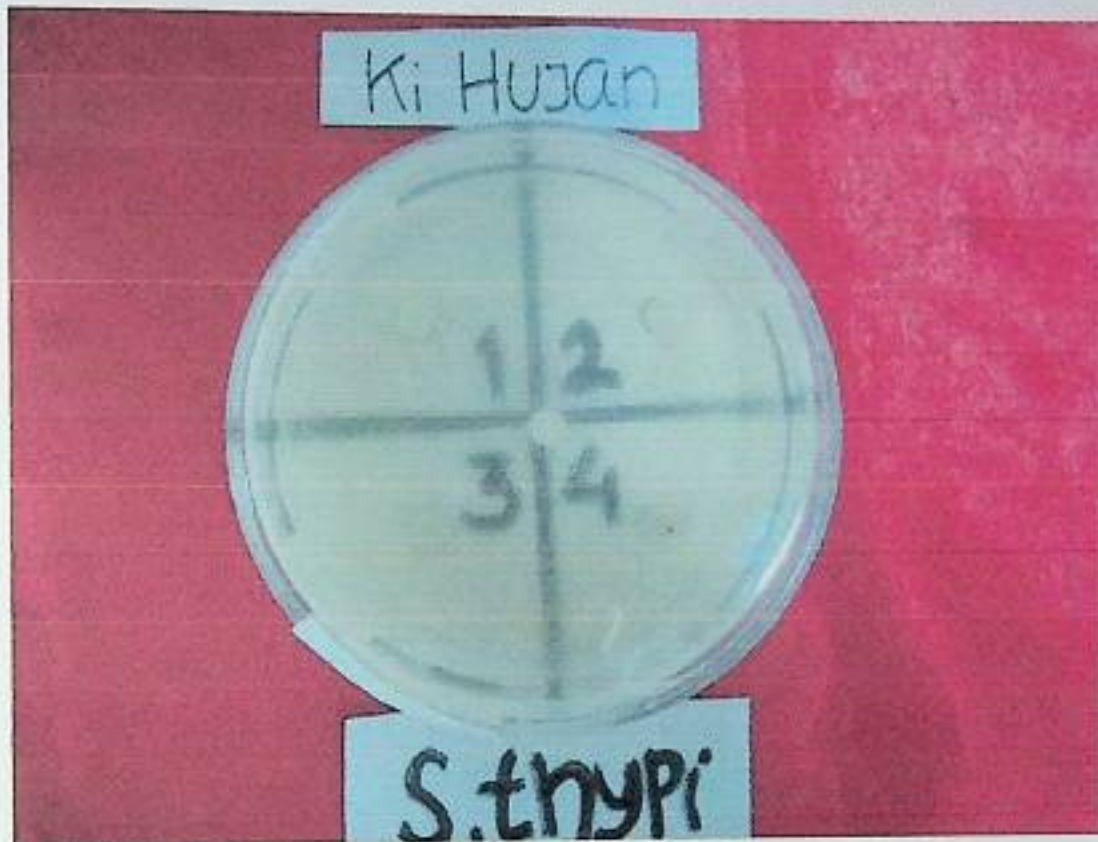
- Keterangan :
1. Ekstrak etanol Asam keranji larut etil asetat
 2. Ekstrak etanol Asam keranji tidak larut etil asetat
 3. Ekstrak Heksan Asam keranji larut etil asetat
 4. Ekstrak Heksan Asam keranji tidak larut etil asetat



Gambar 9. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Johar dengan konsentrasi 1 mg/ml

Keterangan :

1. Ekstrak etanol Johar larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Johar tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Johar larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Johar tidak larut etil asetat



Gambar 10 Foto Skring Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Ki hujan dengan konsentrasi 1 mg/ml

Keterangan :

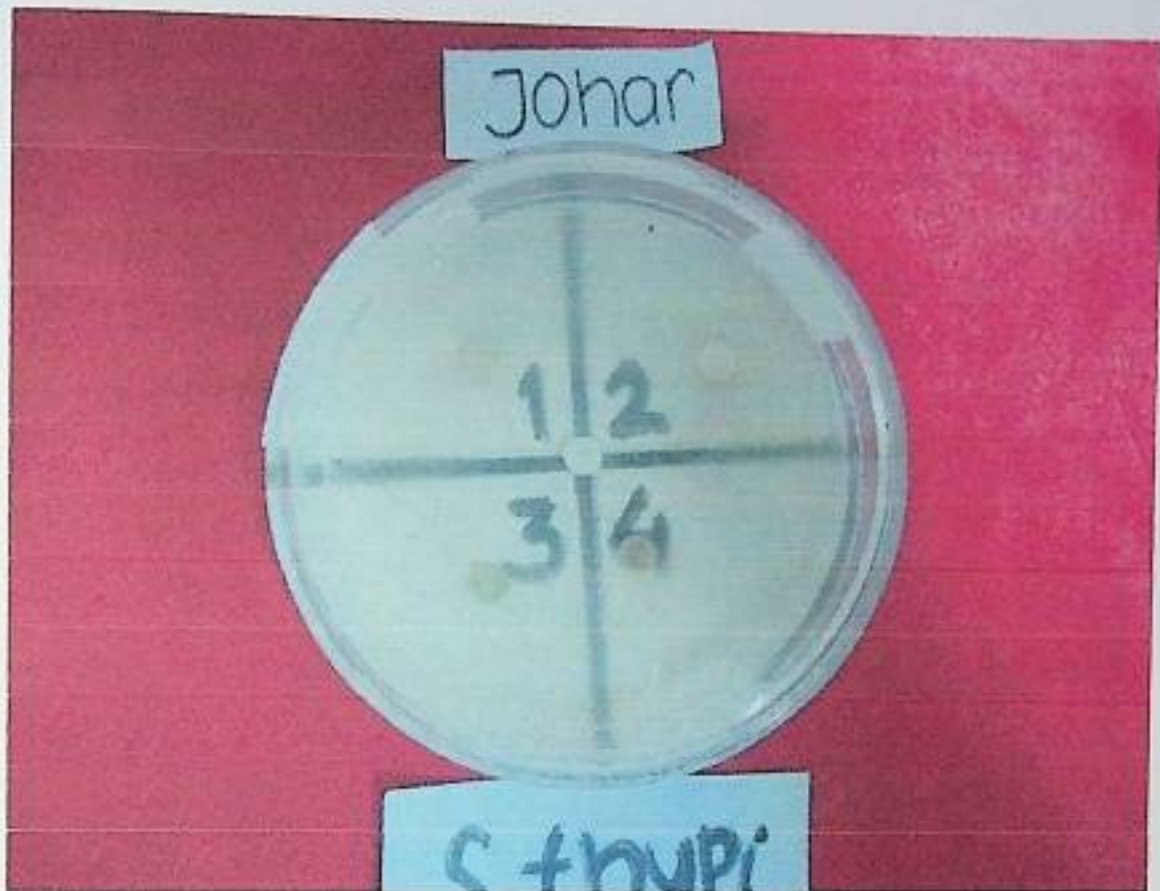
1. Ekstrak etanol Ki hujan larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Ki hujan tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Ki hujan larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Ki hujan tidak larut etil asetat



Gambar 11. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Asam keranji dengan konsentrasi 1 mg/ml

Keterangan :

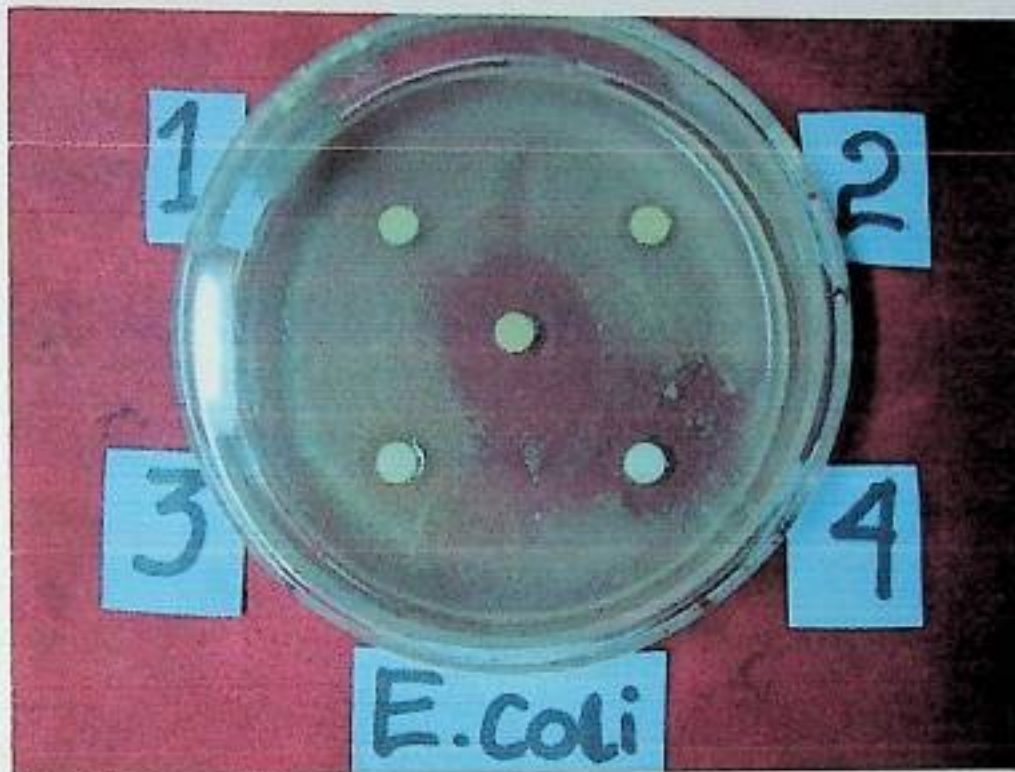
1. Ekstrak etanol Asam keranji larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Asam keranji tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Asam keranji larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Asam keranji tidak larut etil asetat



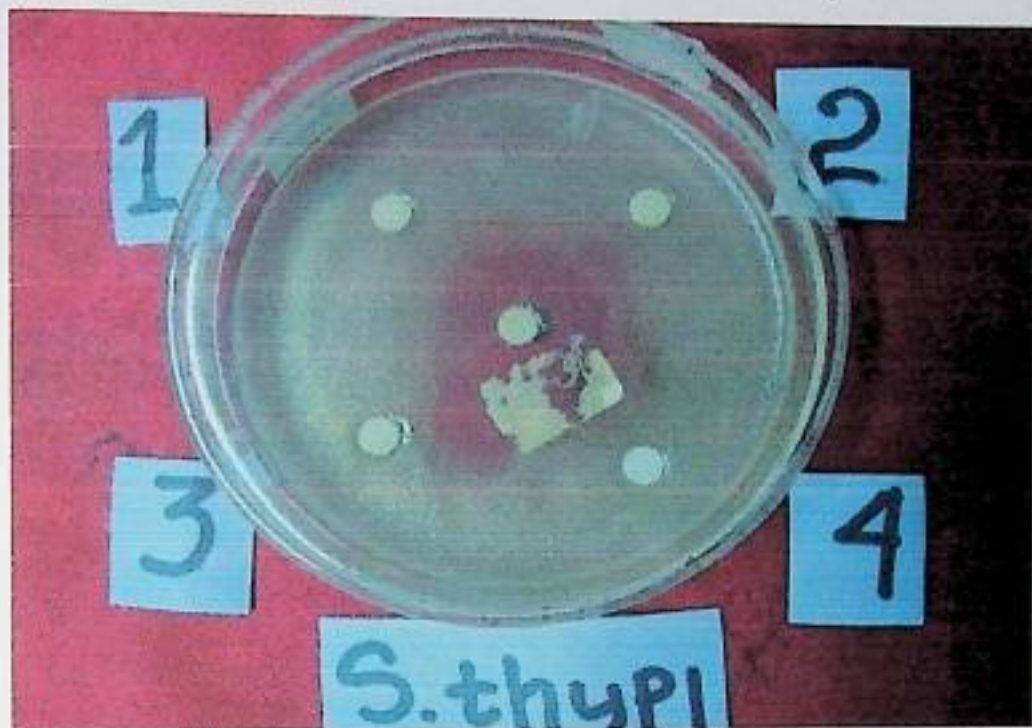
Gambar 12. Foto Skrining Hasil Partisi Ekstrak Etanol dan Heksan Johar dengan konsentrasi 1 mg/ml

Keterangan :

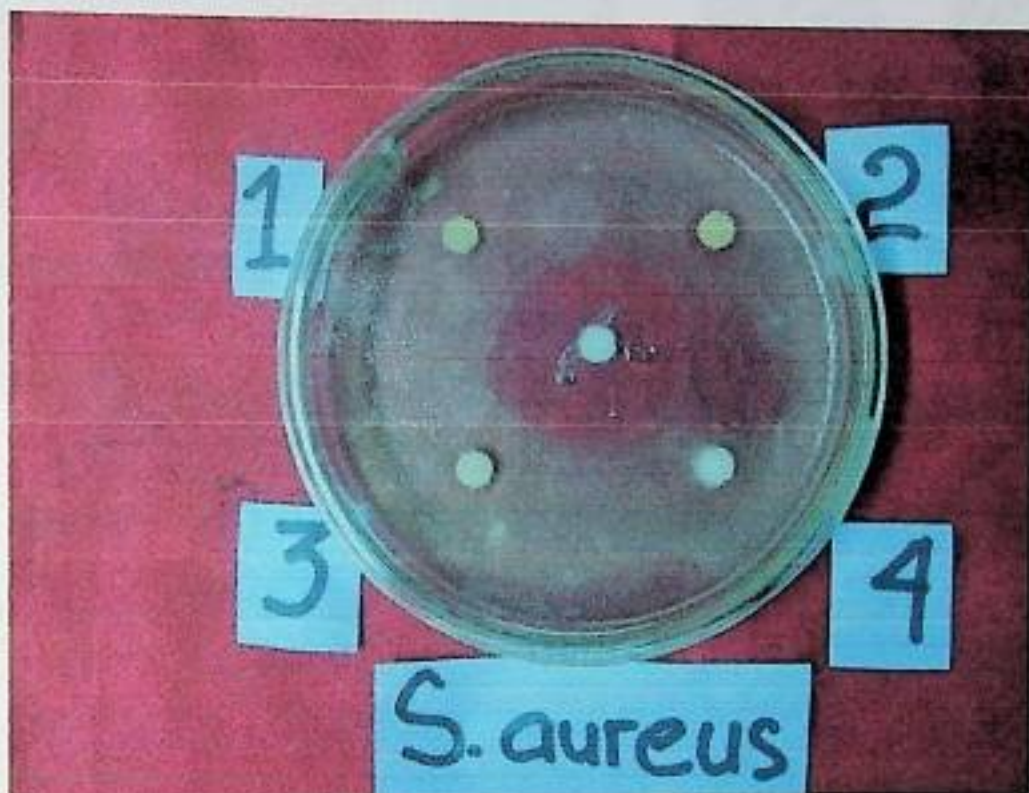
1. Ekstrak etanol Johar larut etil asetat
2. Ekstrak etanol Johar tidak larut etil asetat
3. Ekstrak Heksan Johar larut etil asetat
4. Ekstrak Heksan Johar tidak larut etil asetat



Gambar 13. Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Johar Terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Gambar 14. Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Johar Terhadap *Salmonella thypi* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Gambar 15. Hasil Uji Skrining Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Johar Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1 mg/ml



Escherichia coli



Lampu UV 254 nm

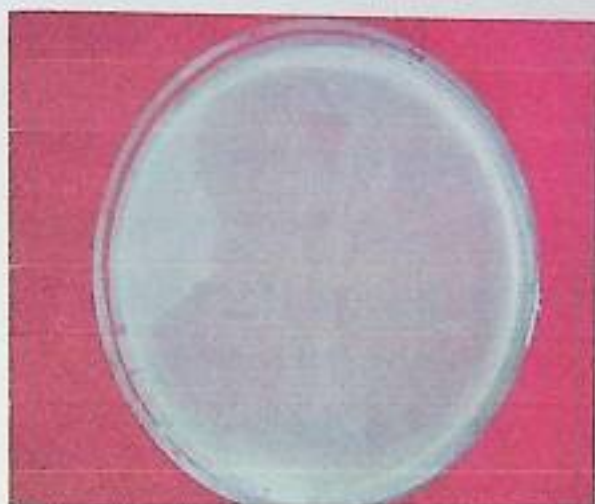


Lampu UV 366 nm



H₂SO₄

Gambar 16. Foto Hasil pengujian KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Tidak larut Etil Asetat Daun Johar (*Cassia siamea*)



Staphylococcus aureus



Lampu UV 254 nm

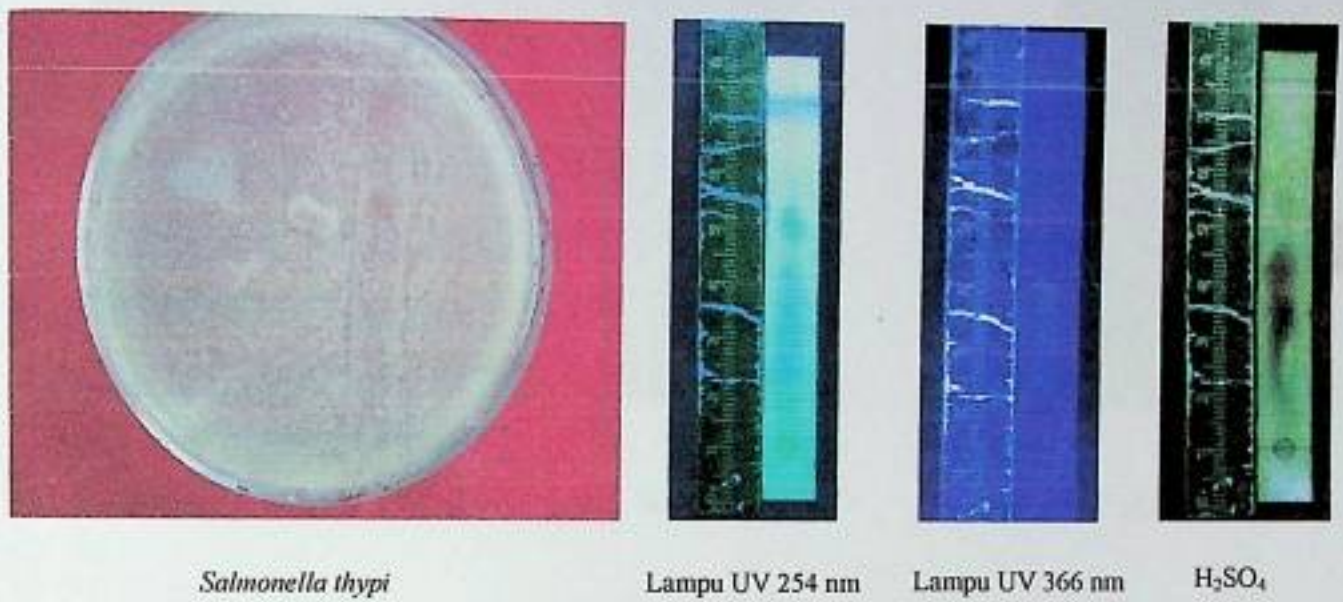


Lampu UV 366 nm



H₂SO₄

Gambar 17. Foto Hasil pengujian KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Tidak larut Etil Asetat Daun Johar (*Cassia siamea*)



Gambar 18. Foto Hasil pengujian KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Tidak larut Etil Asetat Daun Johar (*Cassia siamea*)



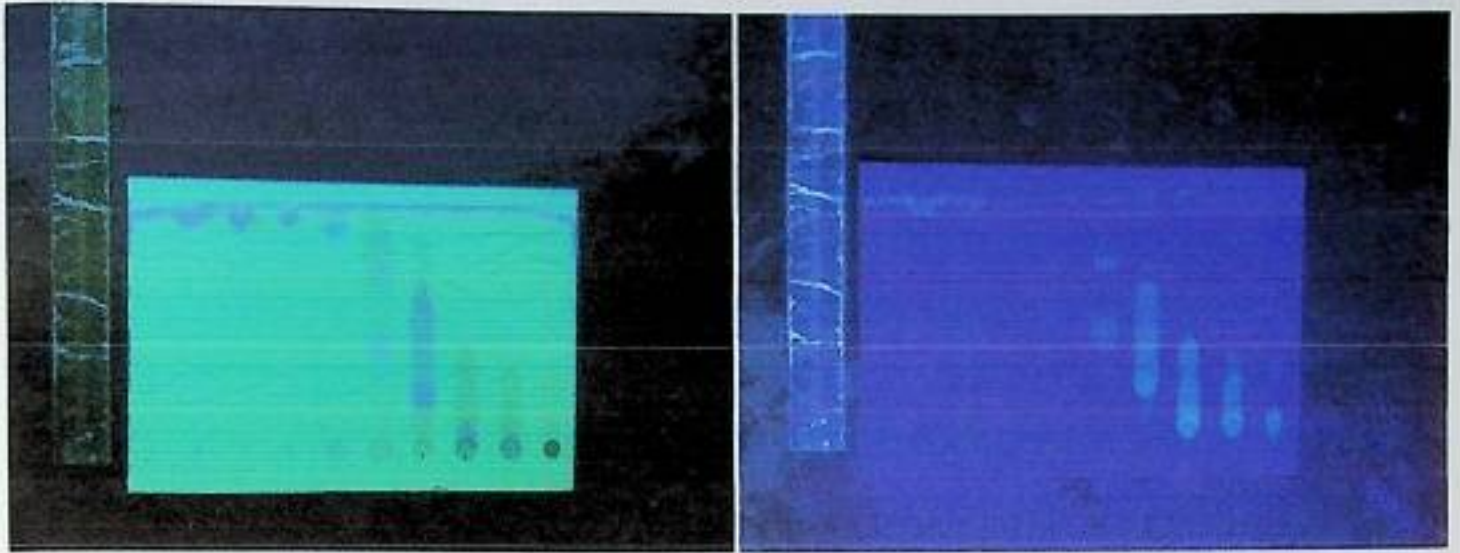
Dragendorff



Sitroborat

FeCl₃

Gambar 19. Foto hasil identifikasi Ekstrak Etanol Tidak Larut Etil Asetat Daun Johar (*Cassia siamea*)

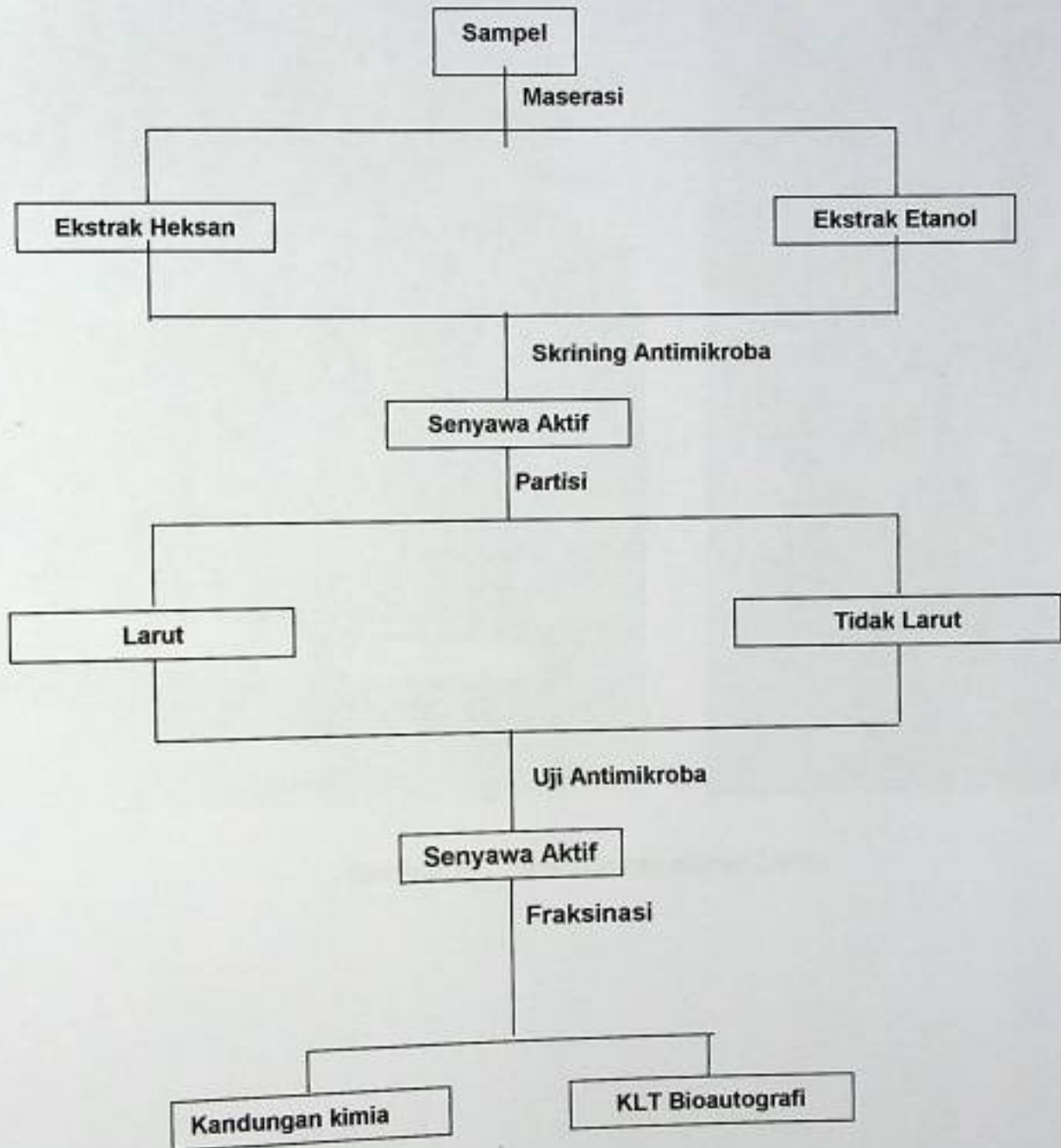


UV 254 nm

UV 366 nm

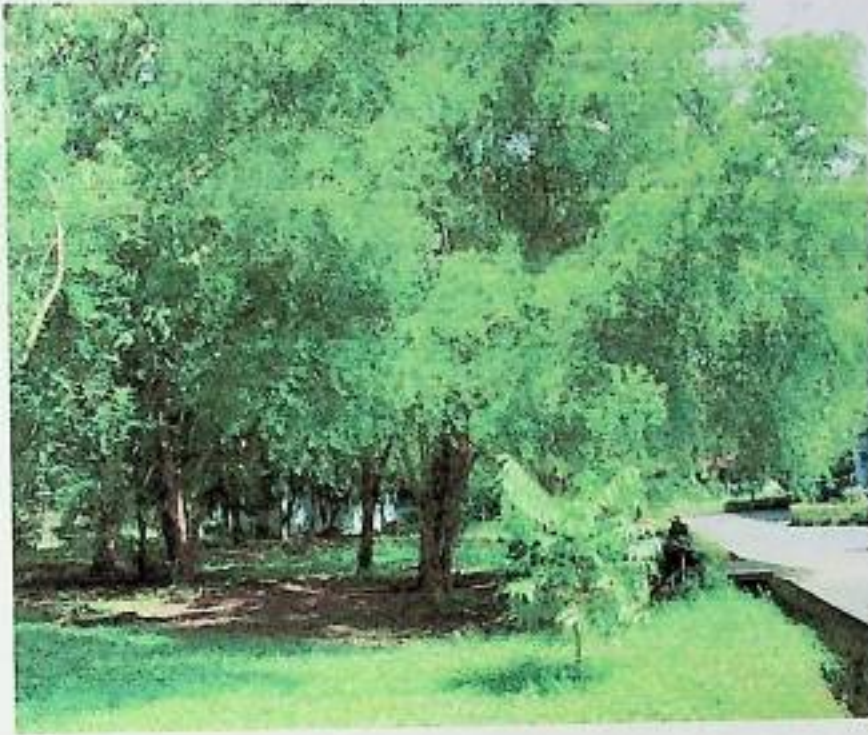
Gambar 20. Profil KLT Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Johar Yang Tidak Larut Etil Asetat

Lampiran
Skema Kerja SKRINING, FRAKSINASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK
DAUN Ki hujan (*Samanea saman*), Asam keranji (*Pithecellobium dulce*), dan Johar
(*Cassia siamea*)

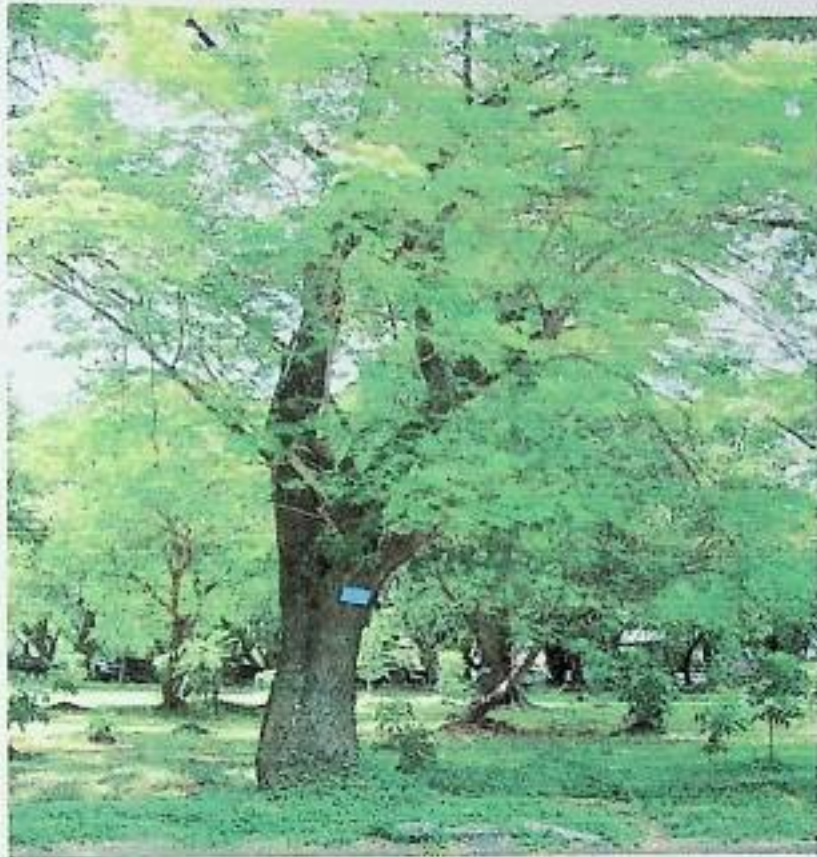




Gambar 21. Johar (*Cassia siamea* Lamk)



Gambar 22. Asam Keranji (*Pithecellobium dulce* Benth)



Gambar 23. Ki hujan (*Samanea saman* Merr)