UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGI BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Clausena excavata* Burm. f.

SKRIPSI

Oleh :

SUMARDI KOSWARA

No. Mhs: 99 613 076

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

2004

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGI BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Clausena excavata* Burm. f.

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Jogjakarta

Oleh :

SUMARDI KOSWARA

No. Mhs: 99 613 076

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

2004

LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING

Berjudul :

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGI BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Clausena excavata* Burm. f.

Oleh :

SUMARDI KOSWARA

No. Mhs: 99 613 076

Telah Disetujui Oleh :

Pembimbing I

(.....)

Dr. C.J. Soegihardjo Apt

Tanggal, 10 Februari, 2004

Pembimbing II

(.....)

Saepudin S.Si., Apt

Tanggal, 11 Februari, 2004

LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGI BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Clausena excavata* Burm. f.

Oleh:

SUMARDI KOSWARA

No. Mhs: 99 613 076

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Pada tanggal : 26 Februari, 2004

Penguji :	Tanda Tangan
1. Sri Mulyaningsih M.Si, Apt	.....
2. Dr. C.J. Soegihardjo Apt	.....
3. Saepudin S.Si., Apt	.....

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

.....
(Jaka Nugraha, M.Si.)

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam Daftar Pustaka.

Jogjakarta, Februari 2004

Penulis

SUMARDI KOSWARA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Pelajarilah ilmu dan ajarkanlah pada manusia. Dalam mencari ilmu belajarlah bersikap mantap dan tenang. Bertawaddhulah kepada yang kalian ajari ilmu pengetahuan. Janganlah kamu menjadi sombong, sehingga ilmu pengetahuan kalian tidak berlandaskan kebodohan...

(Umar R.A)

Do'a adalah sebuah nyanyian hati yang selalu dapat membuka jalan terbang
menuju singgasana Tuhan meskipun terhimpit di dalam tangisan...

(Kahlil Gibran)

Jika aku mati besok.... Aku akan baik-baik saja.....
Karena aku percaya.... Setelah aku pergi, Semangat akan tetap terbawa.....

(John Petrucci)

Waktu berjalan mengiringi langkahku, Tuk sebuah karya sederhana,

Tuk baktiku pada orang-orang tercinta Tuk' Bapak danMamak....
Tuk masa depanku....

Dengan kerendahan dan ketulusan hati skripsi ini kupersembahkan kepada:
Ayahanda dan **Ibunda** tercinta, yang selalu mendukung dengan limpahan doa, kasih sayang, dan materi yang tak ternilai harganya....

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, Wr.Wb.,

Alhamdulillah, segala puji syukur penulis panjatkan atas kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, karunia dan hidayah-Nya yang besar sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIFUNGI BEBERAPA FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Clausena excavata* Burm. f.**"

Skripsi ini disusun untuk memenuhi sebagian syarat mencapai gelar Sarjana Sains pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa banyak sekali bantuan dan masukan dari banyak fihak hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. CJ. Soegihardjo, Apt., selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan dorongan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Saepudin, S.Si. Apt., selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan dorongan selama penelitian dan penyusunan skripsi.

3. Ibu Sri Mulyaningsih, M.Si. Apt., selaku Dosen Penguji yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan dan perbaikan skripsi sehingga menjadi lebih sempurna.
4. Bapak Jaka Nugraha, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Ibu Farida Hayati, M.Si, Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Almamater UII, Anak-anak komunitas Mbesi, Merpati Putih, Putera Lombok, seluruh keluarga besar Umar dan Supo, Anak-anak Pokoh, dan semua pihak yang saya kira pantas untuk disampaikan terima kasih, namun tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak untuk perbaikan. Akhirnya semoga dengan segala kekurangannya skripsi ini masih dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan bagi semua pihak yang membutuhkan khususnya.

Wassalamu'alaikum, Wr.Wb.

Jogjakarta, Februari 2004

Penyusun

SUMARDI KOSWARA

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR i

DAFTAR ISI iii

DAFTAR GAMBAR vi

DAFTAR TABEL vii

DAFTAR LAMPIRAN ix

INTISARI xi

ABSTRACT xii

BAB I PENDAHULUAN 1

A. Latar Belakang Masalah 1

B. Perumusan Masalah 3

C. Tujuan Penelitian 3

D. Batasan Masalah 4

BAB II STUDI PUSTAKA 5

A. Tinjauan Pustaka 5

1. Uraian tentang tanaman 5

2. Uraian tentang kandungan kimia 7

3. Uraian tentang teknik penyarian 11

4. Uraian tentang mikrobiologi 13

5. Uraian tentang kromatografi lapis tipis 25

B. Keterangan Empiris 27

BAB III CARA PENELITIAN 28

A. Alat dan Bahan 28

1. Alat yang digunakan 28

2. Bahan yang digunakan 28

B. Jalannya Penelitian 29

1. Determinasi tanaman *Clausena excavata* Burm. f. 29

2. Penyiapan serbuk 29

3. Penyarian serbuk 30

4. Uji mikrobiologi 32

5. Fraksinasi 35

6. Uji kandungan senyawa dengan KLT 37

C. Analisis Hasil 38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 39

A. Determinasi Tanaman 39

B. Penyiapan Bahan Utama 40

C. Penyarian Dengan Maserasi 41

D. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antifungi Ekstrak Etanol 43

E. Fraksinasi Ekstrak Etanol 44

F. Uji Aktivitas Anti Bakteri Dan Antifungi Fraksi Petroleum Eter, Kloroform, Dan Air 45

G. Uji Kandungan Senyawa Dengan KLT 54

1. Identifikasi alkaloid 54

2. Identifikasi flavonoid 56

3. Identifikasi terpenoid 59

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 64

A. Kesimpulan 64

B. Saran 65

DAFTAR PUSTAKA 66

LAMPIRAN 69

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Kerangka dasar flavonoid.....	9
Gambar 2.	Struktur isoprena.....	10
Gambar 3.	Skema pembuatan serbuk	30
Gambar 4.	Skema penyarian serbuk.....	31
Gambar 5.	Skema uji mikrobiologi	34
Gambar 6	Skema fraksinasi.....	36
Gambar 7.	Kromatogram deteksi kandungan senyawa alkaloid fraksi kloroform daun *Clausena excavata*.....	55
Gambar 8.	Kromatogram deteksi kandungan senyawa flavonoid fraksi petroleum eter daun *Clausena excavata*.....	57
Gambar 9.	Kromatogram deteksi kandungan senyawa terpenoid fraksi petroleum eter daun *Clausena excavata*	60
Gambar 10.	Kromatogram deteksi kandungan senyawa terpenoid fraksi kloroform daun *Clausena excavata*.....	62

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel I. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petroleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap bakteri *S. aureus* 46

Tabel II Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petroleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap bakteri *E. coli* 47

Tabel III Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petroleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap jamur *C. albicans* 49

Tabel IV Hasil uji anava konsentrasi fraksi-fraksi terhadap mikrobia dengan diameter hambatannya 52

Tabel V Hasil uji KLT fraksi kloroform daun *Clausena excavata* terhadap senyawa alkaloid 56

Tabel VI Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid deteksi sinar tampak/visual 57

Tabel VII Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid deteksi UV 254 nm.. 58

Tabel VIII Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid deteksi UV 366 nm.. 58

Tabel IX Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi sinar tampak/visual 61

Tabel X Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi UV 366 nm. 61

Tabel XI Hasil uji KLT fraksi kloroform daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi sinar tampak/visual dan UV 366 nm 62

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Foto tanaman *Clausena excavata* Burm. f. dan foto uji mikrobiologi fraksi petroleum eter terhadap bakteri *S. aureus* 69

Lampiran 2. Foto uji mikrobiologi fraksi kloroform dan Fraksi air terhadap bakteri *S. aureus* 70

Lampiran 3. Foto uji mikrobiologi fraksi petroleum eter dan fraksi kloroform terhadap *E. coli* 71

Lampiran 4. Foto uji mikrobiologi fraksi air terhadap *E. coli* dan fraksi petroleum eter terhadap jamur *C. albicans* 72

Lampiran 5. Foto uji mikrobiologi fraksi kloroform dan fraksi air terhadap jamur *C. albicans* 73

Lampiran 6. Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter pada sinar tampak/visual dan UV 254 nm 74

Lampiran 7. Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter pada UV 366 nm dan setelah penyemprotan dengan anisaldehid-asam sulfat pada sinar tampak/visual 75

Lampiran 8. Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter setelah penyemprotan dengan anisaldehid-asam sulfat pada UV 366 nm dan fraksi kloroform pada UV 254 nm 76

Lampiran 9. Foto kromatogram lapis tipis fraksi kloroform sebelum/sesudah penyemprotan vanilin-asam sulfat pada UV 366 nm dan setelah penyemprotan pada sinar tampak/visual 77

Lampiran 10. Foto kromatogram lapis tipis fraksi kloroform setelah penyemprotan pereaksi Dragendorff pada sinar tampak/visual 78

Lampiran 11. Gambar alat autoclaf dan *laminar air flow* 79

Lampiran 12. Gambar alat *automatic shaker*, oven, dan neraca elektronik..... 80

Lampiran 13. Gambar alat lemari pengering dan seperangkat alat KLT 81

Lampiran 14. Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan uji T test fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus*..... 82

Lampiran 15. Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan uji T test fraksi petroleum eter terhadap *E. coli* 85

Lampiran 16. Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan uji T test fraksi kloroform terhadap *C. albicans*..... 88

Lampiran 17. Pembutan standar Mc Farland dan pereaksi semprot..... 91

Lampiran 18. Surat keterangan determinasi tanaman *Clausena excavata* Burm. f. 92

INTISARI

Tumbuhan *Clausena excavata* Burm. f. merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di beberapa tempat terutama dikawasan Asia, tetapi ada pula yang sengaja ditanam sebagai tanaman hias rumah. Di daerah tertentu tumbuhan ini digunakan untuk campuran dalam masakan sebagai penyedap rasa dan sebagai obat sakit perut, penurun panas, obat cacing dan sebagai shampoo. Aktifitas biologi dari tumbuhan ini diduga sebagai antibakteri, dan antifungi. Dengan informasi diatas dijadikan landasan pemikiran untuk melakukan penelitian tentang fraksi-fraksi yang terkandung dalam daun tumbuhan *Clausena excavata* Burm. f. terutama yang beraktivitas sebagai antibakteri dan antifungi dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta untuk fungi digunakan *Candida albicans* sebagai mikrobia uji.

Daun *Clausena excavata* kering diserbuk, kemudian dilakukan penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Ekstrak difraksinasi dengan petroleum eter, kloroform, dan air, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dan antifungi dengan difusi padat metode sumuran. Analisis kandungan kimia dengan Kromatografi Lapis Tipis.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa fraksi paling aktif pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah fraksi petroleum eter, sedangkan pada *Candida albicans* adalah fraksi kloroform. Kandungan kimia pada fraksi petroleum eter adalah flavonoid, dan terpenoid. Pada fraksi kloroform terdapat kandungan kimia alkaloid dan terpenoid.

Kata kunci: *Clausena excavata,* Antibakteri, Antifungi, Petroleum eter, Kloroform, Air

ABSTRACT

ANTIBACTERIA AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES TEST ON SEVERAL ETHANOL-EXTRACT FRACTIONS OF *Clausena excavata* Burm. f. LEAVES

Clausena excavata Burm.f. is one of wild plants growing on several places particularly in Asia region. However, there are also those deliberately grown as house decorative plant. In certain place *Clausena excavata* Burm.f. is used as flavoring spice in cooking. Beside that, it is also used as medicines for stomachache and intestinal worms, and as shampoo. Biological activity of the plant was expected as anti-bacteria and anti-fungi. The above evidence was being basic thinking to perform a research on fractions contained in the leaves of *Clausena excavata* Burm.f. plant, especially those are active as anti-bacteria and anti-fungi by using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* for bacteria and *Candida albanicans* for fungi as microbial test.

The dry leaves of *Clausena excavata* Burm.f. plants were ground into powder, and then filtered by maceration method using ethanol solvent of 80%. The extract was then fractionated using petroleum ether, chloroform and water and tested the anti-bacteria and anti-fungi activities by solid diffusion method of sumuran. The chemical content analysis used Thin Layer Chromatography.

Based on the result of this research it was known that the most active fraction on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was the petroleum ether, while on *Candida albicans* was the chloroform fraction. The chemical contents in petroleum ether fraction were flavonoid and terpenoid. The chloroform fraction contained chemicals of alkaloid and terpenoid.

Keyword: *Clausena excavata*, Antibacteria, Antifungal, Petroleum ether, Chloroform, Water

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi masih banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang termasuk Indonesia. Kebanyakan penyakit infeksi diobati dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik sering menimbulkan kendala karena timbulnya masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu dan penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Hal ini tentu saja menimbulkan pemborosan biaya yang merugikan banyak pihak (Irfan, 2003).

Sejak ribuan tahun yang lalu, obat dan pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern dikenal masyarakat. Pemanfaatan tumbuhan berkhasiat sebagai alternatif pengobatan untuk mencapai kesehatan yang optimal dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami sudah banyak dilakukan dan diakui masyarakat dunia, yang menandai kesadaran untuk kembali ke alam (*back to nature*) (Wijayakusuma, 2000).

Obat-obatan tradisional dari bahan alam ini digemari masyarakat karena sebagian besar telah terbukti khasiatnya, mudah diperoleh dan harganya relatif murah. Bahan-bahan alam tersebut diolah dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang hingga saat ini masih memegang peranan penting dalam pemeliharaan kesehatan, tetapi belum mempunyai latar belakang dan fakta ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan karena sebagian besar obat-obatan tradisional

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

tersebut belum diteliti kandungan bahan aktifnya secara ilmiah. Untuk itu diperlukan adanya upaya pengenalan dan penelitian lebih lebih lanjut terhadap tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat obat.

Tumbuhan *Clausena excavata* Burm. f. atau lebih dikenal diIndonesia dengan nama sengitan, yang merupakan salah satu dari Familia *Rutaceae* banyak tumbuh didaerah tropis. Kawasan Asia mulai dari Jepang, Cina, Taiwan, Bangladesh, Thailand, Filipina, Malaysia, termasuk Indonesia merupakan ladang yang subur bagi pertumbuhan *C. excavata*. Di daerah tertentu tumbuhan ini digunakan untuk campuran dalam masakan sebagai penyedap rasa. Pada dasarnya *C. excavata* merupakan tumbuhan liar, namun sekarang cukup banyak orang yang menanam sebagai tanaman di halaman rumah.

Aktivitas biologi tumbuhan *Clausena excavata* diduga sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, bahkan penelitian terakhir mempromosikan sebagai antitumor dan antikanker. Penelitian sebelumnya tentang *C. excavata* sebagian besar masih ditujukan untuk kalangan sendiri artinya belum dipublikasikan, dan hampir seluruhnya dilakukan di luar negeri.

Dengan informasi diatas dijadikan landasan pemikiran untuk melakukan penelitian tentang fraksi-fraksi yang terkandung dalam daun *C. excavata* terutama yang beraktivitas sebagai antibakteri dan antifungi dengan menggunakan sampel dari bakteri yang dapat mewakili bakteri Gram positif maupun Gram negatif, juga golongan fungi yang sesuai atau yang sering digunakan untuk melakukan uji aktivitas antifungi, sehingga akan didapatkan fraksi dan senyawa kimia yang lebih spesifik untuk antibakteri maupun antifungi. Dalam tahap

selanjutnya dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui adanya golongan senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi sehingga dapat memberikan sumbangan yang berarti bagi perkembangan ilmu pengetahuan yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah maupun secara medis, sehingga searah dengan kebijakan pemerintah dibidang pemanfaatan tanaman obat.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang akan diteliti dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah daun *Clausena excavata* Burm. f. mempunyai aktivitas antibakteri dan antifungi?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam fraksi paling aktif ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dan aktivitas antifungi fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, dan fraksi air daun *Clausena excavata* terhadap *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, serta jamur *Candida albicans.*
2. Mengetahui fraksi paling aktif dari daun *Clausena excavata* sebagai antibakteri dan antifungi.
3. Mengetahui senyawa pada fraksi paling aktif daun *Clausena excavata* dengan Kromatografi Lapis Tipis.

D. Batasan Masalah

1. Tumbuhan *Clausena excavata* diperoleh dari daerah Sleman Jogjakarta pada bulan September 2003.
2. Mikrobia yang digunakan dalam penelitian ini adalah
   a. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM pada bulan September 2003
   b. Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM pada bulan September 2003
   c. Jamur *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM pada bulan September 2003.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian tentang tanaman

a. Nama tanaman

Clausena excavata Burm. f.

b. Nama daerah

Aceh : Temurui

Jawa : Sengitan, Tikusan

c. Sistematika

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledonae

Ordo : Rutales

Familia : Rutaceae

Genus : Clausena

Species : *Clausena excavata* Burm. f.

(Backer & Bakhuizen van den Brink., 1965) dan (Van Steenis, 1949)

d. Morfologi

Clausena excavata merupakan tumbuhan perdu atau pohon kecil, tinggi kurang lebih 5 m. Batang berkayu, bulat, bercabang kecil pada bagian puncak dengan rambut pendek, tidak berlengan. Daun majemuk, tersusun spiral, oval membujur atau oval berujung lancip, sering kali dengan bagian dasar miring, pada bagian atas cabang sering kali padat, berwarna hijau. Bunga pada cabang berambut pendek , becuping, daun bunga oval bujur, benang sari 8 – 10 kadang-kadang 7, filamen tidak sama, bagian yang mengandung benang sari memiliki bujur berbaur: piringan berambut, berbentuk penopang, ovari sedikit bercuping, berambut, tertutup halus kearah bawah atau tertutup oleh bagian berbentuk skala. Buah yang dihasilkan dari ovari tunggal berbentuk bundar atau elips.

e. Kandungan kimia

Kandungan kimia pada daun *C. excavata* belum dapat ditentukan secara pasti karena penelitian-penelitian untuk simplisia ini belum banyak dilakukan. Namun dari beberapa literatur yang sangat terbatas diduga dalam daun *Clausena excavata* terdapat kandungan kumarin, alkaloid, dan minyak atsiri. Untuk minyak atsiri dapat tercium dari daun segar yang diremas-remas. (http: Planta Medica 2003) 155-157.

f. Kegunaan

Di kawasan Asia terutama di Indonesia penggunaan daun *C. excavata* belum meluas, artinya penggunaannya hanya terbatas pada daerah tertentu saja, dibeberapa daerah seperti di Aceh dan dipulau Jawa digunakan sebagai penyedap rasa dalam makanan. Penggunaan *C. excavata* dalam bidang kesehatan belum

begitu terkenal, tapi ada sebagian masyarakat yang menggunakannya sebagai obat sakit perut dan obat cacing. Di luar negeri *C. excavata* oleh masyarakat juga digunakan sebagai obat tradisional, seperti di Vietnam digunakan sebagai *antibronchitis*, di China digunakan sebagai *shampoo* anti ketombe (*anti dandruff*). Selain itu sering pula dipakai sebagai obat penurun panas (demam). Hal tersebut mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri dan antifungi.

2. Uraian tentang kandungan kimia

a. Alkaloid

Nama alkaloid tidak mewakili golongan senyawa yang dari segi kimia bersifat homogen, sehingga setiap rampatan mengenainya pasti mengandung perkecualian. Semuanya mengandung nitrogen yang sering kali terdapat dalam cincin heterosiklik, dan banyak, tetapi tidak semuanya, bersifat basa seperti yang ditunjukkan oleh namanya (Robinson, 1995).

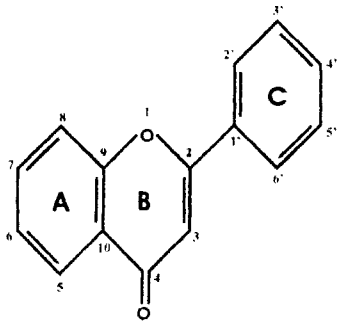
Hampir semua senyawa yang termasuk golongan alkaloid merupakan turunan amina tertier, sedangkan lainnya nitrogen primer, sekunder, kuarterner. Kebasaan alkaloid secara individual beraneka ragam dan kisarannya luas tergantung dari tipe alkaloidnya. Harga PK_a (tetapan disosiasi) terletak antara pH 10-12 untuk basa lemah (misalnya alkaloid *Chinchona spp.*), dan pH 3-7 untuk basa setengah kuat (misalnya alkaloid opium) (Wagner, *et al.*, 1984)

Alkaloid sebagai golongan senyawa dibedakan dari sebagian besar tumbuhan lain berdasarkan sifat basanya (kation). Oleh karena itu, senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai asam organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam klorida dan asam

sulfat. Garam ini dan sering alkaloid bebas, berupa senyawa padat berbentuk kristal tanwarna. Beberapa alkaloid berupa cairan, dan alkaloid yang berwarnapun langka (berberina dan serperina berwarna kuning). Alkaloid sering kali optis aktif, dan biasanya hanya satu dari isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dalam beberapa kasus dikenal campuran rasemat; dan pada kasus lain satu tumbuhan mengandung satu isomer dan tumbuhan lain mengandung enantiomernya. Pada tumbuhan alkaloid berfungsi sebagai pelindung dari serangan parasit, sebagai pengatur tumbuh (Robinson, 1995). Selain itu untuk manusia alkaloid juga berfungsi untuk racun untuk perburuan, dibidang farmasi digunakan sebagai antimikrobia karena sifatnya yang menghambat pertumbuhan mikrobia.

b. Flavonoid

Merupakan suatu golongan senyawa dengan dua cincin aromatik atau benzen yang dihubungkan oleh jembatan yang terdiri dari tiga atom karbon membentuk kerangka karbon dengan sistem C_6-C_3-C_6, dimana masing-masing merupakan cincin benzen (Markham, 1988). Untuk mempermudah dalam pemberian nama, cincin diberi tanda berupa huruf A, B dan C. Atom karbon pada cincin A dan C diberi penomeran dengan menggunakan angka biasa, sedangkan pada cincin B menggunakan angka beraksen. Struktur flavonoid ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Kerangka dasar flavonoid

(Markham, 1988)

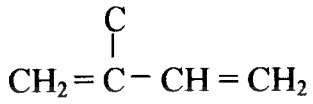
Flavonoid terdapat dalam bentuk bebas maupun terikat sebagai glikosida. Glikosidanya larut dalam air dan alkohol tetapi tidak larut dalam pelarut-pelarut organik. Sedangkan geninnya (aglikon) tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut-pelarut organik misalnya eter, etil asetat, dan aseton (Trease, 1976).

Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, selain itu flavonoid juga terdapat pada semua bagian tanaman terutama daun, akar, kayu, kulit, tepung, bunga, buah dan biji. Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas biologi yang bermacam-macam diantaranya memiliki aktivitas sebagai antivirus, antihistamin, diuretik, antihipertensi, bakterisida, estrogenik, mengaktivasi enzim, dan lain-lain (Geissman, 1962).

Flavonoid merupakan senyawa fenol, karena itu warnanya akan berubah bila ditambahkan basa atau amoniak sehingga flavonoid akan mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1996).

c.Terpenoid

Didefinisikan sebagai natural produk yang strukturnya merupakan cabang dalam unit isoprena, dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5. Adapun strukturnya dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur isoprena (C_5H_8)
(Robbers *et al.*, 1996)

Terpenoid tersebar luas di alam dan ditemukan berlimpah di dalam tumbuhan tingkat tinggi. Terpenoid terdiri dari berbagai macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap (C_5 dan C_{10}), diterpen yang lebih sukar menguap (C_{20}), sampai ke senyawa yang tidak menguap yaitu triterpenoid dan sterol (C_{30}) serta pigmen karotenoid (C_{40}).

Terpenoid pada umumnya larut dalam lemak dan biasanya terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan dan di dalam sel kelenjar khusus pada permukaan daun. Terpenoid dapat diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan menggunakan eter minyak bumi, eter atau kloroform, dan dapat dipisahkan secara kromatografi pada silika gel atau alumina memakai pelarut tersebut diatas.

Salah satu komponen terpenoid yaitu minyak atsiri, secara ekonomi penting sebagai dasar wewangian alam (parfum) dan rempah-rempah bumbu masak serta sebagai senyawa cita rasa di dalam industri makanan. Selain itu

minyak atsiri juga digunakan sebagai bahan obat atau obat karena memiliki sifat tambahan seperti antiseptik, antibakteri, antifungi dan sebagai pengawet (Guenther, 1987).

3. Uraian tentang teknik penyarian

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Anonim, 1995).

Metode penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (dengan alat Soxhlet) tergantung ujud dan kandungan senyawa yang akan disari. Dari keempat cara tersebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik.

a. Penyarian dengan alat Soxhlet, merupakan teknik penyarian yang dilakukan dengan cara mengekstraksi sinambung serbuk bahan dengan alat soxhlet menggunakan pelarut secara berganti-ganti. Pada proses ini cairan penyari dipanaskan hingga mendidih. Uap penyari akan naik keatas lewat pipa samping dan akan diembunkan kembali oleh pendingin balik yang selanjutnya akan turun melalui serbuk simplisia sambil melarutkan zat aktifnya dan kembali ke labu. Proses ini akan berulang secara terus menerus hingga didapatkan cairan penyari yang berwarna bening (Harborne, 1996). Keuntungan penyarian dengan alat soxhlet adalah penyari yang digunakan relatif sedikit dan hasil yang diperoleh

lebih pekat sehingga zat aktif yang didapat lebih banyak. Sedang kerugiannya adalah kurang cocok untuk menyari zat aktif yang tidak tahan panas.

b. Maserasi, merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama 4-10 hari dengan terlindung dari cahaya langsung. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang kemudian akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Hal tersebut berulang secara terus menerus sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Keuntungan penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaannya lebih mudah dan peralatan yang digunakan lebih sederhana. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaan yang lebih lama dan penyariannya kurang sempurna.

c. Perkolasi, merupakan teknik penyarian yang dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi secara terus menerus. Cara perkolasi lebih baik daripada cara maserasi karena aliran cairan penyari akan menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah sehingga penyarian yang didapat akan lebih sempurna. Sedang kerugian dari perkolasi adalah kurang cocok untuk menyari simplisia yang dapat membengkak dengan kuat atau sangat voluminus.

d. Infudasi, merupakan proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari kandungan zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan infudasi akan menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah

tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh tidak dapat disimpan lebih dari 24 jam. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari menyari simplisia dengan air pada temperatur 90° C selama 15 menit.

4. Uraian tentang mikrobiologi

a. Bakteri

1) *Staphylococcus aureus*, merupakan sel gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Stafilokokus tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan berbagai macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. Beberapa merupakan anggota flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia; yang lain ada yang menyebabkan supurasi dan bahkan *septicemia* fatal. Stafilokokus yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. Staphilococcus cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba dan ini merupakan masalah besar pada terapi.

Stafilokokus adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. Kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. Stafilokokus bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Di bawah pengaruh obat seperti penisilin, stafilokokus mengalami lisis. Stafilokokus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana *aerobic* atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah

pada temperatur kamar (20-35°C). Koloni pada media yang berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas.

Stafilokokus tahan terhadap kondisi kering, panas (mereka bertahan pada 50°C selama 30 menit) dan natrium klorida 9%, tetapi dihambat oleh bahan kimia tertentu seperti heksaklorofen 3%. *S. aureus* merupakan bakteri koagulase positif, hal ini membedakannya dari spesies lain, yaitu suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam serum.

S. aureus merupakan bakteri patogen utama bagi manusia. Hampir semua orang akan mengalami beberapa tipe infeksi kulit ringan berat yang mengancam jiwa (Jawetz, *et al.*, 1996). Patogenesis *S. aureus* dapat diamati terhadap kemampuannya memfermentasi material secara aerob, kemampuan memecah gelatin, dan kemampuan menghemolisis darah.

S. aureus dapat memfermentasi manitol dan laktosa, bersifat proteolitik, menghasilkan enzim koagulase, lipase, dapat menghemolisis secara aerobik agar darah dan zona hemolisisnya luas serta dapat tumbuh pada media dengan kadar NaCl 10 %.

S. aureus ditemukan pada kulit, saluran pernapasan, saluran pencernaan, udara, mulut, makanan, pakaian, air yang terkontaminasi. Pada manusia dapat tumbuh dikulit yang mengalami radang, borok, kulit yang luka yang mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya (Jawetz, *et al.*, 1986).

Sistematika dari *S. aureus* adalah sebagai berikut:

Divisio : Monomychota (monera)

Subdivisio : Schizomyceta (Acyclomorphin)

Kelas : Schizomytales

Ordo : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.* 2001)

2) *Escherichia coli*, Merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai flagela pendek, berbentuk batang, dapat bergerak dan terdapat luas di alam. Pada umumnya tidak berkapsula dan merupakan bagian terbesar dari flora usus. *E. coli* memfermentasi glukosa dan laktosa dengan memproduksi asam dan gas dalam waktu 24 jam pada temperatur 37° C atau dalam waktu 48 jam pada temperatur 30° C. *E. coli* memfermentasi glukosa yang menghasilkan CO_2 dan H_2 dalam jumlah yang kurang lebih sama. *E. coli* dapat memecah laktosa, menghemolisis darah, dan dapat menghasilkan CO_2 dan H_2. Tidak membentuk spora, bersifat aerob dan anaerob (Jawetz *et al*, 1986). *E. coli* merupakan anggota flora usus dan dapat menjadi patogen bila berada dilokasi lain dimana flora normal jarang didapat. *E. coli* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, diare, menyebabkan meningitis pada bayi dan dapat menyebabkan sindroma uremia hemolitik yaitu suatu penyakit gagal ginjal akut jika masuk kedalam aliran darah (Amin, 1978).

Enterobacteriaceae merupakan kelompok Gram negatif berbentuk batang yang paling umum dibiakkan dalam laboratorium klinis dan bersama-sama stafilokokus dan strepkokus merupakan bakteri yang paling umum menyebabkan penyakit. Taksonomi *enterobacteriaceae* sangat kompleks dan berubah cepat sejak pengenalan teknik yang dapat mengukur jarak evolusioner, seperti asam nukleat hibridisasi dan proses rangkaian.

Enterobacteriaceae merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang pendek. Tipe morfologi dilihat dalam perkembangannya diatas media padat *in vitro* namun morfologinya sangat variabel yang berasal dari spesimen klinis. *Escherichia coli* dan sebagian besar bakteri enterik yang lain membentuk koloni bulat, cembung serta lembut dengan tepi yang berbeda. Koloni *enterobacter* serupa tapi dalam beberapa hal lebih *mucoid*. Beberapa strain *Escherichia coli* menghasilkan hemolisis dalam agar darah.

Escherichia coli menghasilkan tes positif terhadap indole, lisin dekarboksilase, dan memfermentasi manitol dan menghasilkan gas dari glukosa. Isolasi dari air seni dapat dengan cepat diidentifikasi sebagai *Escherichia coli* karena hemolisis dalam agar darah, mempunyai morfologi yang khas pada media pembeda seperti media agar EMB akan menunjukkan warna kemilau *"metallic sheen"* dan tes indole positif. Lebih dari 90% isolat *Escherichia coli* adalah positif untuk β-*glucuronidase* menggunakan substrat 4-*methylumbelliferyl*-β *glucuronide* (MUG). Isolat dari sisi anatomi lain selain air seni, dengan sifat karakteristik (diatas plus tes oksidasi negatif) dapat diketahui sebagai *Escherichia coli* dengan menggunakan tes MUG yang positif (Jawetz *et al*, 2001).

Escherichia coli merupakan penyebab paling banyak dari infeksi sistem saluran kencing dan jumlah untuk infeksi saluran kencing pertama kurang lebih 90% pada wanita muda. Gejala dan tanda-tanda meliputi frekuensi kencing, *dysuria* (susah buang air kecil), *hematuria* (ada darah dalam urin), dan *pyuria* (ada pus dalam urine). Nyeri dada (nyeri tubuh di bagian bawah iga) dihubungkan dengan infeksi sistem saluran bagian atas. Tidak satupun gejala atau tanda spesifik untuk infeksi *Escherichia coli*. Pada infeksi sistem saluran kencing dapat terjadi bakterimia dengan tanda klinis adanya sepsis.

Escherichia coli yang umumnya menyebabkan diare terjadi di seluruh dunia. *Escherichia coli* ini diklasifikasikan berdasarkan sifat karakteristik dari virulensinya dan tiap kelompok menyebabkan penyakit dengan mekanisme yang berbeda. Perlekatan pada sel ephitelial pada usus kecil atau besar sifatnya dipengaruhi oleh gen dalam plasmid. Sama halnya dengan toksin yang merupakan plasmid atau *phage mediated.*

Sistematika dari *E. coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli* (Jawetz *et al*, 2001)

b. Fungi (*Candida albicans*)

Candida albicans adalah jamur lonjong yang menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan, jaringan, maupun eksudat. Pada sediaan mikroskopik eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong bertunas yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). Pada agar Saboroud yang dieramkan pada suhu kamar terbentuk koloni-koloni yang lunak bewarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. *Candida albicans* dapat meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan asam dan gas, serta tidak bereaksi dengan alkohol (Jawetz, *et al.*, 1991). *Candida albicans* mudah ditumbuhkan pada suhu 25°C sampai 37°C pada agar glukosa saboroud dan jika ditumbuhkan pada agar tepung jagung pada suhu 25°C, organisme ini akan membentuk klamidospora berdinding tebal yang khas (Volk dan Wheeler, 1990).

Kandidiasis merupakan infeksi jamur akut sampai kronis yang menyerang mulut, vagina, kulit, kuku, *bronchus*, atau paru-paru, saluran pencernaan, darah, saluran kemih, dan kadang-kadang jantung serta selaput otak. Kandidiasis dapat disebabkan oleh *Candida albicans* atau spesies Candida yang lain. Predisposisinya ialah usia lanjut, penyakit yang melemahkan tubuh penyakit gizi, kelembaban tubuh yang tinggi, kehamilan dibetes, pengobatan dengan antibiotik jangka panjang dan kateter tetap (Johnson, *et a.*, 1994).

Kandidiasis mulut paling sering terjadi pada bayi yang baru dilahirkan dan barangkali diperoleh sewaktu melalui vagina yang terinfeksi. Pada anak yang lebih tua atau orang dewasa mungkin terjadi sebagai akibat gangguan endokrin, sebagai komplikasi diabetes atau karena kebersihan mulut yang buruk. Hal ini

mungkin juga terjadi setelah pemberian steroid atau antibiotik untuk jangka panjang.

Kandidiasis kulit menyerang kuku, lipatan kulit atau daerah pantat, berupa kelainan mirip eksim atau berupa vesikula dan pustula. Predisposisinya ialah keadaan lembab (Johnson, *et al.*, 1994). Kandidiasis saluran pencernaan mayoritas terjadi sebagai akibat pengobatan antibiotika spektrum luas yang diperpanjang yang memusnahkan sebagian flora normal usus (Volk daan Wheeler, 1990). Penyakit ini bisa juga timbul pada penderita AIDS dan penderita lain-lain yang menurun kekebalannya (Johnson, *et al.*, 1994).

Kandidiasis sistemik mempunyai gejala kandiduria, kelainan kulit makulonoduler atau endoftalmitis. Kandidiasis sistemik yang dapat timbul diseluruh bagian tubuh berupa infeksi yang tersebar melalui aliran darah dan bisanya terjadi pada penderita dengan kateter yang terpasang lama (Johnson, *et al.*, 1994)

Istilah antifungi atau antijamur mempunyai dua pengertian, yaitu fungisid dan fungistatik. Fungisid diartikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh fungi, sedangkan fungistatik hanya menghambat pertumbuhan fungi tanpa mematikannya (Marsh, 1977)

Studi tentang resistensi tanaman terhadap terhadap serangan penyakit mendorong penemuan senyawa-senyawa antifungi dalam tanaman. Senyawa antifungi yang berasal dari tanaman biasanya merupakan produk-produk metabolit sekunder dan sebagian besar dihubungkan dengan tiga jalur biosintesis, yaitu jalur asam mevalonat untuk biosintesis terpenoid dan dua jalur biosintesis

senyawa fenolik, yaitu jalur asam sikhimat dan malonat sebagai contoh asam protokatekuat, derivat asam sinamat yang dapat menghambat germinasi spora (Griffin, 1981). Melalui anti jamur dapat dikelompokan menjadi: gangguan pada membran sel, penghambatan sintetis kitin, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein, penghambatan produksi energi oleh ATP.

Klasifikasi *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

Divisio	: Thallophyta
Sub divisio	: Fungi
Classis	: Eumycetes
Sub classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliceae
Familia	: Moniliaceae
Genus	: Candida
Spesies	: *Candida albicans* (Jawetz *et al.* 2001)

c. Media

Media merupakan kumpulan zat-zat organik maupun anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan kuman atau mikroba tertentu. Dalam pemeriksaan laboratorium mikrobiologi penggunaan media sangat penting baik untuk isolat, identifikasi maupun diferensiasi. Untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang sesuai pada mikroba dibutuhkan syarat-syarat antara lain pembuatan media haruslah memenuhi dalam hal susunan makanan, tekanan osmose, derajat keasaman (pH), temperatur dan stabilitas (Anonim, 1993).

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

Media digolongkan menjadi beberapa golongan, diantaranya adalah penggolongan menurut konsistensinya. Dalam hal ini media digolongkan menjadi tiga macam yaitu media padat, media semi padat dan media cair. Penggolongan lain berdasarkan pada penggunaannya yang dibedakan menjadi lima macam yaitu:

1) Media pengaya, dipergunakan untuk mempercepat pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba dalam satu bahan yang sama.
2) Media selektif, apabila dapat tumbuh oleh satu atau lebih jenis mikroba tertentu tetapi menghambat atau membunuh jenis lainnya.
3) Media diferensial, digunakan untuk pertumbuhan mikroba tertentu dan menentukan sifat-sifatnya.
4) Media penguji, digunakan untuk pengujian senyawa tertentu dengan bantuan mikroba.
5) Media perhitungan, untuk menghitung jumlah mikroba dalam suatu bahan (Unus, 1986).

d. Mekanisme kerja antibakteri

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba (bakteristatik) dan ada yang bersifat membunuh mikroba (bakterisida). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Sifat antimikroba dapat berbeda satu sama lain. Misalnya, penisilin G bersifat aktif

terhadap bakteri gram positif, sedangkan bakteri gram negatif pada umumnya tidak resisten terhadap penisilin G, streptomisin mempunyai sifat sebaliknya. Sedang Tetrasiklin aktif terhadap beberapa bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Berdasarkan perbedaan sifat ini antimikroba dibagi menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit misalnya benzil penisilin, dan streptomisin yang berspektrum luas.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dibagi dalam lima kelompok yaitu:

1) Mengganggu metabolisme sel bakteri melalui hambatan pembentuk asam folat bakteri sehingga kehidupan mikroba akan terganggu
2) Menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan tekanan osmosis di dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel
3) Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan komponen penting sel bakteri akan keluar, misalnya protein, asam nukleat dan nukleotida
4) Menghambat sistesis protein sel bakteri yang mengakibatkan terbentuknya protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri
5) Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri.

(Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

Untuk senyawa antibiotik yang memiliki aktivitas antibakteri seperti fenol, antara lain mampu membunuh bakteri dengan cara merusak dinding sel,

mengganggu permeabilitas sel, dan menyebabkan terjadinya koagulasi (Hugo dan Russel, 1987).

e. Pengukuran aktivitas antibakteri

Dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu:

1) Metode difusi

Ada beberapa cara metode difusi, yaitu:

a) Cara Kirby Bauer, ambil beberapa koloni bakteri dari agar Muller Hinton, suspensikan kedalam BHI cair (nutrien broth) dan inkubasikan. Tambahkan aquades steril kedalam suspensi hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU/ml. Ose khusus digunakan untuk mengambil suspensi kuman tersebut dan oleskan ke permukaan media hingga rata. Lalu letakkan paper disk (kertas samir) yang mengandung antibakteri diatas permukaan media, inkubasi pada temperatur 37 °C selama 18-24 jam dan dibaca hasilnya.

b) Cara sumuran, penyiapan media yang ditanam bakteri uji sama dengan cara Kirby Bauer. Pada agar yang telah memadat dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, ke dalam sumuran tersebut diteteskan larutan antibiotik yang digunakan, inkubasi pada temperatur 37 °C selama 18-24 jam dan dibaca hasilnya seperti pada Kirby Bauer.

c) Cara pour plate, dengan satu mata ose di ambil koloni bakteri dan dimasukkan kedalam BHI cair, lalu inkubasi selama 5-8 jam pada temperatur 37 °C dengan diencerkan hingga kekeruhan standar. Dari suspensi ini diambil satu

ose, masukkan kedalam agar basa pada temperatur 50 °C dan dicampur homogen, lalu tuang pada media Muller Hinton dan biarkan membeku. Disk antibakteri diletakkan diatasnya, lalu diinkubasi selama 15-20 jam pada temperatur 37 °C. Hasil dibaca sesuai standar masing-masing.

Pembacaan hasil pemeriksaan antibakteri dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu: Zona radikal, yaitu suatu daerah disekitar disk yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Zona iradikal, yaitu suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri yang dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan yang ditandai dengan adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan dengan daerah diluar pengaruh dari anti bakteri (Anonim, 1993).

2) Metode dilusi

Ada dua macam metode dilusi yaitu, metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambahkan suspensi bakteri dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar kemudian ditanam bakteri. Metode dilusi digunakan untuk mencari MIC (konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan kuman) berdasarkan kekeruhan atau turbidimetri (Anonim, 1993).

5. Uraian tentang kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan-bahan berbutir (fase diam) yang ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan adalah larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah lempeng atau lapisan ditaruh dalam bejana tertutup yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Sastrohamidjojo, 1991).

Umumnya fase diam (lapisan penyerap) yang sering digunakan adalah silika gel, alumunium hidroksida, kieselgur, selulosa, poliamid dan lain-lain. Fase gerak merupakan medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut yang bergerak di dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori karena adanya gaya kapiler (Sastrohamidjojo, 1991).

Identifikasi bercak pada kromatogram dapat dilakukan dengan tiga cara. Pertama bercak langsung dilihat dengan sinar tampak atau ultraviolet; kedua bercak terlebih dahulu disemprot atau diuapi dengan pereaksi tertentu kemudian dilihat dibawah sinar tampak atau ultraviolet; dan ketiga, bercak dikerok lalu diidentifikasi dengan berbagai cara, misalnya dengan ditambah pereaksi tertentu dalam tabung dan mencari panjang gelombang pada respon maksimum.

Identifikasi untuk senyawa yang tidak berwarna pada kromatogram dilakukan di bawah sinar UV (254 nm dan 366 nm) yang ditandai dengan ada atau tidaknya flurosensi. Untuk menampakkan senyawa yang hampir tidak tampak atau

hanya tampak lemah di bawah sinar UV dapat digunakan bahan penyemprot yang sesuai (Autherhoff, 1987).

Beberapa faktor yang mempengaruhi gerakan bercak dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga Rf yaitu struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dan derajat kemurniannya, derajat kejenuhan uap dalam bejana pengembang yang digunakan, teknik percobaan yang digunakan, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu, dan kesetimbangan (Sastrohamidjojo, 1991).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka R_f atau hR_f.

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan titik awal.}}$$

Angka R_f berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hR_f adalah angka R_f dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100. Jika dipilih jarak pengembangan 10 cm, maka jarak rambat untuk senyawa (titik awal-pusat berat dalam sentimeter) dikali 100 menghasilkan angka hR_f (Stahl, 1985).

B. Keterangan Empiris

Data empirik yang diharapkan adalah aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus, E. coli,* dan antifungi terhadap *C. albicans* dari fraksi petroleum eter, kloroform, dan air, serta profil kromatografi lapis tipis senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif.

BAB III

CARA PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

a. Alat pembuat serbuk: *blender* dan ayakan.

b. Alat untuk penyarian: seperangkat alat maserasi berupa *beker glass* dan *magnetic strirer*

c. Alat uji mikrobiologi: tabung reaksi steril, cawan petri, *mikro pipet*, autoklaf, inkubator, lampu bunsen, rak tabung, ose steril, mikroskop dan alat-alat gelas yang di sterilkan.

d. Alat uji kromatografi lapis tipis: bejana pengembang, pipa kapiler, lempeng KLT dan lampu UV 254 nm dan 366 nm.

2. Bahan yang digunakan

a. Bahan utama: bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar yang telah dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung dari tanaman *Clausena excavata* Burm. f.

b. Bahan untuk penyarian: adalah etanol 80 %.

c. Bahan untuk fraksinasi: adalah petroleum eter, kloroform, dan air

d. Bahan untuk uji mikrobiologi: yang dipergunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, jamur *Candida albicans*, media nutrien agar, media Sabouroud, *nutrient broth*, fenol, dan DMSO.

e. Bahan untuk uji kromatografi lapis tipis: Fase diam: silika gel GF_{254}; fase gerak: n-heksana–etil asetat (3:1 $^{v}/_{v}$), metanol-amoniak- air (5:1:1 $^{v}/_{v}$); deteksi: UV 254 nm, UV 366 nm; pereaksi semprot Dragendorff, anisaldehid-asam sulfat, dan vanilin-asam sulfat.

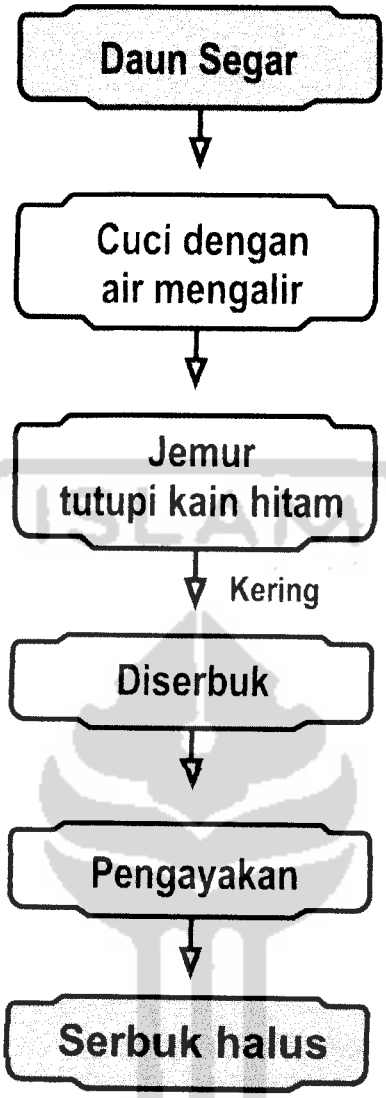
B. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman *Clausena excavata*, Burm. f.

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Farmasi Universitas Gadjah Mada dengan berpedoman pada buku "*Flora Voor de Scholen in Indonesia*" karangan Van Steenis dan buku "*Flora of Java*" karangan Backer & Bakhuizen van den Brink.

2. Penyiapan serbuk

Daun segar dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air bersih yang mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari secara tidak langsung yang ditutupi dengan kain hitam. Proses pengeringan tidak memiliki batasan waktu tertentu tergantung dari intensitas panas matahari. Kekeringan bisa terlihat dengan cara peremasan daun dengan tangan, apabila pada saat diremas menjadi hancur menandakan bahwa daun sudah dapat untuk dilakukan penyerbukan. Setelah kering daun diserbuk dengan menggunakan blender kemudian diayak dengan ayakan (lihat gambar 3).

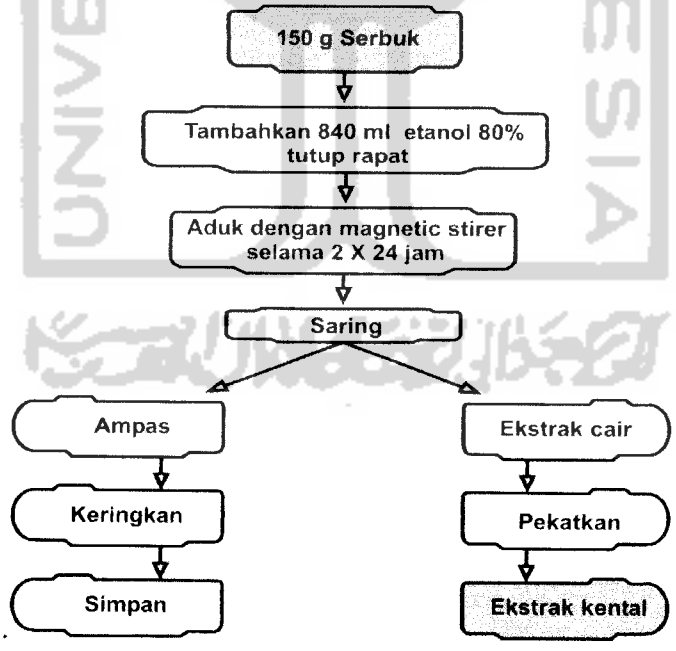


Gambar 3. Skema pembuatan serbuk

3. Penyarian serbuk

Penyarian dilakukan dengan metode maserasi, dimana serbuk tumbuhan ditimbang sebanyak 150 gram, lalu dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam suatu wadah (beker glass 1000 ml). Kedalamnya dimasukkan pelarut etanol 80% sebanyak 840 ml, yang kemudian beker glass ditutup rapat dengan *alumunium*

foil. Selanjutnya pengadukan dilakukan dengan *magnetic stirer* selama 2 kali 24 jam yang yang diletakkan pada ruang yang agak gelap atau terlindung dari sinar matahari langsung. Setelah 2 kali 24 jam atau setelah campuran kelihatan pekat, kemudian disaring dengan kertas saring hingga diperoleh ekstrak cair dan ampas. Ampas dikeringkan dalam lemari pengering dan disimpan dalam wadah plastik. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol yang telah diuapkan hingga pekat digunakan untuk uji pendahuluan aktivitas antibakteri dan antifungi untuk mengetahui dengan pasti bahwa ekstrak daun *Clausena excavata* benar-benar mengandung senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri dan antifungi sekaligus untuk mengetahui kisaran seri kadar terkecil sebagai acuan untuk penentuan seri kadar fraksi fraksi selanjutnya. Skema penyarian serbuk seperti terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Skema penyarian serbuk

4. Uji mikrobiologi

Langkah-langkah yang dilakukan untuk uji mikrobiologi:

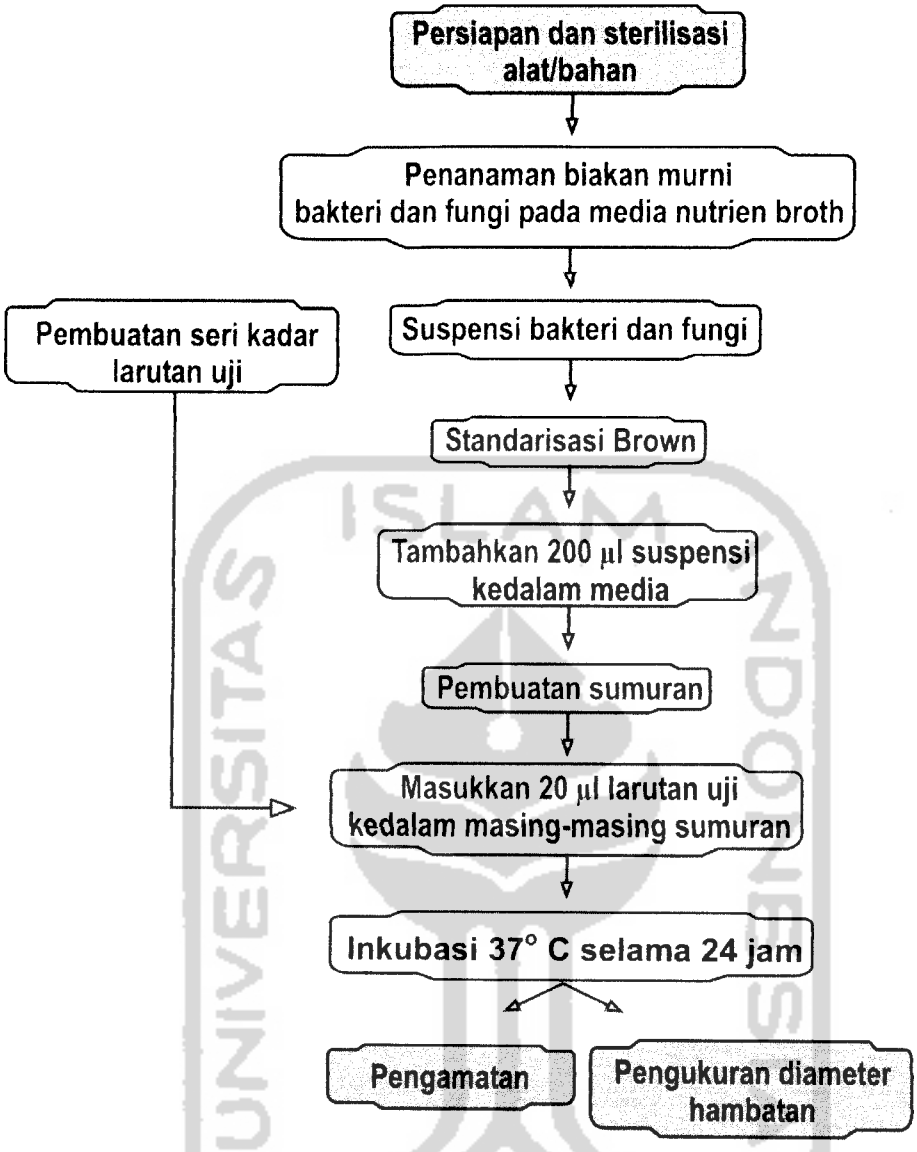
a. Sterilisasi alat: Alat-alat yang digunakan untuk pemeriksaan aktivitas antibakteri dan antifungi di sterilkan dalam autoclaf pada temperatur 121°C selama 15 menit.

b. Penyiapan larutan uji: Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol yang telah diuapkan sampai pekat hingga terbebas dari pelarutnya. Ekstrak etanol dibuat seri kadar kadar 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml dan 25 mg/ml atau jika dihitung dengan prosentase yaitu 20%, 10%, 5%, dan 2,5% dengan menggunakan DMSO 100% sebagai pelarut.

c. Penanaman bakteri dan fungi: Bakteri dan fungi biakan murni diambil sebanyak 1 ose, kemudian ditanam pada media agar miring, di inkubasi pada temperatur 37° C selama 24 jam. Dari hasil inkubasi diambil 1 ose, kemudian di suspensikan pada nutrien broth steril hingga diperoleh suspensi dan di inkubasi pada temperatur 37° C selama 24 jam.

d. Pengujian aktivitas antibakteri dan antifungi: Suspensi bakteri dan fungi yang telah diinkubasi disesuaikan konsentrasinya dengan standar Brown III, yaitu kekeruhan 10^8 CFU/ml. Kemudian ambil 200 µl suspensi bakteri dan fungi dan campurkan kedalam 20 ml media nutrien agar steril untuk bakteri dan media sabouroud steril untuk fungi. Tuang kedalam petri dan biarkan beberapa saat hingga membeku. Pada media yang telah membeku dibuat sumuran dengan diameter 8 mm, kemudian pada masing-masing sumuran masukkan ekstrak etanol masing-masing sebanyak 20 µl dengan

konsentrasi 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml dan 25 mg/ml atau jika dihitung dengan prosentase yaitu 20%, 10%, 5%, dan 2,5%. Sebagai kontrol positif adalah fenol 10% sedang kontrol negatifnya adalah DMSO 100%. Kemudian di inkubasi pada temperatur 37° C selama 24 jam. Hasil uji aktivitas antibakteri diperoleh dengan mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan *S. aureus, E. coli*, dan *C. albicans* didapatkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi yang terlihat dengan adanya zona hambatan pada seluruh sumuran, hal ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dan antifungi pada daun *C. excavata*. Skema uji mikrobiologi seperti terlihat pada gambar 5.



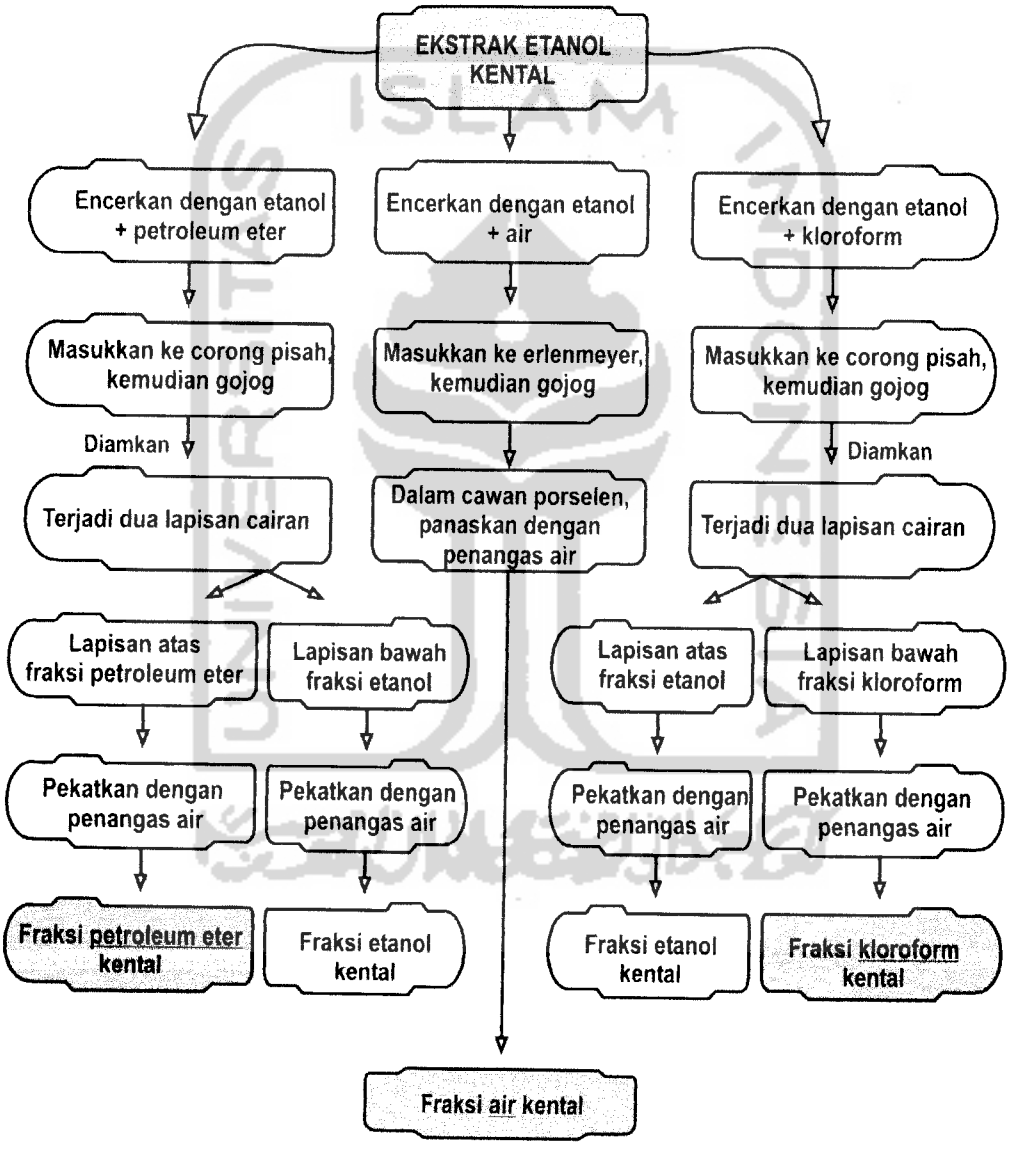
Gambar 5. Skema uji mikrobiologi

5. Fraksinasi

Ekstrak etanol yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi kemudian difraksinasi dengan petroleum eter, kloroform, dan air. Untuk petroleum eter dan kloroform fraksinasi menggunakan corong pisah yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan larutan. Pemisahan didasarkan atas perbedaan berat jenis dan tingkat kepolaran dimana petroleum eter dan kloroform bersifat non polar sehingga berada pada bagian atas larutan. Berbeda dengan etanol yang lebih polar berada pada bagian bawah. Untuk fraksi air didapatkan dengan cara pencampuran ekstrak etanol dengan aquades kemudian dipanaskan dengan penangas air dengan asumsi bahwa jika dipanaskan maka etanol dan kandungan yang berada didalamnya akan lebih mudah menguap sehingga yang tertinggal adalah fraksi air. Cara ini dilakukan karena etanol dan air kurang lebih memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama yang berakibat keduanya akan cenderung untuk homogen sehingga sulit untuk dipisahkan dengan metode corong pisah.

Hasil fraksinasi berupa fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, dan fraksi air kemudian diuapkan hingga pekat. Untuk mengetahui kisaran seri kadar terkecil yang menghambat mikrobia dilakukan uji pendahuluan untuk masing-masing fraksi sehingga didapatkan seri kadar sebagai berikut, masing-masing fraksi dibuat seri kadar berdasarkan jenis mikrobia uji, untuk *S. aureus* yang diujikan dengan fraksi petroleum eter, kloroform, dan air menggunakan seri kadar 25 mg/ml (2,5%), 15 mg/ml (1,5%), 5 mg/ml (0.5%), dan 2,5 mg/ml (0,25%) dengan kontrol positif fenol 10%, dan kontrol negatif DMSO 100%. Pada *E. coli* dan *C. albicans* dibuat seri kadar 200 mg/ml (20%), 100 mg/ml (10%), 50 mg/ml (5%),

dan 25 mg/ml (2,5%), dengan kontrol positif fenol 10% dan kontrol negatif DMSO 100% untuk *E. coli* serta DMSO 50% untuk *C. albicans*. Selanjutnya dilakukan uji aktifitas antibakteri dan antifungi fraksi petroleum eter, kloroform, dan air dengan metode yang sama dengan yang telah diuraikan diatas (pada point 4.d. Pengujian aktifitas antibakteri dan antifungi). Skema fraksinasi dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Skema fraksinasi

6. Uji kandungan senyawa dengan kromatografi lapis tipis

Fraksi paling aktif yang didapat dari ekstrak etanol setelah pengujian aktivitas antibakteri dan antifungi untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yaitu fraksi petroleum eter, sedangkan untuk jamur *C. albicans*, yaitu fraksi kloroform dikeringkan dan dilarutkan kedalam penyarinya semula, kemudian dianalisis kandungan senyawanya dengan kromatografi lapis tipis sebagai berikut:

a. Petroleum eter

1) Fase diam : Silika gel GF_{254}

2) Fase gerak : n-heksana-etil asetat (3:1, $^{v}/_{v}$)

3) Deteksi:

a) Alkaloid : Pereaksi semprot (PS) Dragendorff

b) Flavonoid : UV 366 nm, UV 254 nm

c) Terpenoid : Pereaksi semprot (PS) anisaldehid-asam sulfat, dipanaskan, UV 366 nm.

b. Kloroform

1) Fase diam : Silika gel GF_{254}

2) Fase gerak : Metanol-amoniak-air (5:1:1 $^{v}/_{v}$)

3) Deteksi:

a) Alkaloid : Pereaksi semprot (PS) Dragendorff

b) Flavonoid : UV 254 nm, dan UV 366 nm

c) Terpenoid : Pereaksi semprot (PS) anisaldehid-asam sulfat, dipanaskan, UV 366 nm

Dari ketiga senyawa tersebut dilihat adanya penampakan bercak warna dan fluoresensi, serta penghitungan hRf kemudian dibandingkan pada pustaka yang ada.

C. Analisis Hasil

Dari hasil uji aktivitas antibakteri dan antifungi diukur diameter hambatannya kemudian dianalisis dengan anava satu arah dan korelasi antara kenaikan kadar dan kenaikan hambatan. Dari hasil deteksi kandungan senyawa aktif dengan KLT dicatat harga Rf dan penampakan bercak warna, kemudian dibandingkan pada pustaka yang ada untuk dapat diperkirakan senyawa yang terdapat pada fraksi yang paling aktif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Tanaman yang akan digunakan untuk penelitian di determinasi terlebih dahulu. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menghindari terjadinya kesalahan terhadap tanaman yang akan digunakan. Determinasi dilakukan berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis daun dan mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman dengan kunci-kunci determinasi sesuai petunjuk dari buku "*Flora of Java*" (Backer dan Van den Brink, 1965) dan buku "Voor De Scholen in Indonesia" (Van Steenis, 1949).

Hasil determinasinya adalah:

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15a - 109b - 119b - 120b - 128b - 129a - 135b - 136b - 139b - 140b - 142b - 143b - 146a - 147b - 150a (*Rutaceae*)

1b - 2b - 5b - 9b - 11b - 18b - 20b - 21a - 22b (*Clausena*)

2b (*Clausena excavata* Burm. f.)

Dari hasil determinasi diketahui bahwa sampel yang akan digunakan dalam penelitian adalah tanaman *Clausena excavata* Burm. f.

B. Penyiapan Bahan Utama

Daun *Clausena excavata* yang digunakan untuk penelitian diperoleh dari daerah Sleman Jogjakarta pada bulan September 2003. Untuk menghindari variasi kandungan kimia tanaman yang terlalu besar yang disebabkan perbedaan kondisi iklim dan lingkungan maka daun *Clausena excavata* dikumpulkan dari daerah dan waktu yang sama. Pengumpulan bahan juga sebaiknya dilakukan pada saat yang tepat. Daun yang diambil adalah daun yang telah dewasa, tidak terlalu tua, dan berada di bagian cabang yang terkena sinar matahari langsung sehingga diharapkan kandungan senyawa aktifnya paling tinggi.

Daun *Clausena excavata* dikumpulkan, di cuci bersih dengan air mengalir guna menghilangkan kotoran yang melekat pada tanaman, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam untuk mencegah terjadinya perubahan kimia akibat sinar matahari langsung. Pengeringan dimaksudkan untuk menghilangkan kelembaban dan mencegah terjadinya proses penjamuran, reaksi enzimatis, dan pembusukan tumbuhan. Berat daun sebelum dijemur adalah 500 gram, setelah penjemuran bobot turun menjadi 155 gram.

Daun yang telah kering kemudian diserbuk dengan blender dan diayak dengan ayakan. Tujuan dari penyerbukan adalah untuk memperkecil ukuran partikel bahan sebab semakin kecil ukuran partikel maka luas permukaan bahan yang kontak dengan pelarut akan semakin besar sehingga diharapkan proses penyarian akan berjalan secara optimal dan kandungan kimia yang terekstraksi akan lebih sempurna. Berat serbuk yang diperoleh adalah 159 gram.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

C. Penyarian Dengan Maserasi

Maserasi (*macerare* = mengairi, melunakkan) adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perbedaan warna) dan dikocok kembali. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Hasil ekstraksi disimpan dalam kondisi dingin selama beberapa hari, lalu cairannya dituang dan disaring (Voigt, 1995).

Penyarian dilakukan dengan metode maserasi, dimana serbuk tumbuhan ditimbang sebanyak 150 gram, lalu dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam suatu wadah (*beker glass* 1000 ml). Kedalamnya dimasukkan pelarut etanol 80% sebanyak 840 ml, diaduk sampai merata kemudian *beker glass* ditutup rapat dengan *alumunium foil*. Etanol 80% artinya kandungan etanol adalah 80% dari 100 ml larutan, sisanya 20% adalah air. Penggunaan etanol 80% dimaksudkan agar terdapat kandungan air yang optimal (20%) agar lebih mudah terjadinya penyerapan kedalam serbuk oleh air dan senyawa yang terkandung didalamnya terekstraksi kedalam etanol, sehingga proses penyarian akan lebih sempurna. Selanjutnya pengadukan dilakukan dengan bantuan *magnetic stirer* selama 2 kali 24 jam yang diletakkan pada ruang yang agak gelap atau terlindung dari sinar matahari langsung. Setelah 2 kali 24 jam atau setelah campuran kelihatan pekat, kemudian disaring dengan kertas saring hingga diperoleh ekstrak cair dan ampas.

Ampas dikeringkan dalam lemari pengering dan disimpan dalam wadah plastik. Hasil yang diperoleh dari 840 ml pelarut adalah 810 ml ekstrak cair, setelah dipekatkan berat ekstrak kental menjadi 9,05 gram. Berat serbuk/ampas basah setelah pemerasan menjadi 160 gram, dan setelah dikeringkan dalam lemari pengering menjadi 145 gram. Jadi rendemen yang didapatkan adalah 6,03%.

Proses penyarian dengan maserasi disini dilakukan dengan pengadukan secara terus-menerus dengan *magnetic stirer* bertujuan untuk mempercepat proses maserasi. Dengan pengadukan berkelanjutan permukaan partikel serbuk akan tetap terbasahi oleh larutan penyari, sehingga kandungan senyawa dapat terserap secara lebih cepat dan lebih banyak. Berbeda dengan maserasi yang dilakukan hanya dengan perendaman dengan sesekali diaduk maka proses penyerapan senyawa dalam serbuk akan lebih lama. Ini merupakan modifikasi dari penyarian dengan metode maserasi.

Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol yang telah diuapkan hingga pekat digunakan untuk uji pendahuluan aktivitas antibakteri dan antifungi untuk mengetahui dengan pasti bahwa ekstrak daun *Clausena excavata* benar-benar mengandung senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri dan antifungi sekaligus untuk mengetahui kisaran seri kadar terkecil sebagai acuan untuk penentuan seri kadar fraksi fraksi selanjutnya.

D. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antifungi Ekstrak Etanol

Pemeriksaan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan diameter 8 mm dan volume ekstrak 20,0 µl tiap sumuran. Pemeriksaan ini merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus, E. coli, dan C. albicans*. Ekstrak etanol yang telah diuapkan hingga kental dibuat berbagai macam seri kadar yaitu 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, dan 25 mg/ml dengan pelarut menggunakan DMSO 100%.

Pada penelitian digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan sebagai pembanding daya antibakteri dan antifungi, sedangkan kontrol negatif digunakan sebagai pembanding pelarut yang bertujuan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri atau tidak. Untuk kontrol positif digunakan fenol 10%, karena merupakan salah satu golongan antiseptika yang dapat membunuh sel bakteri melalui proses denaturasi protein dan perusakan dinding sel, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan DMSO 100% , karena selain dapat melarutkan masing-masing ekstrak juga tidak memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi terhadap *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*.

Dari uji aktivitas antibakteri dan antifungi ekstrak etanol dengan kadar (mg/ml) 200, 100, 50, dan 25 diperoleh hasil pada mikrobia uji *S. aureus* dan *E. coli* serta jamur *C. albicans* menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya zona jernih (radikal) disekitar sumuran.

E. Fraksinasi Ekstrak Etanol

Ekstrak etanol yang merupakan ekstrak aktif bersifat lebih semi polar. Tidak tertutup kemungkinan di dalam ekstrak etanol tersebut masih terdapat senyawa-senyawa polar atau non polar. Untuk itu dilakukan fraksinasi menggunakan petroleum eter, kloroform, dan air yang ditandai dengan memisahnya larutan menjadi dua lapisan. Untuk fraksinasi petroleum eter dilakukan dengan corong pisah, dimana didapatkan dua lapisan cairan, yaitu lapisan atas adalah fraksi petroleum eter dan lapisan bawah adalah fraksi etanol. Dasar kerja fraksinasi dengan corong pisah adalah adanya perbedaan tingkat kepolaran masing-masing fraksi (pelarut), dimana pelarut yang lebih polar akan berada pada lapisan paling bawah. Selain itu, perbedaan berat jenis pelarut yang juga juga menentukan pemisahan pelarut. Berat jenis yang lebih kecil biasanya akan berada pada lapisan atas. Berat jenis petroleum eter lebih kecil dari etanol sehingga berada pada lapisan atas

Pada fraksinasi kloroform juga dilakukan dengan cara yang sama dengan fraksinasi petroleum eter, dimana hasilnya adalah lapisan atas adalah fraksi etanol dan lapisan bawah adalah fraksi kloroform. Berat jenis kloroform lebih besar dari etanol sehingga berada pada lapisan bawah.

Pada fraksinasi air karena sulitnya dilakukan pemisahan dengan metode corong pisah sehingga fraksi air didapatkan dengan cara pencampuran ekstrak etanol dengan aquades kemudian dilakukan pemanasan di penangas air dengan asumsi bahwa fraksi etanol lebih mudah menguap dibanding fraksi air, sehingga didapatkan fraksi air setelah seluruh fraksi etanol menguap.

Cara ini dilakukan karena etanol dan air kurang lebih memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama yang berakibat keduanya akan cenderung untuk homogen sehingga sulit untuk dipisahkan dengan metode corong pisah

Maksud dari fraksinasi adalah untuk lebih memisahkan kandungan kimia yang bersifat polar dengan kandungan kimia yang relatif non polar pada suatu sampel sehingga akan mempermudah identifikasi suatu senyawa nantinya.

F. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antifungi Fraksi Petroleum Eter, Kloroform, Dan Air

Hasil fraksinasi berupa fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, dan fraksi air dibuat seri kadar sesuai dengan kisaran seri kadar yang didapatkan pada uji pendahuluan ekstrak etanol. Jika pada kadar terkecil masih memperlihatkan zona hambatan yang besar maka dibuat seri kadar baru dengan range kadar terendah pada uji pendahuluan ekstrak etanol digunakan sebagai kadar tertinggi pada kisaran seri kadar yang baru untuk masing-masing fraksi. Cara ini dilakukan terus menerus sampai didapatkan kadar terendah yang menghasilkan zona hambatan terkecil atau bahkan tanpa ada zona hambatan disekitar sumuran. Pada tahap selanjutnya kisaran seri kadar yang didapatkan digunakan untuk melakukan uji lanjutan pada setiap fraksi. Seri kadar yang didapatkan berbeda untuk masing-masing fraksi dan setiap mikrobia uji

Untuk *S. aureus* yang diujikan dengan fraksi petroleum eter, kloroform, dan air dibuat seri kadar 25 mg/ml (2,5%), 15 mg/ml (1,5%), 5 mg/ml (0.5%), dan 2,5 mg/ml (0,25%) dengan kontrol positif fenol 10%, dan kontrol negatif DMSO

100%. Dari uji antibakteri *S. aureus* didapatkan bahwa semua fraksi dan semua seri kadar menunjukkan hasil yang positif yang ditandai dengan adanya zona jernih (radikal) pada tiap sumuran yang diisi larutan uji, dengan hambatan terbesar pada fraksi petroleum eter. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petroleum eter, kloroform, dan air terhadap bakteri *S. aureus* dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petoleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap bakteri *S. aureus*.

Kadar (%)	Diameter Hambatan (mm)*											
	Fraksi Petroleum Eter				Fraksi Kloroform				Fraksi Air			
	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD
2,5	9,50	9,82	9,66	9,66 ± 0,16	8,90	8,40	8,80	8,70 ± 0,26	8,80	9,20	8,88	8,96 ± 0,21
1,5	9,40	9,70	9,60	9,56 ± 0,14	8,68	8,38	8,50	8,52 ± 0,15	8,72	9,18	8,70	8,86 ± 0,27
0,5	8,65	8,85	8,50	8,66 ± 0,17	8,54	8,30	8,46	8,43 ± 0,12	8,64	9,10	8,48	8,74 ± 0,32
0,25	8,20	8,10	8,41	8,23 ± 0,15	8,12	8,18	8,20	8,16 ± 0,01	8,40	9,00	8,40	8,60 ± 0,34
K+ (Fenol)	14,10	14,64	14,74	14,49 ± 0,34	11,40	11,72	11,40	11,50 ± 0,18	12,96	12,16	12,28	12,46 ± 0,35
K– (DMSO 100%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Termasuk diameter sumuran (8 mm)

Pada *E. coli* yang diujikan dengan fraksi petroleum eter, kloroform, dan air dibuat seri kadar 200 mg/ml (20%), 100 mg/ml (10%), 50 mg/ml (5%), dan 25 mg/ml (2,5%), dengan kontrol positif fenol 10% dan kontrol negatif DMSO 100% untuk masing-masing fraksi. Dari uji terhadap bakteri *E. coli* didapatkan hasil

positif yang ditandai dengan adanya zona jernih (radikal) pada tiap sumuran untuk semua fraksi. Pada fraksi air dengan kadar 2,5% didapatkan hasil yang negatif. Ini terjadi karena pada kadar 2,5% fraksi air tidak dapat menghambat bakteri akibat terlalu kecilnya kadar. Sehingga dapat dikatakan bahwa kadar terkecil yang dapat menghambat bakteri *E. coli* pada fraksi air adalah 5%. Dari uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa fraksi petroleum eter memiliki hambatan yang paling besar. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petroleum eter, kloroform, dan air terhadap bakteri *E. coli* dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petoleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap bakteri. *E. coli*.

Kadar (%)	Diameter Hambatan (mm)*											
	Fraksi Petroleum Eter				Fraksi Kloroform				Fraksi Air			
	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD
20	13,12	13,10	13,00	13,14 ± 0,06	11,00	10,00	9,30	10,10 ± 0,85	9,02	9,50	9,70	9,40 ± 0,34
10	12,40	12,32	12,38	12,36 ± 0,04	10,80	8,50	8,80	9,36 ± 1,25	9,00	9,18	8,70	8,96 ± 0,24
5	11,44	11,36	11,36	11,38 ± 0,04	8,66	8,44	8,50	8,53 ± 0,11	8,80	8,20	8,40	8,46 ± 0,30
2,5	11,24	11,10	11,20	11,18 ± 0,07	8,40	8,40	8,40	8,40 ± 0,00	-	-	-	-
K + (Fenol)	14,10	14,16	14,06	14,10 ± 0,05	12,08	12,70	12,32	12,36 ± 0,31	12,96	13,64	13,24	13,38 ± 0,34
K– (DMSO 100%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Termasuk diameter sumuran (8 mm)

Pada uji terhadap jamur *C. albicans* dengan fraksi petroleum eter, kloroform, dan air dibuat seri kadar 200 mg/ml (20%), 100 mg/ml (10%), 50 mg/ml (5%), dan 25 mg/ml (2,5%), dengan kontrol positif fenol 10% dan kontrol negatif DMSO 50%. Penggunaan DMSO 50% karena pada uji pendahuluan untuk masing masing fraksi ternyata menunjukkan adanya aktifitas pada kontrol negatif, ini menunjukkan bahwa kadar DMSO yang terlalu besar hingga dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*, sehingga untuk mencegah terjadinya aktifitas pada kontrol negatif dilakukan orientasi kadar DMSO dengan pengujian metode sumuran menggunakan seri kadar 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Dengan hasil pada kadar 50% tidak ada aktivitas penghambatan. Oleh karena itu untuk *C. albicans* digunakan DMSO 50% untuk kontrol negatifnya.

Dari uji antifungi terhadap *C. albicans* didapatkan bahwa semua fraksi dan semua seri kadar menunjukkan hasil yang positif yang ditandai adanya zona jernih (radikal) disekitar sumuran, dengan hambatan terbesar pada fraksi kloroform. Hasil uji aktivitas antifungi fraksi petroleum eter, kloroform, dan air terhadap jamur *C. albicans* dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel III.

Dilihat dari hambatan kadar tertinggi fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, serta fraksi kloroform terhadap *C. albicans* yang dibandingkan dengan hambatan pada kontrol positif fenol 10% pada masing-masing fraksi dan mikrobia ternyata terdapat hasil yang berbeda bermakna (hambatan kontrol positif lebih besar dari hambatan kadar tertinggi masing-masing fraksi) artinya setiap kadar tertinggi fraksi belum mampu melebihi kemampuan fenol sebagai senyawa antimikrobia. Hasil uji T testnya dapat dilihat pada lampiran 14,15, dan 16.

Tabel III. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi petoleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* terhadap jamur *C. albicans*

Kadar (%)	Diameter Hambatan (mm)*											
	Fraksi Petroleum Eter				Fraksi Kloroform				Fraksi Air			
	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD	I	II	III	Rerata ± SD
20	9,40	8,60	9,68	9,22 ± 0,56	10,62	10,66	11,00	10,76± 0,20	8,68	10,46	10,24	9,79± 0,97
10	9,30	8,50	8,90	8,90 ± 0,40	10,56	10,60	10,40	10,52 ± 0,10	8,50	9,86	10,20	9,52 ± 0,89
5	9,00	8,44	8,82	8,75 ± 0,28	9,96	9,98	10,00	9,98 ± 0,02	8,08	9,84	9,72	9,18 ± 0,98
2,5	8,84	8,14	8,76	8,58 ± 0,38	8,46	8,40	8,50	8,45 ± 0,05	8,00	8,50	8,48	8,32 ± 0,28
K + (Fenol)	18,42	17,82	18,00	18,08 ± 0,30	19,32	19,16	19,36	19,28 ± 0,10	18,92	19,72	18,88	19,17 ± 0,47
K– (DMSO 50%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Termasuk diameter sumuran (8 mm)

Hasil uji aktivitas antimikrobia fraksi petroleum eter, kloroform, dan air daun *Clausena excavata* menunjukkan zona radikal pada tiap sumuran. Zona radikal terbentuk karena mikrobia dibunuh oleh senyawa antimikrobia. Proses pembunuhan mikrobia oleh antibakteri terjadi dengan banyak cara antara lain dengan perusakan dinding sel, denaturasi protein, mengganggu permeabilitas sel, koagulasi sel. Jika dikaitkan dengan kandungan senyawa dalam daun *Clausena excavata* kemungkinan mengandung golongan senyawa yang bersifat membunuh mikrobia. Apabila ditinjau lebih jauh penggunaan dalam bidang kesehatan maka fraksi aktif daun *Clausena excavata* dapat digunakan sebagai antibiotik. Namun

hal ini juga dikaitkan dengan kadar yang diperlukan untuk pembunuhan antimikrobia, oleh karena itu dilakukan analisis secara statistik unntuk mengetahui hubungan antara kenaikan kadar dengan kenaikan hambatan, dan nilai signifikansi antara kadar dengan diameter hambatan.

Setelah dilakukan uji aktifitas antibakteri dan antifungi untuk masing-masing fraksi kemudian dilakukan analisis secara statistik untuk mengetahui mengetahui korelasi antara kenaikan kadar dengan kenaikan diameter hambatan untuk setiap fraksi. Dari uji korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus* terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kenaikan kadar dengan kenaikan diameter hambatan. Artinya pada seri kadar tersebut masih menunjukkan aktivitas yang hampir sama, dan jika salah satu kadar dari seri kadar tersebut diujikan terhadap *S. aureus* maka aktifitasnya dapat mewakili ketiga seri kadar lainnya. Untuk selanjutnya jika dilakukan pengembangan atau formulasi kedalam sediaan obat maka salah satu kadar dalam kisaran seri kadar tersebut sudah dapat mewakili kadar lainnya.Hasil uji korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada lampiran 14.

Uji korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *E. coli* juga menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Berarti seri kadar tersebut masih menunjukkan aktivitas yang hampir sama, dan jika salah satu kadar dari seri kadar tersebut diujikan terhadap *E. coli* maka aktifitasnya dapat mewakili ketiga seri kadar lainnya. Hasil uji korelasi antara kenaikan kadar

dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *E. coli* dapat dilihat pada lampiran 15.

Begitu pula dengan uji korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi kloroform terhadap *C. albicans* juga menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Berarti seri kadar tersebut masih menunjukkan aktivitas yang hampir sama, dan jika salah satu kadar dari seri kadar tersebut diujikan terhadap *C. albicans* maka aktifitasnya dapat mewakili ketiga seri kadar lainnya. Hasil uji korelasi antara kenaikan kadar dengan diameter hambatan fraksi kloroform terhadap *C. albicans* dapat dilihat pada lampiran 16.

Pada uji anava satu jalan diketahui adanya perbedaan bermakna antara konsentrasi fraksi petroleum eter dengan rata-rata diameter hambatan pada bakteri *S. aureus*, artinya pada konsentrasi tersebut memang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Begitu pula pada fraksi petroleum eter terhadap bakteri *E. coli*. Terdapat perbedaan bermakna konsentrasi fraksi petroleum eter dengan rata-rata diameter hambatan pada bakteri *E. coli*, yang berarti pada konsentrasi tersebut memang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Pada konsentrasi fraksi kloroform dengan rata-rata diameter hambatan pada jamur *C. albicans* diketahui terdapat perbedaan bermakna yang artinya pada konsentrasi tersebut memang mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Hasil uji anava konsentrasi fraksi-fraksi terhadap mikrobia dengan diameter hambatannya dapat dilihat pada tabel IV atau pada lampiran 14,15, dan 16.

Tabel IV. Hasil uji anava konsentrasi fraksi-fraksi terhadap mikrobia dengan diameter hambatannya

Fraksi v Mikrobia	F hitung	Nilai Signifikan
Petroleum eter terhadap *S. aureus*	55,201	0,00
Peroleum eter terhadap *E. coli*	707,593	0,00
Kloroform terhadap *C. albicans*	233,097	0,00

Karena pada ketiga mikrobia tersebut terdapat perbedaan bermakna maka analisis dilanjutkan dengan uji Tukey. Uji Tukey dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing konsentrasi dalam satu fraksi terhadap besarnya diameter hambatan.

Hasil uji Tukey dari fraksi petroleum eter untuk bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa kenaikan diameter hambatan antara kadar 2,5% dengan kadar 1,5% tidak terdapat perbedaan bermakna, sedangkan antara kadar 2,5% dengan kadar 0,5% dan 0,25% terdapat perbedaan bermakna. Terdapat perbedaan bermakna antara kadar 1,5% dengan kadar 0,5% dan 0,25%. Terdapat perbedaan bermakna antara kadar 0,5% dengan kadar 0,25%. Ini menunjukkan bahwa kenaikan diameter hambatan antara kadar 1,5% dengan 2,5% tidak terlalu jauh berbeda atau hampir sama. Sedangkan pada kadar yang lainnya kenaikan diameter hambatan memiliki perbedaan yang nyata. Hasil uji Tukey kenaikan kadar dengan diameter hambatan fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada lampiran 14.

Hasil uji Tukey dari fraksi petroleum eter untuk bakteri *E. coli* menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara seluruh konsentrasi. Pada kadar

20% terdapat perbedaan bermakna dengan kadar 10%, 5%, dan 2,5%. Pada kadar 10% terdapat perbedaan bermakna dengan kadar 5%, dan 2,5%. Pada kadar 5% terdapat perbedaan bermakna dengan kadar 2,5%. Ini berarti pada setiap kenaikan kadar pada fraksi petroleum eter menunjukkan kenaikan diameter hambatan yang nyata pada bakteri *E. coli*. Hasil uji Tukey kenaikan kadar dengan diameter hambatan fraksi petroleum eter terhadap *E. coli* dapat dilihat pada lampiran 15.

Hasil uji Tukey dari fraksi kloroform untuk jamur *C. albicans* menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar 20% dengan konsentrasi 10%. Sedangkan pada kadar 20% dengan kadar 5% dan 2,5% terdapat perbedaan bermakna. Pada kadar 10% dengan kadar 5% dan 2,5% terdapat perbedaan bermakna, dan pada kadar 5% dengan kadar 2,5% terdapat perbedaan bermakna. Ini berarti bahwa pada kenaikan diameter hambatan antara kadar 10% dengan 20% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, sedangkan pada kadar lainnya kenaikan diameter hambatan menunjukkan perbedaan yang nyata. Hasil uji Tukey kenaikan kadar dengan diameter hambatan fraksi kloroform terhadap *C. albicans* dapat dilihat pada lampiran 16.

Dari hasil uji aktivitas antibakteri dan antifungi fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, dan fraksi air diatas diperoleh bahwa bakteri *S. aureus* dan *E. coli* hambatan terbesar terjadi pada fraksi petroleum eter. Sedangkan pada jamur *C. albicans* hambatan terbesar terjadi pada fraksi kloroform. Sehingga untuk pemeriksaan kandungan senyawa aktif dilakukan pada fraksi petroleum eter dan fraksi kloroform, sedangkan pada fraksi air tidak dilakukan pemeriksaan kandungan senyawa aktif karena hambatan yang dibentuk tidak sebesar pada

fraksi petroleum eter maupun kloroform baik pada *S. aureus, E. coli,* dan *C. albicans.* Sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi yang paling aktif terhadap *S. aureus,* dan *E. coli* adalah fraksi petroleum eter, sedangkan fraksi yang paling aktif pada *C. albicans* adalah fraksi kloroform. Pemerikasaan senyawa aktif pada fraksi paling aktif dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

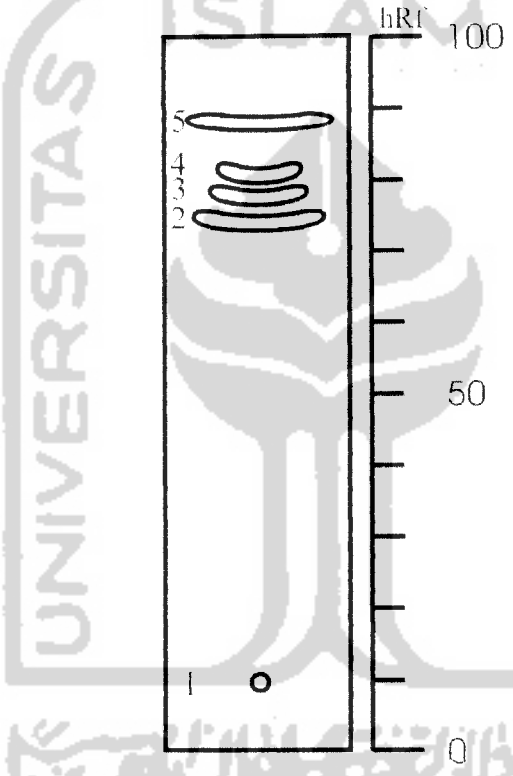
G. Uji Kandungan Senyawa Dengan KLT

Untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung di dalam fraksi petroleum eter dan fraksi kloroform, dilakukan deteksi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis. Uji ini dilakukan hanya untuk fraksi yang paling aktif sesuai dengan uji antimikrobia sebelumnya. Pada uji ini digunakan fase diam dan fase gerak yang sesuai sehingga dapat memberikan warna bercak yang dapat dideteksi dengan sinar tampak, UV 254, UV 366 dan pereaksi semprot yang spesifik. Golongan senyawa yang diteliti yaitu alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Adapun uji KLTnya adalah sbb:

1. Identifikasi alkaloid

Untuk senyawa golongan alkaloid dideteksi pada fraksi kloroform dengan fase diam silika gel GF_{254}, fase gerak metanol-amoniak-air (5:1:1 $^{v}/_{v}$) disemprot dengan pereaksi Dragendorff dan dideteksi dengan sinar tampak. Dari kromatogram dapat dilihat pada fraksi kloroform terdapat bercak berwarna orange. Menurut Wagner, *et al*,. (1984) alkaloid dapat dideteksi menggunakan pereaksi semprot Dragendorf dimana akan terlihat seketika warna cokelat atau orange (sindur) warna tidak stabil. Dari hasil uji KLT yang diperoleh kemudian

dibandingkan dengan pustaka yang ada diduga bahwa pada fraksi kloroform daun *Clausena excavata* yang diteliti mengandung senyawa golongan alkaloid. Pada fraksi petroleum eter setelah dideteksi dengan pereaksi Dragendorff ternyata tidak terdapat warna orange, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada fraksi petroleum eter tidak terdapat senyawa golongan alkaloid. Kromatogram hasil deteksi alkaloid pada fraksi kloroform dapat dilihat pada gambar 7. Perhitungan hRf dan warna bercak dapat dilihat pada tabel V.



PS. Dragendorff F. Kloroform

Gambar 7. Kromatogram deteksi kandungan senyawa alkaloid fraksi kloroform daun *Clausena excavata*

Keterangan	Fase diam	: Silika gel GF_{254}
	Fase gerak	: Metanol-amoniak-air (5:1:1 $^{v}/_{v}$)
	Pereaksi semprot	: Dragendorff
	Deteksi	: Sinar tampak/visual

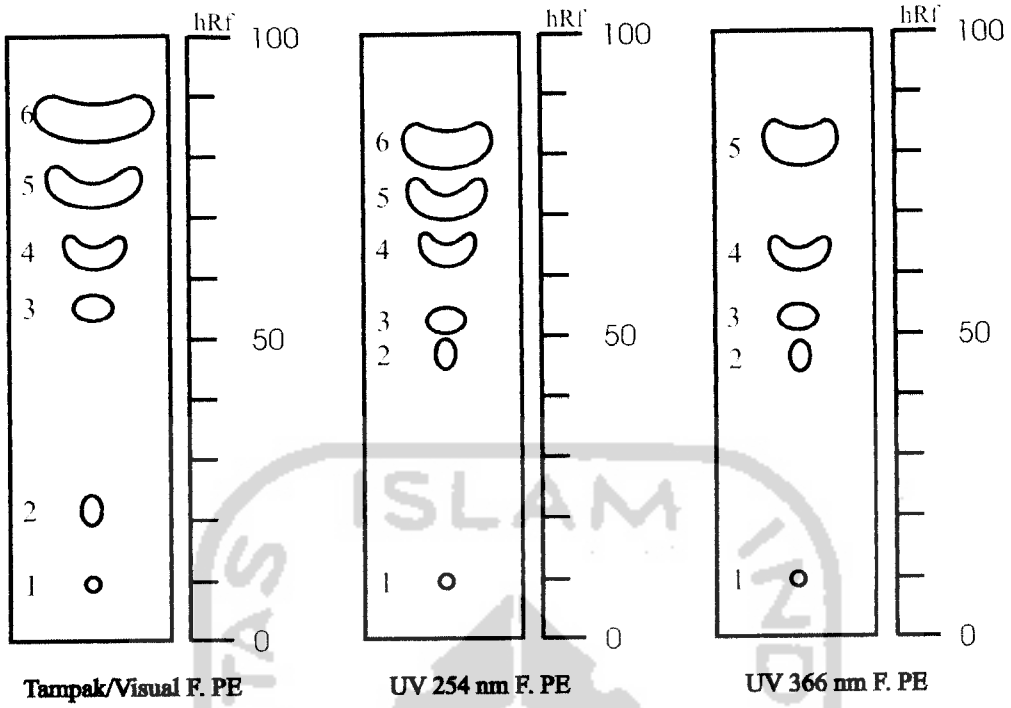
Tabel V. Hasil uji KLT fraksi kloroform daun *Clausena excavata* terhadap senyawa alkaloid

Bahan	No	Rf	hRf	Tampak (Visual)
Fraksi Kloroform	1	0,10	10	C
	2	0,74	74	Ck
	3	0,78	78	A
	4	0,82	82	Ck
	5	0,89	89	O

Keterangan: A = Abu C = Cokelat
Ck = Cokelat kuning O = Orange

2. Identifikasi flavonoid

Untuk senyawa golongan flavonoid digunakan fase diam silika gel F_{254}, fase gerak n-heksan – etil asetat (3:1 $^{v}/_{v}$) dan dideteksi dengan sinar tampak, UV 254 nm, dan UV 366 nm. Dari kromatogram dapat dilihat pada fraksi petroleum eter terdapat beberapa bercak berwarna kuning, pada UV 254 nm tampak warna biru tua (ungu) dilatar belakang warna hijau, pada UV 366 nm berpendar warna biru. Menurut Wagner, *et al*,. (1984) flavonoid dapat dideteksi menggunakan warna kuning kehijauan pada sinar tampak, berwarna biru tua (ungu) pada UV 254 nm, dan berpendar biru pada UV 366 nm. Dari hasil uji KLT yang diperoleh dan dibandingkan dengan pustaka yang ada diduga bahwa pada fraksi petoleum eter mengandung senyawa golongan flavonoid, sedangkan pada fraksi kloroform tidak mencirikan adanya senyawa flavonoid. Kromatogram hasil deteksi flavonoid fraksi petroleum eter daun *C. excavata* dapat dilihat pada gambar 8. Perhitungan hRf dan warna bercak dapat dilihat pada tabel VI, VII, VIII.



Gambar 8. Kromatogram deteksi kandungan senyawa flavonoid fraksi petroleum eter daun *Clausena excavata*

Keterangan
Fase diam : Silika gel GF_{254}
Fase gerak : n-heksana-etil asetat (3:1)
Pereaksi semprot : -
Deteksi : Sinar tampak/visual, UV 254 nm, dan UV 366 nm

Tabel VI. Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid deteksi sinar tampak/visual

Bahan	No	Rf	hRf	Tampak (Visual)
Fraksi Petroleum eter	1	0,10	10	Hk
	2	0,22	22	H
	3	0,54	54	K
	4	0,63	63	Hk
	5	0,75	75	H
	6	0,88	88	K

Keterangan: B = Biru C = Cokelat H = Hijau
Hk = Hijau kuning K = Kuning Kt = Kuning tua

Tabel VII. Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid deteksi UV 254 nm.

Bahan	No	Rf	hRf	UV 254 nm
Fraksi Petroleum eter	1	0,10	10	Ct
	2	0,47	47	K
	3	0,52	52	Bh
	4	0,63	63	K
	5	0,72	72	Bm
	6	0,83	83	B

Keterangan: B = Biru Bh = Biru hitam Bm = Biru muda
Ct = Cokelat tua K = Kuning

Tabel VIII. Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa flavonoid dengan deteksi UV 366 nm.

Bahan	No	Rf	hRf	UV 366 nm
Fraksi Petroleum eter	1	0,10	10	Bh
	2	0,47	47	Bh
	3	0,53	53	Bh
	4	0,63	63	Bh
	5	0,83	83	B

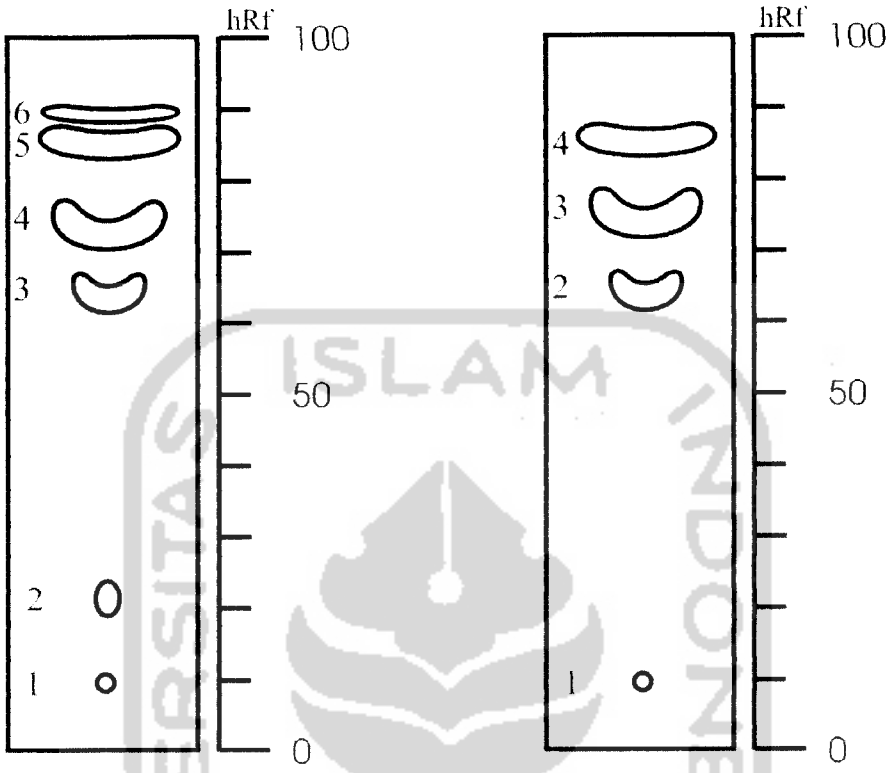
Keterangan: B = Biru Bh = Biru hitam

3. Identifikasi terpenoid

Untuk senyawa golongan terpenoid digunakan fase diam silika gel F_{254}, fase gerak n-heksana-etil asetat (3:1 $^{v}/_{v}$) untuk fraksi petroleum eter dan Metanol-amoniak-air (5:1:1 $^{v}/_{v}$) untuk fraksi kloroform. Deteksi menggunakan pereaksi semprot anisaldehid-asam sulfat dan vanilin-asam sulfat. Dari kromatogram dapat dilihat pada fraksi kloroform beberapa bercak berwarna biru, ungu, dan biru ungu setelah penyemprotan pereaksi.

Menurut Harborne (1996) dan Wagner, *et al.*, (1984) pereaksi semprot anisaldehid-asam sulfat dan vanilin-asam sulfat pada deteksi senyawa golongan terpenoid dapat memberikan bercak warna biru, ungu, biru hijau, merah, merah abu-abu.

Dari hasil uji KLT yang diperoleh dan dibandingkan dengan pustaka yang ada diduga bahwa pada daun *Clausena excavata* yang diteliti mengandung senyawa golongan terpenoid. Kromatogram untuk fraksi petroleum eter dapat dilihat pada gambar 9, sedangkan perhitungan hRf dan warna bercak dapat dilihat pada tabel IX dan X. Untuk kromatogram fraksi kloroform dapat dilihat pada gambar 10, dan perhitungan hRf dan warna bercak dapat dilihat pada tabel XI.



PS. Anisaldehid:As.Sulfat
F.PE Tampak/Visual

PS. Anisaldehid:As.Sulfat
F.PE UV 366 nm

Gambar 9. Kromatogram deteksi kandungan senyawa terpenoid fraksi petroleum eter daun *Clausena excavata*

Keterangan
Fase diam : Silika gel GF_{254}
Fase gerak : n-heksana : etil asetat (3:1 $^{v}/_{v}$)
Pereaksi semprot : Anisaldehid-asam sulfat
Deteksi : Sinar tampak/visual dan UV 366 nm

Tabel IX. Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi sinar tampak/visual

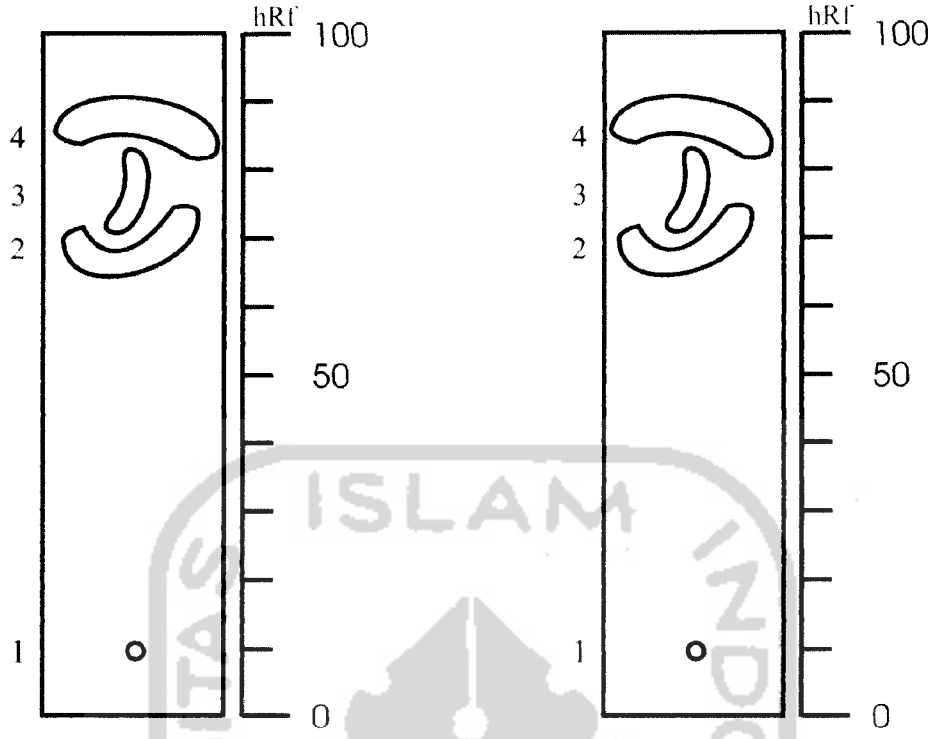
Bahan	No	Rf	hRf	Tampak/ visual
Fraksi Petroleum eter	1	0,10	0	A
	2	0,21	21	A
	3	0,64	64	At
	4	0,73	73	Ah
	5	0,86	86	At
	6	0,89	89	Ah

Keterangan: A = Abu Ah = Abu hijau At = Abu tua

Tabel X. Hasil uji KLT fraksi pertroleum eter daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi UV 366 nm.

Bahan	No	Rf	hRf	UV 366 nm
Fraksi Petroleum eter	1	0,10	0	B
	2	0,64	64	B
	3	0,74	74	Bc
	4	0,87	86	B

Keterangan: B = Biru Bc = Biru cokelat



PS. Vanilin:As. Sulfat F. Kloroform Tampak/Visual

PS. Vanilin:As. Sulfat F. Kloroform UV 366 nm

Gambar 10. Kromatogram deteksi kandungan senyawa terpenoid fraksi kloroform *Clausena excavata*

Keterangan
Fase diam : Silika gel GF_{254}
Fase gerak : Metanol-amoniak-air (5:1:1 $^{v}/_{v}$)
Pereaksi semprot : Vanillin-asam sulfat
Deteksi : Sinar tampak/visual dan UV 366 nm

Tabel XI. Hasil uji KLT fraksi kloroform daun *Clausena excavata* terhadap senyawa terpenoid deteksi sinar tampak/visual dan UV 366 nm.

Bahan	No	Rf	hRf	Tampak/ visual	UV 366 nm
Fraksi Kloroform	1	0,10	0	K	Bh
	2	0,68	68	Bh	B
	3	0,78	78	Ak	Bp
	4	0,87	87	A	Bp

Keterangan: A = Abu Ak = Abu kuning K = Kuning B = Biru
Bh = Biru hitam Bp = Biru pemadaman

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA PERPUSTAKAAN FMIPA

Dari seluruh rangkaian uji KLT diatas dapat disimpulkan bahwa pada fraksi petroleum eter menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, yang terlihat dari deteksi dengan sinar tampak/visual memberikan penampakan warna kuning, dengan UV 254 nm dan UV 366 nm menujukkan penampakan warna biru. Selain flavonoid pada fraksi petroleum eter juga terdapat senyawa golongan terpenoid yang terlihat setelah penyemprotan dengan anisaldehid-asam sulfat pada sinar tampak/visual memberikan kenampakan warna abu, abu kehijauan. Dan pada deteksi dengan UV 366 nm terlihat kenampakan warna biru.

Pada fraksi kloroform setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan kenampakan warna orange, ini mengindikasikan terdapat senyawa alkaloid didalam fraksi kloroform. Pada penyemprotan dengan vanilin-as sulfat dideteksi pada sinar tampak/visual terdapat kenampakan warna abu-abu dan biru, begitu pula pada deteksi dengan UV 366 nm terlihat kenampakan warna biru. Hal ini menunjukkan bahwa dalam fraksi kloroform juga mengandung senyawa golongan terpenoid.

Sehingga dapat dipastikan bahwa pada daun *Clausena excavata* yang diteliti mengandung senyawa golongan flavonoid, dan senyawa golongan terpenoid yang sama-sama memberikan aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. dan senyawa golongan alkaloid dan terpenoid memberikan aktifitas antifungi terhadap jamur *C. albicans*.

Mekanisme alkaloid dan terpenoid membunuh mikrobia yaitu dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel. Flavonoid mendenaturasi protein, dan merusak membran sel sehingga tidak dapat diperbaiki lagi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan:

1. Ekstrak etanol daun *Clausena excavata* mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*.
2. Fraksi petroleum eter dari ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* berupa zona radikal disekitar sumuran pada konsentrasi 25 mg/ml, 15 mg/ml, 5 mg/ml, dan 2,5 mg/ml.
3. Fraksi petroleum eter dari ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* berupa zona radikal disekitar sumuran pada konsentrasi 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, dan 25 mg/ml.
4. Fraksi kloroform dari ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *C. albicans* berupa zona radikal disekitar sumuran pada konsentrasi 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, dan 25 mg/ml.
5. Fraksi petroleum eter daun *Clausena excavata* Burm. f. mengandung golongan senyawa flavonoid dan terpenoid, sedangkan fraksi kloroform daun *Clausena excavata* Burm. f. mengandung golongan senyawa alkaloid dan terpenoid.

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji bioautografi pada fraksi paling aktif daun *Clausena excavata* Burm. f. terhadap *S. aureus, E. coli,* maupun *C. albicans.*
2. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi paling aktif daun *Clausena excavata* Burm. f.
3. Perlu dilakukan uji koefisien fenol terhadap ekstrak daun *Clausena excavata* Burm. f.

DAFTAR PUSTAKA

Amin Romas, 1987, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi I, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta

Anonim, 1980, *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta

Anonim, 1989, *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta

Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta

Anonim, 2000, *Chemical Constituent of Clausena excavata,* Faculty of Pharmacy, Meijo University, Tempaku, Nagoya, 468-8503, Japan, http: Fitoterapia, Akses 13 Maret 2003.

Anonim, 2002, *Antinociceptive Activity of Clausena excavata Leaves,* Dept of Pharmacy, University of Dhaka, 1000, Dhaka, Bangladesh, http: Fitoterapia, Akses 13 Maret 2003.

Anonim, 2003, *Coumarins and Carbazoles From Clausena excavata Exhibited Antimycobacterial and Antifungal Activities,* NPOS, Dept of Chemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 155-157, http: Planta Med. Akses 13 Maret 2003.

Autherhoff, K, 1987, *Identifikasi Obat*, Penerbit ITB, Bandung

Backer, C.A., Bakhuizen van den Brink , R.C., 1963, *Flora of Java,* Vol II, 103-104, The Netherland

Ganiswara, S.G., dan Nafrialdi, 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Bagian Farmakologi FK UI, Jakarta

Griffin, D.H., 1981, *Fungal Physiologi*, John Willey and Son. Inc, New York

Guenther, E., 1987, *Minyak Atsiri*, Jilid I, Diterjemahkan oleh Ketaren, S., UI-Press, Jakarta

Harborne, J.B.,1996, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Terbitan kedua, Penerbit ITB Bandung. 49 – 263, 337 – 339

Hadioetomo, R.S., 1985, *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek, tekhnik dan prosedur dasar dalam laboratorium*, Penerbit Gramedia, Jakarta

Hugo, W.B, dan Russel, A.P., 1987, *Pharmaceutical Microbiology*, Ed IV, Scientific Publication, Oxford

Irfan, A, 2003, Uji Aktivitas Antibakteri Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis*. L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Paling Aktif. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Jogjakarta: Universitas Islam Indonesia.

Markham, K.R, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB Bandung

Marsh, R.W., 1977, *Systemic Fungicides*, 2nd ed, Longman, London

Jawetz, E., & Melnick, J.L, 1982, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, diterjemahkan oleh Gerarld Bonang, Edisi XVI, EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.

Johnson, A.G., 1994, *Seri Ringkasan Mikrobiologi dan Imunologi*, diterjemahkan oleh Yulius E.S., Bina Rupa Aksara, Jakarta

Pelczar, M.J., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, diterjemahkan oleh Ratna Siri Hadioetomo, Teja Imas, S. Sutarmi Tjitrosomo, Sri Lestari Angka, Jilid II, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta

Perry, L.M.., 1980, *Medicinal Plants from East and Southeast Asia*. 363-364, MIT Press, Cambridge

Robbers, J.E., Speedie, M.K., Tyler, V.E., 1996, *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, Ceo and Febiger, Phyladelphia

Sastrohamidjojo, H., 1991, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta

Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi Lapis Tipis dan Mikroskopi*, Penerbit ITB, Bandung

Trease, G.E., and Evans, W.C., 1976, *Pharmacognosy*, 11th ed, Bailliere, Tindall, London

Trevor, R, 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerbit ITB Bandung

Suriawinata Unus, 1986, *Pengantar Mikrobia Umum*, Cetakan 5, Angkasa, Bandung

Van Steenis, 1949, *Flora Voor De Schoolen In Indonesia,* Noordroff-Koff, H.H, Batavia

Voigt, R., 1995, *Buku Pembelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soewandi, S.N. dan Widianto, M.B., Jurusan Farmasi FMIPA ITB, UGM, Press, Jogjakarta

Volk, W.A., dan Wheeler, M.F., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Jilid I, Edisi V, Penerbit Erlangga, Jakarta

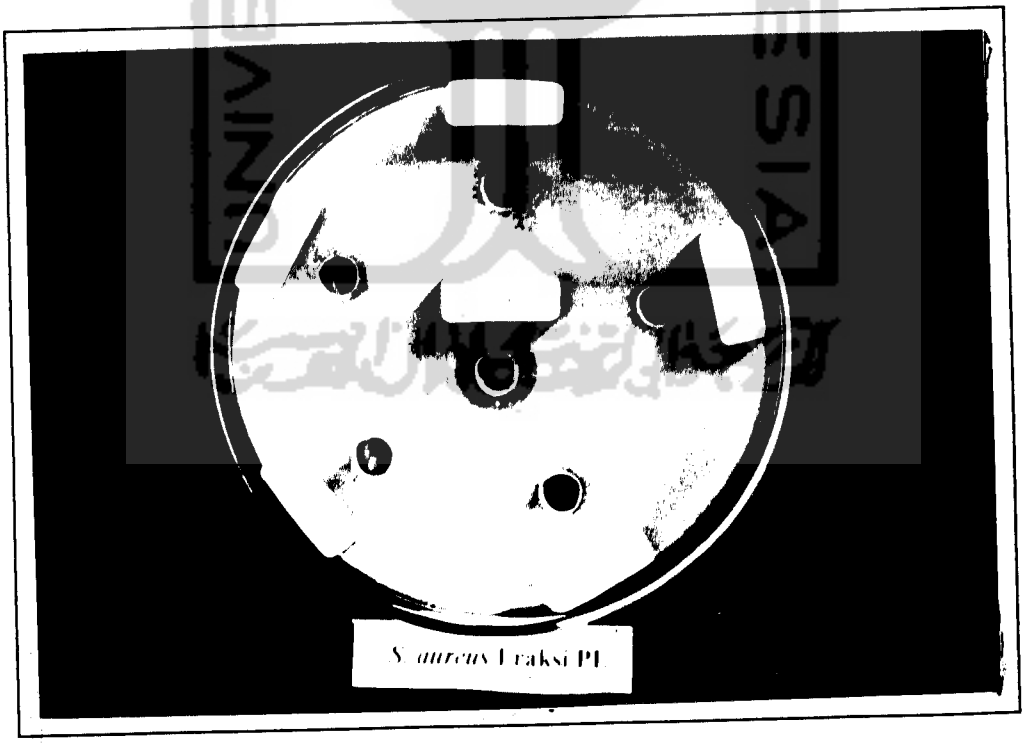
Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M., 1984, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, diterjemahkan oleh Th. A. Scott, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo

Wijayakusuma, H, 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*. Jilid IV, Pustaka Kartini, Jakarta.119-122.

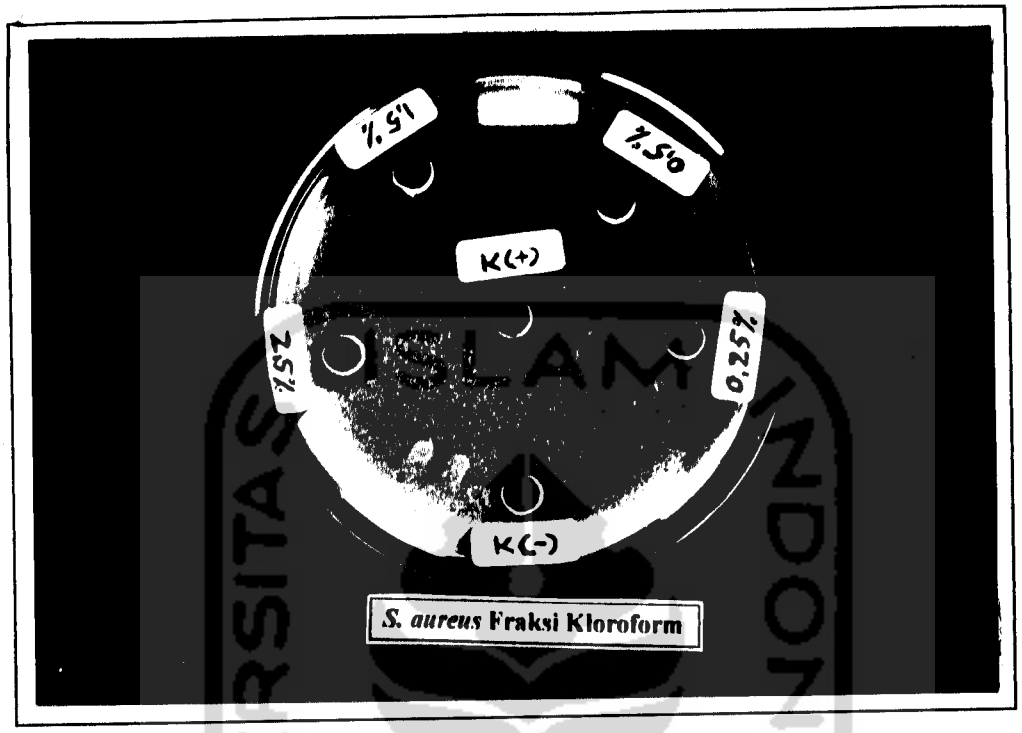
Wu, TS, Huang. SC, Wu. PL, Teng. CM, *Carbazole alkaloids from Calusena excavata and Their Biological Activity,* Dept of Chemistry, National Cheung Kung University, Tainan, Taiwan, http: Phytochemistry, Akses 13 Maret 2003.

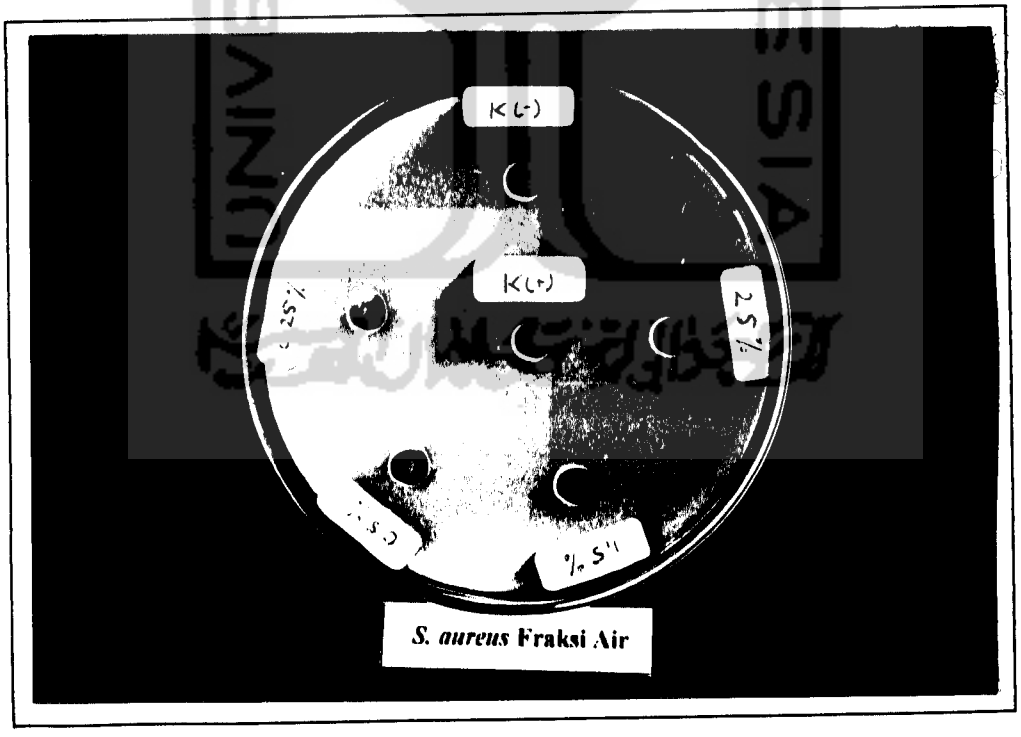
LAMPIRAN

Lampiran 1: Foto tanaman *Clausena excavata* Burm. f. dan foto uji mikrobiologi fraksi petroleum eter terhadap bakteri *S. aureus*



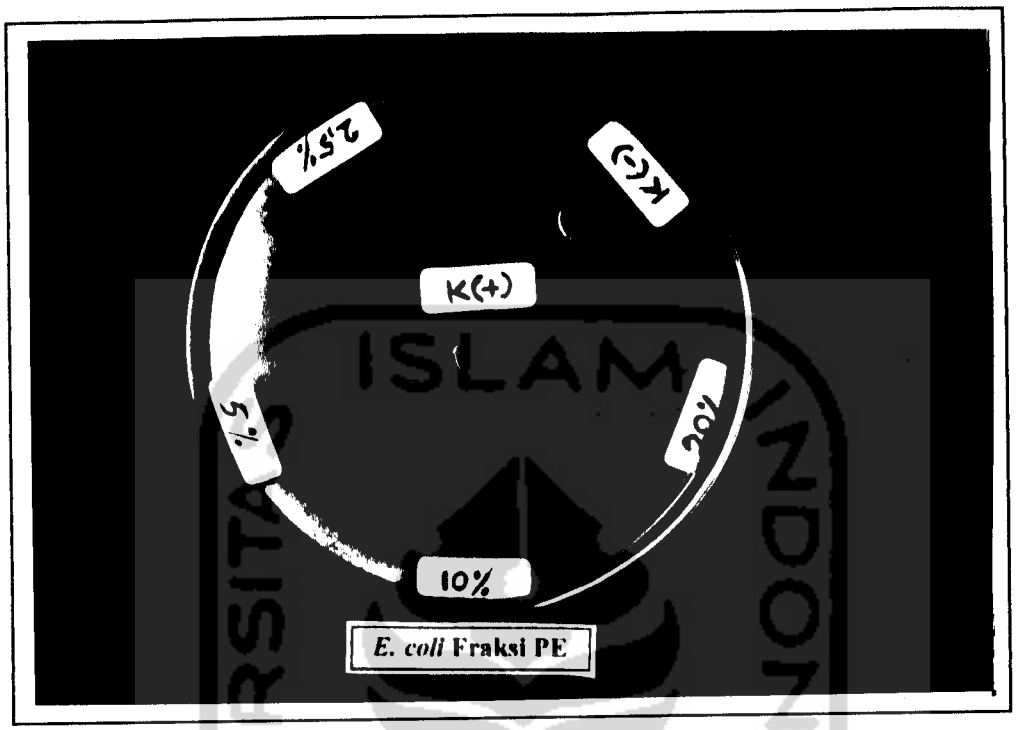
Lampiran 2: Foto uji mikrobiologi fraksi kloroform dan fraksi air terhadap bakteri *S. aureus*

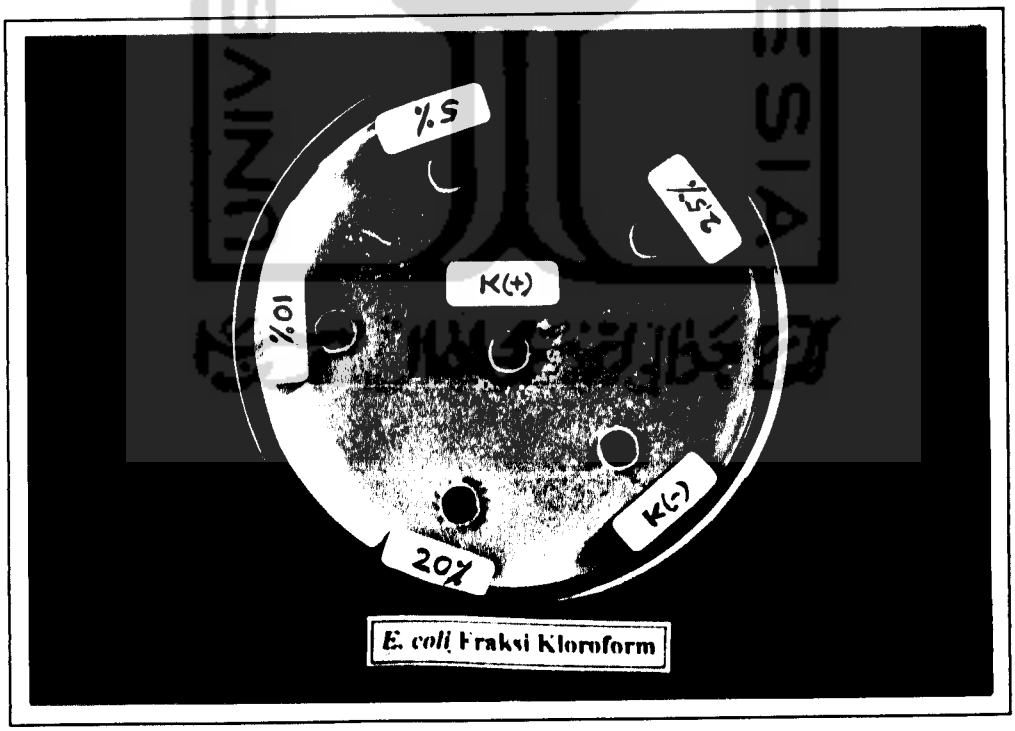




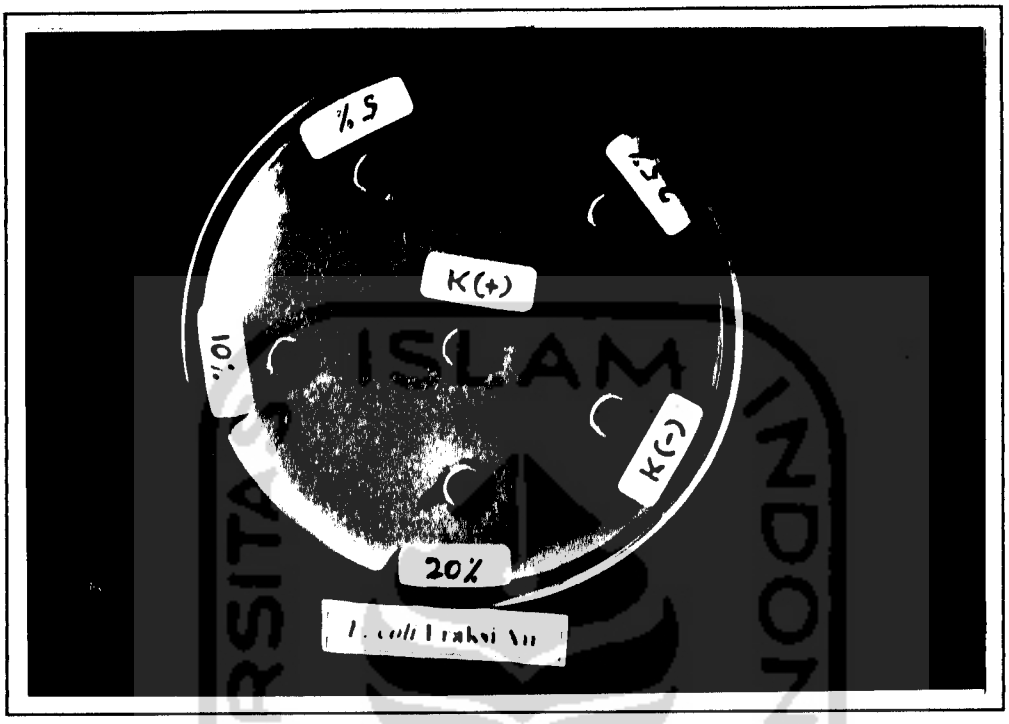
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

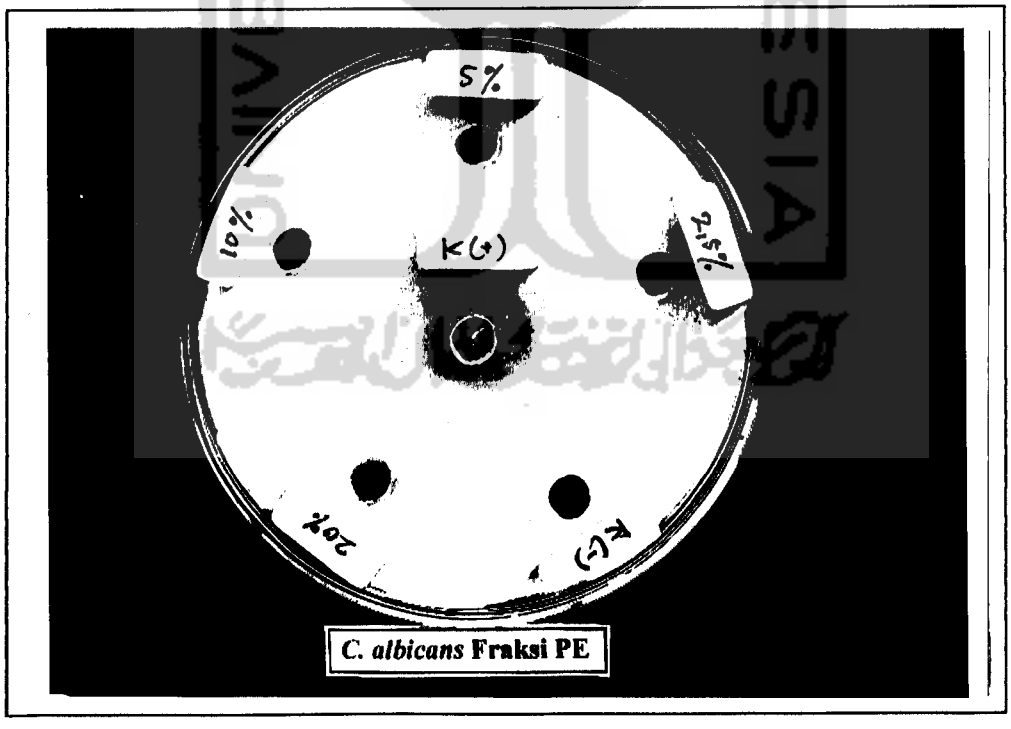
Lampiran 3: Foto uji mikrobiologi fraksi petroleum eter dan fraksi kloroform terhadap *E. coli*



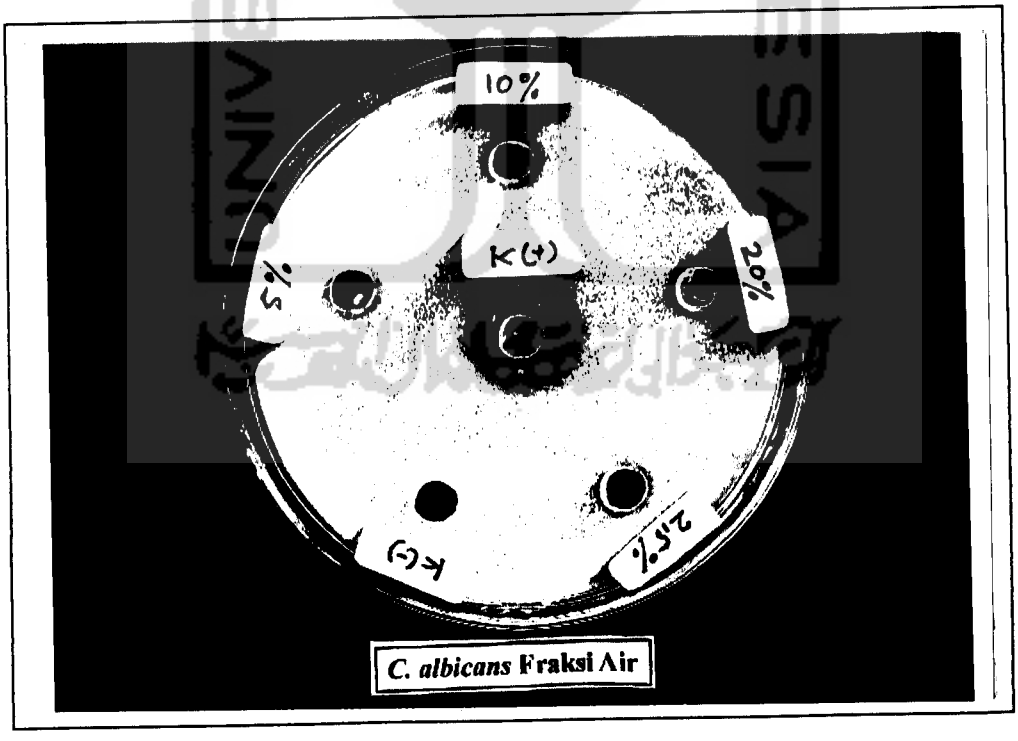


Lampiran 4: Foto uji mikrobiologi fraksi air terhadap *E. coli* dan fraksi petroleum eter terhadap jamur *C. albicans*

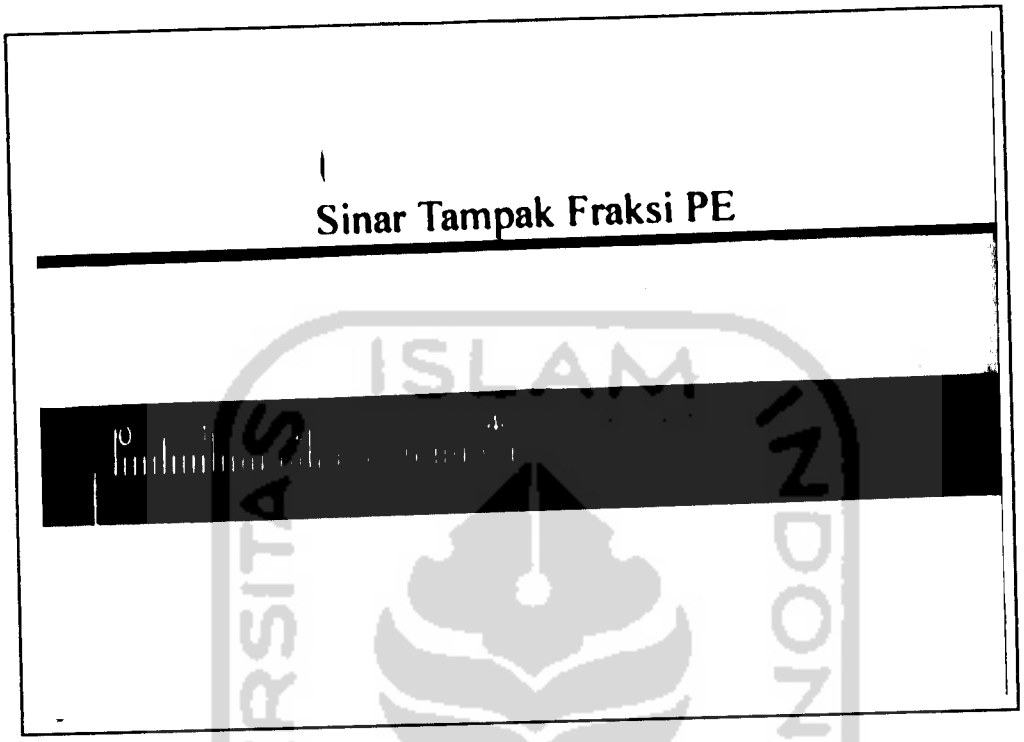




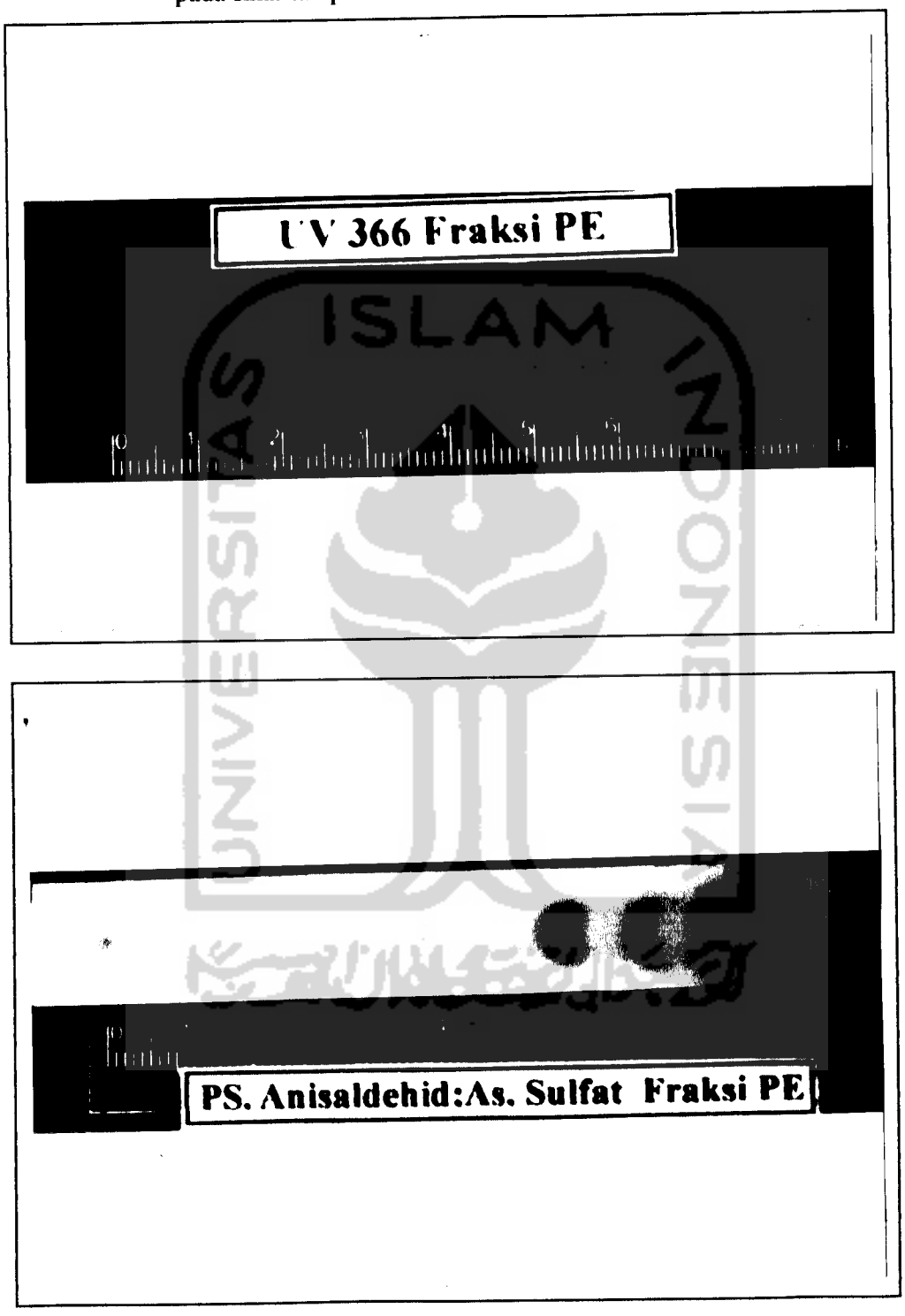
Lampiran 5: Foto uji mikrobiologi fraksi kloroform dan fraksi air terhadap jamur *C. albicans*



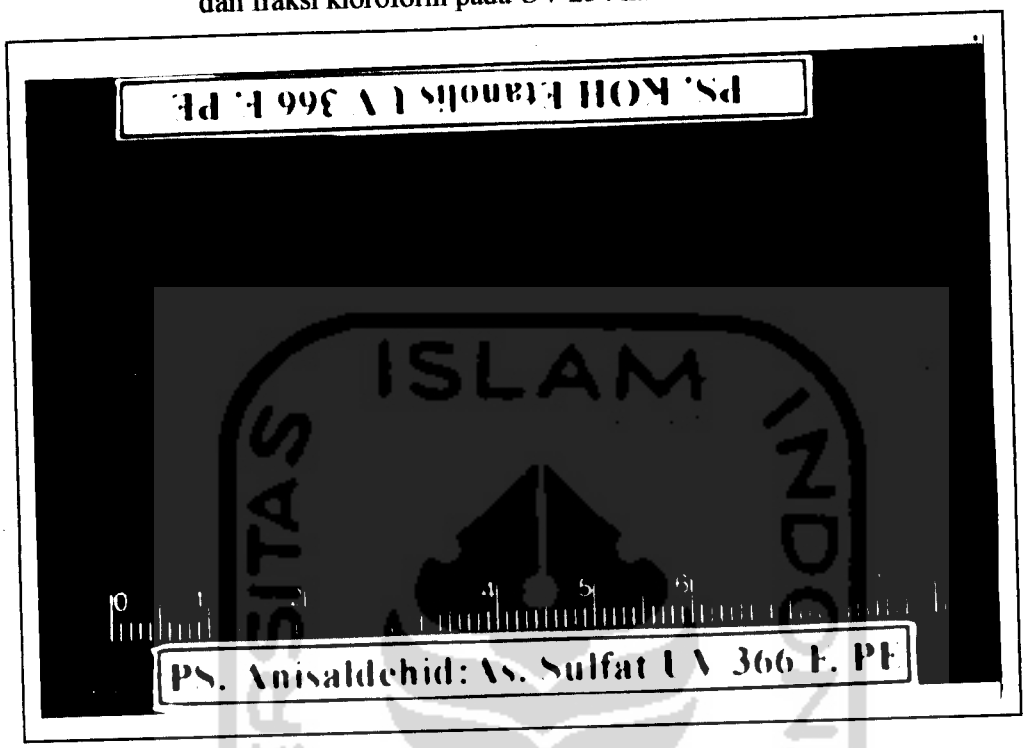
Lampiran 6: Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter pada sinar tampak/visual dan UV 254 nm.

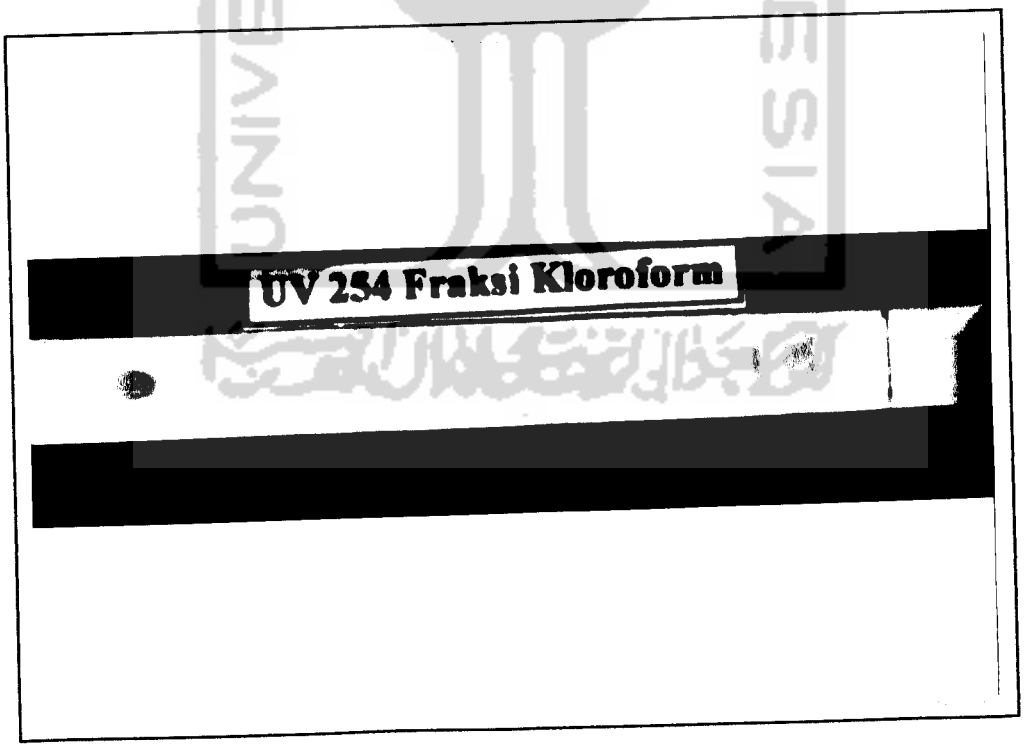


Lampiran 7: Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter pada UV 366 nm dan setelah penyemprotan dengan anisaldehid-Asam Sulfat pada sinar tampak/visual

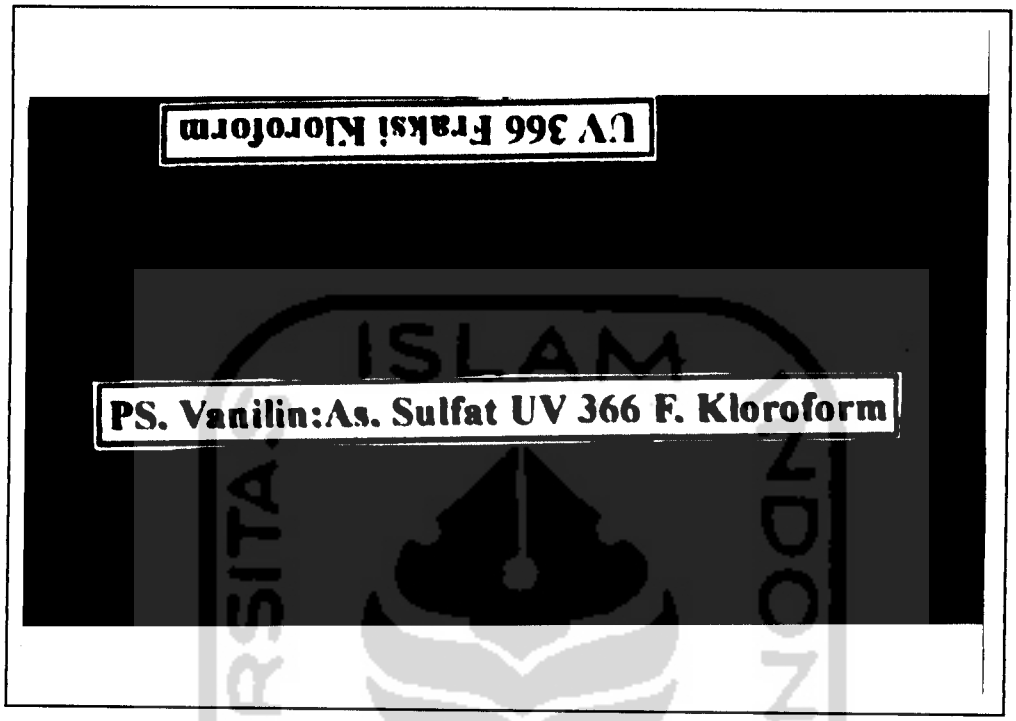


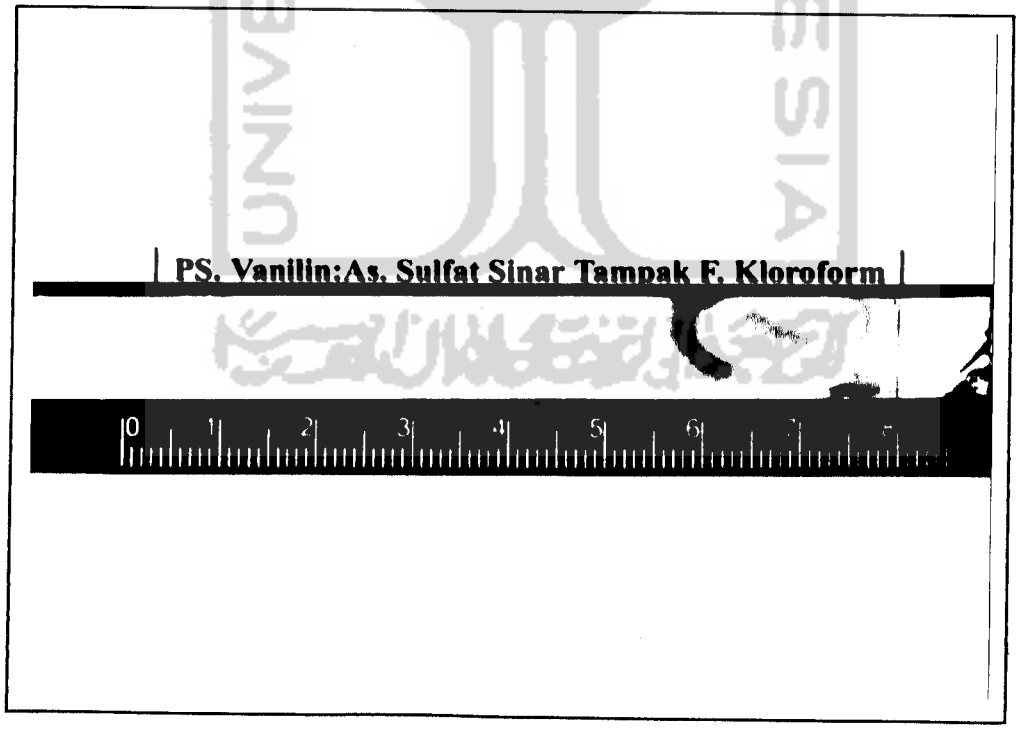
Lampiran 8: Foto kromatogram lapis tipis fraksi petroleum eter setelah penyemprotan dengan anisaldehid-asam sulfat pada UV 366 nm dan fraksi kloroform pada UV 254 nm





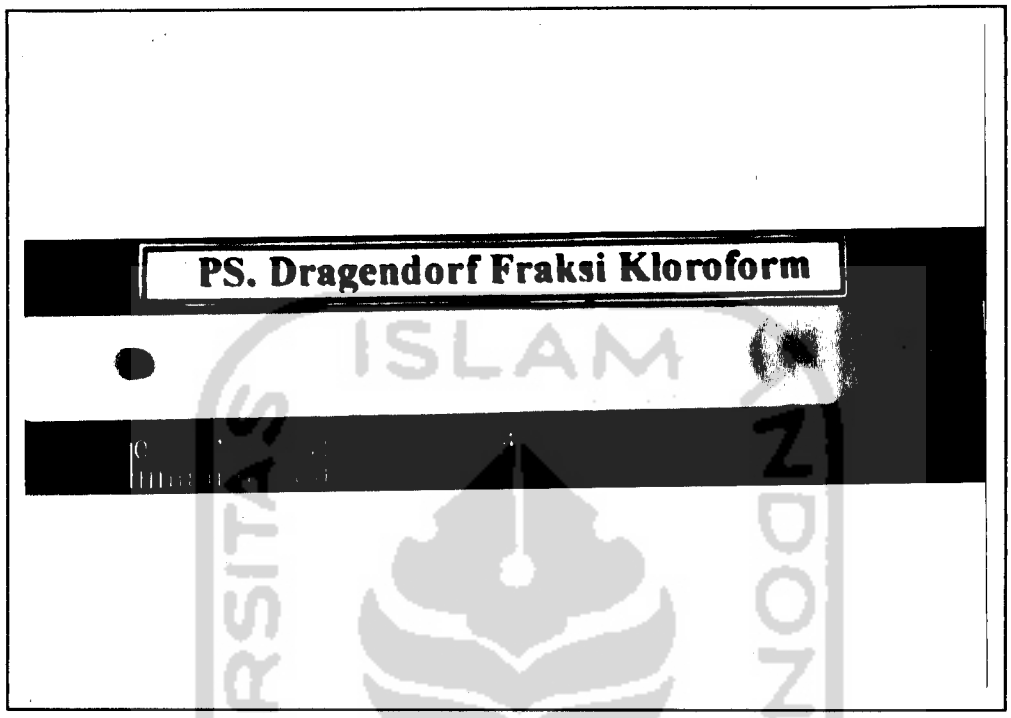
Lampiran 9: Foto kromatogram lapis tipis fraksi kloroform sebelum/sesudah penyemprotan vanilin-asam sulfat pada UV 366 nm dan setelah penyemprotan pada sinar tampak/visual





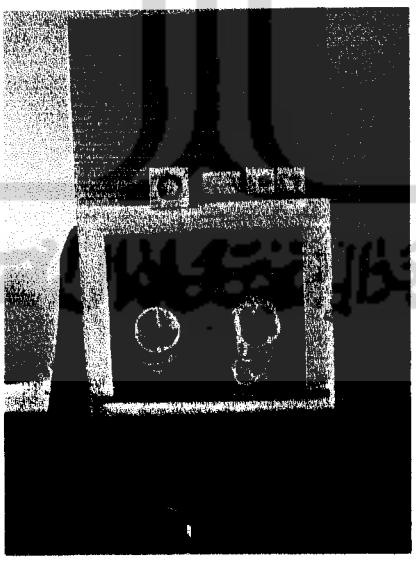
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

Lampiran 10: Foto kromatogram lapis tipis fraksi kloroform setelah penyemprotan pereaksi Dragendorff pada sinar tampak/visual



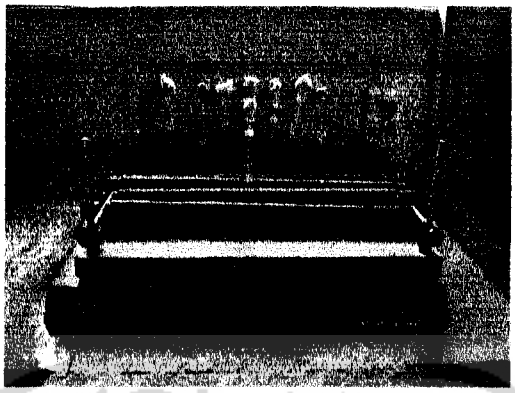
Lampiran 11: Gambar alat *autoclaf* dan *laminar air flow*

Autoclaf

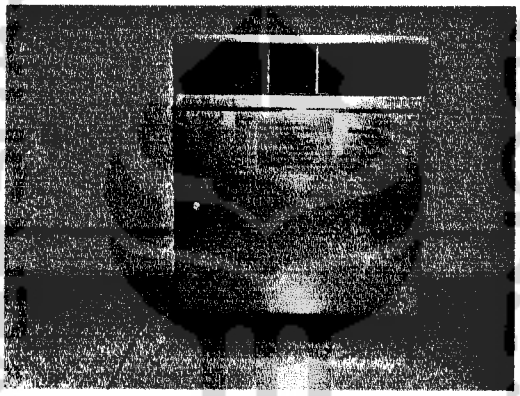


Laminar air flow

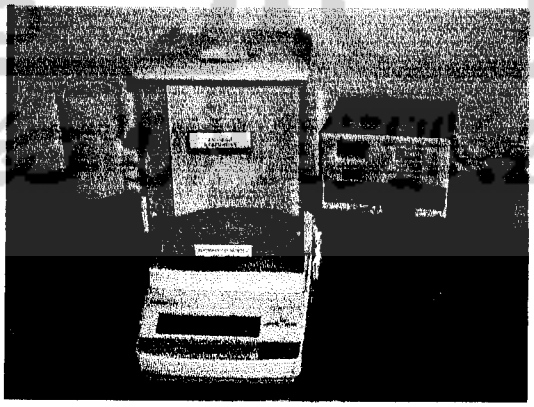
Lampiran 12: Gambar alat *automatic shaker*, oven, dan neraca elektronik



Automatic shaker

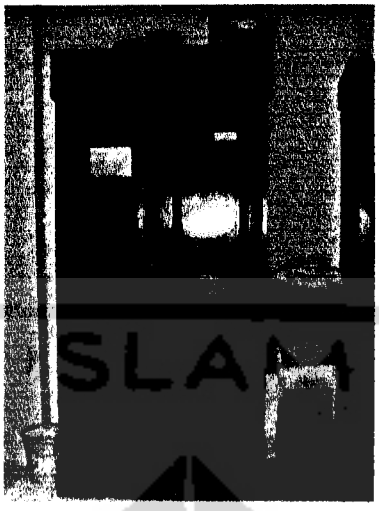


Oven

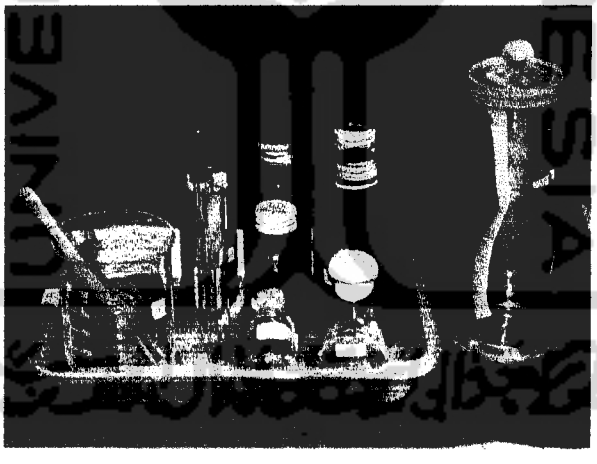


Neraca elektronik

Lampiran 13: Gambar alat lemari pengering dan seperangkat alat KLT



Lemari pengering



Seperangkat alat KLT

Lampiran 14: Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan T test fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus*

Korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *S. aureus*

Correlations

		PE AUR	KADAR
PE AUR	Pearson Correlation	1	.907(**)
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	12	12
KADAR	Pearson Correlation	.907(**)	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	12	12

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Oneway Descriptives

PE AUR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Empat	3	8.2367	.15822	.09135	7.8436	8.6297	8.10	8.41
Tiga	3	8.6667	.17559	.10138	8.2305	9.1029	8.50	8.85
Dua	3	9.5667	.15275	.08819	9.1872	9.9461	9.40	9.70
Satu	3	9.6600	.16000	.09238	9.2625	10.0575	9.50	9.82
Total	12	9.0325	.64303	.18563	8.6239	9.4411	8.10	9.82

Test of Homogeneity of Variances

PE AUR

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.020	3	8	.996

ANOVA

PE AUR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.339	3	1.446	55.201	.000
Within Groups	.210	8	.026		
Total	4.548	11			

Post Hoc Tests
Multiple Comparisons

Dependent Variable: PE AUR

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Empat	Tiga	-.4300(*)	.13216	.047	-.8532	-.0068
	Dua	-1.3300(*)	.13216	.000	-1.7532	-.9068
	Satu	-1.4233(*)	.13216	.000	-1.8466	-1.0001
Tiga	Empat	.4300(*)	.13216	.047	.0068	.8532
	Dua	-.9000(*)	.13216	.001	-1.3232	-.4768
	Satu	-.9933(*)	.13216	.000	-1.4166	-.5701
Dua	Empat	1.3300(*)	.13216	.000	.9068	1.7532
	Tiga	.9000(*)	.13216	.001	.4768	1.3232
	Satu	-.0933	.13216	.892	-.5166	.3299
Satu	Empat	1.4233(*)	.13216	.000	1.0001	1.8466
	Tiga	.9933(*)	.13216	.000	.5701	1.4166
	Dua	.0933	.13216	.892	-.3299	.5166

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

PE AUR

Tukey HSD

KADAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Empat	3	8.2367		
Tiga	3		8.6667	
Dua	3			9.5667
Satu	3			9.6600
Sig.		1.000	1.000	.892

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

T-Test
(Hambatan 2,5% PE aur thd Kontrol Positif)

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KONTROL	14.4933	3	.34429	.19877
	HMBTN 2.5 % PE aur	9.6600	3	.16000	.09238

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KONTROL & HMBTN 2.5% PE aur	3	.784	.426

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	KONTROL – HMBTN 2.5% PE aur	4.8333	.24028	.13872	4.2365	5.4302	34.841	2	.001

Lampiran 15: Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan T test fraksi petroleum eter terhadap *E. coli*

Korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi petroleum eter terhadap *E. coli*

Correlations

		PE COLI	KADAR
PE COLI	Pearson Correlation	1	.972(**)
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	12	12
KADAR	Pearson Correlation	.972(**)	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	12	12

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Oneway

Descriptives

PE COLI

	N	Mean	Std Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
Empat	3	11.1800	.07211	.04163	11.0009	11.3591	11.10	11.24
Tiga	3	11.3867	.04619	.02667	11.2719	11.5014	11.36	11.44
Dua	3	12.3667	.04163	.02404	12.2632	12.4701	12.32	12.40
Satu	3	13.0733	.06429	.03712	12.9136	13.2330	13.00	13.12
Total	12	12.0017	.79952	.23080	11.4937	12.5097	11.10	13.12

Test of Homogeneity of Variances

PE COLI

Levene Statistic	df1	Df2	Sig.
.672	3	8	.593

ANOVA

PE COLI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.005	3	2.335	707.593	.000
Within Groups	.026	8	.003		
Total	7.032	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PE COLI

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Empat	Tiga	-.2067(*)	.04690	.010	-.3569	-.0565
	Dua	-1.1867(*)	.04690	.000	-1.3369	-1.0365
	Satu	-1.8933(*)	.04690	.000	-2.0435	-1.7431
Tiga	Empat	.2067(*)	.04690	.010	.0565	.3569
	Dua	-.9800(*)	.04690	.000	-1.1302	-.8298
	Satu	-1.6867(*)	.04690	.000	-1.8369	-1.5365
Dua	Empat	1.1867(*)	.04690	.000	1.0365	1.3369
	Tiga	.9800(*)	.04690	.000	.8298	1.1302
	Satu	-.7067(*)	.04690	.000	-.8569	-.5565
Satu	Empat	1.8933(*)	.04690	.000	1.7431	2.0435
	Tiga	1.6867(*)	.04690	.000	1.5365	1.8369
	Dua	.7067(*)	.04690	.000	.5565	.8569

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

PE COLI

Tukey HSD

KADAR	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Empat	3	11.1800			
Tiga	3		11.3867		
Dua	3			12.3667	
Satu	3				13.0733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

T-Test
(Hambatan 20% PE coli thd Kontrol Positif)

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KONTROL	16.5800	3	.14422	.08327
	HMBTN 20% PE coli	13.0733	3	.06429	.03712

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KONTROL & HMBTN 20% PE coli	3	.820	.388

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	KONTROL – HMBTN 20% PE coli	3.5067	.09866	.05696	3.2616	3.7517	61.564	2	.000

Lampiran 16: Hasil uji korelasi, anava, tukey, dan T test fraksi kloroform terhadap *C. albicans*

Korelasi antara kenaikan kadar dengan hambatan fraksi kloroform terhadap *C.albicans*

Correlations

		CLOR CAND	KADAR
CLORCANS	Pearson Correlation	1	.790(**)
	Sig. (2-tailed)	.	.002
	N	12	12
KADAR	Pearson Correlation	.790(**)	1
	Sig. (2-tailed)	.002	.
	N	12	12

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Oneway

Descriptives

CLOR CAND

	N	Mean	Std. deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
empat	3	8.4533	.05033	.02906	8.3283	8.5784	8.40	8.50
tiga	3	9.9800	.02000	.01155	9.9303	10.0297	9.96	10.00
dua	3	10.5200	.10583	.06110	10.2571	10.7829	10.40	10.60
satu	3	10.7600	.20881	.12055	10.2413	11.2787	10.62	11.00
Total	12	9.9283	.94270	.27213	9.3294	10.5273	8.40	11.00

Test of Homogeneity of Variances

CLOR CAND

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.646	3	8	.015

ANOVA

CLOR CAND

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.660	3	3.220	223.097	.000
Within Groups	.115	8	.014		
Total	9.776	11			

Post Hoc Tests
Multiple Comparisons

Dependent Variable: CLOR CAND

Tukey HSD

(I) KADAR	(J) KADAR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
empat	tiga	-1.5267(*)	.09809	.000	-1.8408	-1.2125
	dua	-2.0667(*)	.09809	.000	-2.3808	-1.7525
	satu	-2.3067(*)	.09809	.000	-2.6208	-1.9925
tiga	empat	1.5267(*)	.09809	.000	1.2125	1.8408
	dua	-.5400(*)	.09809	.003	-.8541	-.2259
	satu	-.7800(*)	.09809	.000	-1.0941	-.4659
dua	empat	2.0667(*)	.09809	.000	1.7525	2.3808
	tiga	.5400(*)	.09809	.003	.2259	.8541
	satu	-.2400	.09809	.145	-.5541	.0741
satu	empat	2.3067(*)	.09809	.000	1.9925	2.6208
	tiga	.7800(*)	.09809	.000	.4659	1.0941
	dua	.2400	.09809	.145	-.0741	.5541

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets
CLOR CAND

Tukey HSD

KADAR	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
empat	3	8.4533		
tiga	3		9.9800	
dua	3			10.5200
satu	3			10.7600
Sig.		1.000	1.000	.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

T-Test
(Hambatan 20% Kloroform alb thd Kontrol Positif)

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KONTROL	19.2800	3	.10583	.06110
	HMBTN 20% Klor cand	10.7600	3	.20881	.12055

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	KONTROL & HMBTN 20% Klor cand	3	.579	.607

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	KONTROL – HMBTN 20% Klor cand	8.5200	.17088	.09866	8.0955	8.9445	86.359	2	.000

Lampiran 17: Pembuatan standar Mc Farland dan pereaksi semprot

Pembuatan Standar Mc Farland dan Pereaksi Semprot

1. Standar Mc Farland II
   Larutan $BaSO_4$ dibuat dengan 0,5 larutan 1,175% $BaCl_3$ H_2O pada 99,5 ml H_2SO_4 0,36 N (1%). Simpan ditempat dingin dan gelap. Dapat digunakan selama 6 bulan.
2. Pereaksi semprot anisaldehid-asam sulfat
   Anisaldehid sebanyak 0,5 ml berturut-turut dicampur dengan 10 ml asam asetat glasial, 85 ml metanol, dan 5 ml asam sulfat pekat. Pereaksi ini tidak stabil, bila warnanya telah berubah menjadi violet kemerahan maka tidak dapat dipakai lagi.
3. Pereaksi semprot vanilin-asam sulfat
   Larutan asam sulfat 5% dalam etanol dan larutan vanilin 1% dalam etanol.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

Alamat: Sekip Utara
Telpon: 542738

SURAT KETERANGAN

Nomor : UGM/FA/339/Ident/ XI/2003

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM menerangkan bahwa :

N a m a : Sumardi Koswara

No.Mhs. : 99613076

telah mengidentifikasi tanaman *Clausena excavata* Burm.f. di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

Pada tanggal 3 November 2003

Surat keterangan ini dapat digunakan seperlunya.

Yogyakarta, 4 November 2003
Bagian Biologi Farmasi
Kepala

Dr.Subagus Wahyuono,Apt
NIP. 130604698