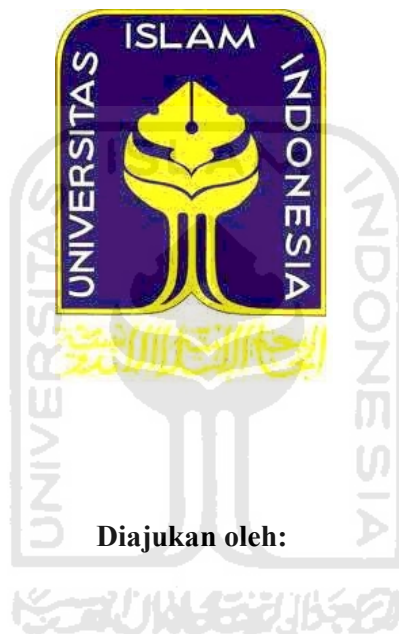


**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
SOSOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP
Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228)
SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

SKRIPSI



Diajukan oleh:

ABDUL GHOFUR

05613122

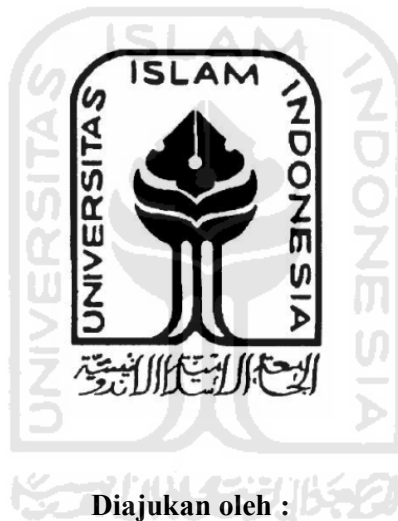
**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JULI 2011**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
SOSOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP
Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228)
SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Diajukan oleh :

**ABDUL GHOFUR
05613122**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JULI 2011**

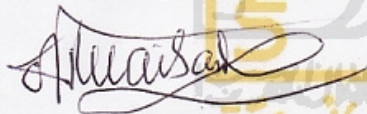
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SOSOR BEBEK
(*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis*
(ATCC 12228) SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

Yang diajukan oleh:

ABDUL GHOFUR
05613122

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt.

Pembimbing Pendamping



Hady Anshory T., S.Si., Apt.

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SOSOR BEBEK
(*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis*
(ATCC 12228) SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

Oleh:

ABDUL GHOFUR

05613122

Telah Dipertahankan Didepan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universita Islam Indonesia

Tanggal 17 Juni 2011

Ketua Penguji : Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt.

Anggota Penguji : 1. Hady Anshory T., S.Si., Apt.

2. Asih Triastuti, M.Pharm., Apt.

3. Andayana Puspitasari M.Si., Apt.

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Yandi Syukri M.Si., Apt.

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.

Yogyakarta, 12 Juni 2011

Penulis

Abdul Ghofur



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan segala kerendahan hati, kupersembahkan sebuah karya kecil ini kepada:

Orang Tuaku tersayang, yang selalu memberikan cinta kasih yang tak akan terbalas oleh apapun

Sahuri & Jumilah

Terima kasih atas doa, nasehat, motivasi dan semangat yang telah diberikan...

Adik adikku tercinta...

Nur, Aziz & Puput

Terima kasih atas doa, motivasi dan saran-saran yang telah diberikan...

Sahabatku...

Frie dan Guntur

Terima kasih atas motivasi dan saran yang telah diberikan...

Untuk Teman teman dan Saudaraku Farmasi angkatan 2005

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puja-puji penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Dzat Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas limpahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya. Shalawat serta Salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat, karena berkat perjuangannya umat manusia bisa keluar dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang dengan ilmu pengetahuan. Hanya dengan petunjuk-Nya akhirnya penulis mampu menyelesaikan tugas akhir yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SOSOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA”**.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan tugas akhir ini tidak lepas dari bimbingan, arahan, dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. C. J. Soegihardjo, Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberi masukan, bimbingan, dan arahan dari awal sampai akhir penyusunan sehingga tugas akhir ini dapat diselesaikan.
2. Bapak Hady Anshory T, S.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberi masukan, bimbingan, dan arahan dari awal
3. Bapak Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
4. Bapak M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
5. Seluruh Dosen Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas ilmu didikan yang telah diberikan.
6. Laboran-laboran Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.
7. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.

8. Semua pihak yang telah membantu baik secara material maupun spiritual yang penulis tidak bisa sebutkan satu-persatu.

Semoga segala bentuk bantuan yang telah diberikan mendapat imbalan dari Allah SWT, amin. Penulis menyadari dalam tugas akhir ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 12 Juni 2011

Penulis

Abdul Ghofur



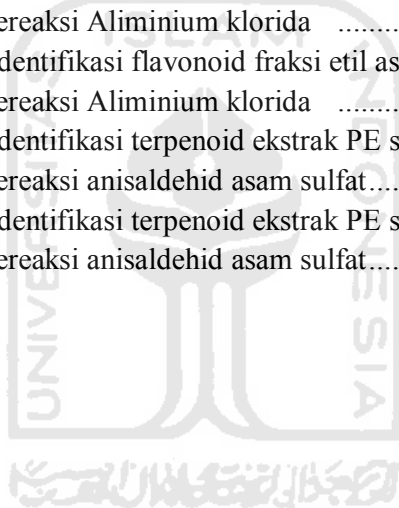
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Tanaman sosor bebek (<i>Kalanchoe pinnata</i> Pers.)	4
a. Klasifikasi	4
b. Nama daerah	4
c. Deskripsi tanaman	5
d. Anatomi tanaman	5
e. Kandungan kimia	6
f. Kegunaan sosor bebek	7
g. Uraian tentang kandungan kimia	7
1) Flavonoid	8
2) Terpenoid	8
2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	9
a. Deskripsi	9
b. Klasifikasi	9
c. Morfologi	9
d. Biakan	10
3. Uraian tentang penyarian	10
a. Maserasi	10
b. Infundasi	10
c. Perkolasi	11
d. Penyarian dengan alat Soxhletasi	11
4. Sterilisasi	12
5. Antimikrobia	12

6. Uji antibakteri	13
a. Uji dilusi (<i>Dilution test</i>)	13
b. Uji difusi (<i>Diffusion test</i>)	13
1) Metode tuang (<i>Pour Plate method</i>)	14
2) Metode sebar (<i>Spread Plate Method</i>)	14
7. Kromatografi lapis tipis	14
B. Landasan teori	15
C. Hipotesis	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Alat dan Bahan	17
1. Alat yang digunakan	17
2. Bahan yang digunakan	17
B. Cara Penelitian	18
1. Pembuatan serbuk kering daun sosor bebek	18
2. Pembuatan ekstrak larutan	18
a) Maserasi dengan petroleum eter	18
b) Maserasi dengan etil asetat	18
3. Uji aktivitas antimikroba	20
a. Sterilisasi alat	20
b. Penyiapan larutan uji	20
c. Penyiapan suspensi bakteri	20
d. Pembuatan media uji	20
e. Penanaman bakteri	21
f. Mencari KHM dan KBM	21
4. Identifikasi senyawa kimia	22
C. Analisis Hasil	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
A. Determinasi Tumbuhan Sosor bebek	23
B. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan	23
C. Hasil Ekstraksi Daun Sosor Bebek	24
D. Hasil Uji Pendahuluan Uji difusi	25
E. Hasil Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Sosor bebek dengan Metode Dilusi Cair	29
F. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Sosor bebek	34
1. Identifikasi senyawa flavonoid	35
2. Identifikasi senyawa terpenoid	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. Kesimpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman Sosor bebek	4
Gambar 2.	Struktur <i>Flavonoid</i>	8
Gambar 3.	Bakteri <i>S. epidermidis</i>	9
Gambar 4.	Skema penelitian	19
Gambar 5.	Pembuatan suspensi bakteri	20
Gambar 6.	Daun Sosor bebek	24
Gambar 7.	Hasil uji difusi	28
Gambar 8.	Uji dilusi cair ekstrak petroleum eter	31
Gambar 9.	Uji dilusi cair fraksi etil asetat	32
Gambar 10.	Hasil penggoresan uji dilusi cair ekstrak petroleum eter.....	33
Gambar 11.	Hasil penggoresan uji dilusi cair fraksi etil asetat	34
Gambar 12.	Hasil KLT identifikasi flavonoid fraksi etil asetat sebelum disempot pereaksi Aluminium klorida	36
Gambar 13.	Hasil KLT identifikasi flavonoid fraksi etil asetat setelah disempot pereaksi Aluminium klorida	37
Gambar 14.	Hasil KLT identifikasi terpenoid ekstrak PE sebelum disempot pereaksi anisaldehyd asam sulfat.....	39
Gambar 15.	Hasil KLT identifikasi terpenoid ekstrak PE setelah disempot pereaksi anisaldehyd asam sulfat.....	40



DAFTAR TABEL

Tabel I.	Kandungan kimia yg terdapat dalam <i>Kalanchoe pinnata</i>	7
Tabel II.	Rendemen yang dihasilkan	26
Tabel III.	Hasil uji pendahuluan	29
Tabel IV.	Hasil <i>One-Way ANOVA</i>	30
Tabel V.	Konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I. Surat Keterangan Determinasi	46
Lampiran II. Foto hasil Uji dilusi	47
Lampiran III . Hasil <i>One-Way ANOVA</i>	48



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
SOSOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata* Pers.) TERHADAP
Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228)
SECARA *IN VITRO* DAN PROFIL KROMATOGRAFINYA**

INTISARI

Sosor bebek merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia. Beberapa bagian tumbuhan sosor bebek biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati luka atau infeksi. Adanya kandungan senyawa flavonoid dan terpenoid dalam daun sosor bebek, diharapkan ekstrak daun sosor bebek dapat menghambat perkembangbiakan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sosor bebek terhadap bakteri *S. epidermidis*. Uji difusi dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun sosor bebek. Penentuan konsentrasasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasasi bunuh minimal (KBM) menggunakan dilusi cair dan identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT. Hasil uji difusi diketahui bahwa ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*. Dari hasil uji dilusi cair diperoleh KHM dan KBM untuk ekstrak petroleum eter adalah 50 mg/mL dan 100 mg/mL sedangkan untuk fraksi etil asetat adalah 50 mg/mL dan 100 mg/mL. Ekstrak petroleum eter mengandung senyawa terpenoid dan fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid.

Kata kunci: *Kalanchoe pinnata* Pers, *Staphylococcus epidermidis*, difusi, dilusi cair, antibakteri.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF SOSOR BEBEK
(*Kalanchoe pinnata* Pers.) LEAF EXTRACT AND AGAINST
Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228)
IN VITRO AND ITS CHROMATOGRAPHY PROFILE**

ABSTRACT

In Indonesia *cathedral bells* becomes one of medicine plant which is used as traditional medicine. Emperically some parts of the vegetation used by people as a traditional medicine for wound or curing the infection. Flavonoid and terpenoid compounds on *cathedral bells* extract leaf is expected to inhibit the reproduction of bacteria. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of *cathedral bells* leaf extracts against *S. epidermidis*. Diffusion test conducted to determine the antibacterial activity of petroleum eter extract and etil asetat fraction of leafes *cathedral bells*. Determination minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was done using the dilution and the identification compound's performed using TLC. Diffusion test was showed that petroleum eter extract and etil asetat fraction has antibacterial activity against the *S. epidermidis*. MIC and MBC petroleum eter extract was 50 mg/mL and 100 mg/mL and for the etil asetat fraction was 50 mg/mL and 100 mg/mL. Chemical compounds contained in petroleum eter extracts are terpenoids while the etil asetat fraction are flavonoids.

Key word: *Kalanchoe pinnata* Pers, *Staphylococcus epidermidis*, diffusion, dilution, antibacterial.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia memiliki lebih dari 29.000 jenis tumbuhan dan baru sekitar 7000 jenis yang dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat. Hampir segala jenis tumbuhan dapat tumbuh di wilayah negara ini. Sebagian besar sudah dimanfaatkan sejak nenek moyang kita untuk mengobati berbagai penyakit. Tumbuhan-tumbuhan tersebut dalam penggunaannya dikenal dengan obat tradisional. Popularitas dan perkembangan obat tradisional semakin meningkat seiring dengan slogan “kembali ke alam” yang kian menggema sehingga banyak yang tertarik untuk meneliti khasanah tumbuhan negeri ini.

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional bukanlah hal yang baru, tetapi penggunaan tumbuhan asli sebagai obat masih banyak yang didasarkan pada pengalaman atau pengetahuan yang diturunkan dari para pendahulu dan belum didasarkan pada suatu penelitian atau percobaan ⁽¹⁾.

Salah satu dari keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah sosor bebek (*Kalanchoe pinnata*) Tanaman ini termasuk tanaman sukulen (mengandung air) yang berasal dari Madagaskar yang kaya akan kandungan alkaloid, triterpenes, glikosida, flavonoid, steroid dan lipid ⁽²⁾. Dalam sebuah penelitian yg dilakukan pada hewan uji tikus menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun sosr bebek memiliki efektivitas dalam menyembuhkan luka ⁽³⁾. Dan hasil peneltian yang dilakukan oleh Wahyu Barata, R menunjukkan bahwa bahwa ekstrak etanol daun sosor bebek ternyata juga mempunyai efek bakteriostatik pada *E. coli* dan *S aureus* ⁽⁴⁾.

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri. Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus epidermidis*.

Bakteri *S. epidermidis* adalah anggota flora normal pada kulit manusia, saluran respirasi dan gastrointestinal.

Staphylococcus epidermidis merupakan salah satu penyebab infeksi pada kulit manusia. Tak jarang *S. epidermidis* menyebabkan infeksi oportunistik. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram positif, non-motil, koloninya bulat, halus pada umumnya tidak menghasilkan pigmen dan warnanya putih pucat. Memberikan hasil positif pada tes katalase, memberikan hasil negatif pada tes koagulasi, demikian juga pada tes DNase dan fermentasi manitol. Bersifat fakultatif anaerob yang dapat tumbuh dengan respirasi aerob atau dengan respirasi anearob (fermentasi) ⁽⁵⁾.

Sehubungan dengan adanya indikasi ekstrak daun *Kalanchoe pinnata* mempunyai daya anti bakteri, maka untuk membuktikan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak tanaman tersebut. Pada uji aktivitas ini digunakan bakteri *S. epidermidis* yang merupakan bakteri batang Gram positif (+) dan salah satu penyebab infeksi pada kulit manusia.

B. Perumusan masalah

1. Apakah ekstrak daun sosor bebek mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*?
2. Berapa Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun sosor bebek terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*?
3. Kandungan golongan senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun sosor bebek?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sosor bebek terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
2. Mengetahui berapa KHM dan KBM dalam pengujian uji aktivitas antimikroba ekstrak daun sosor bebek terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

3. Mengetahui kandungan golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun sosor bebek.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini merupakan penelitian lanjutan yang akan memberikan kontribusi dalam pengembangan dan pemanfaatan sumber bahan kimia hayati alam Indonesia sebagai bahan antibakteri. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan mampu mendukung dalam penggunaan obat tradisional yang aman dan rasional.



BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman sosor bebek (*Kalanchoe pinnata*, Pers)

a. Klasifikasi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Order	: <i>Rosales</i>
Family	: <i>Crassulaceae</i>
Genus	: <i>Kalanchoe</i>
Species	: <i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Pers ⁽⁶⁾ .



Gambar 1. Tanaman sosor bebek ⁽⁶⁾

b. Nama daerah

Selain nama *Kalanchoe pinnata* Pers tumbuhan sosor bebek juga memiliki sinonim *Bryophyllum pinnatum*. Diluar negeri sosor bebek dikenal dengan nama *cathedral bells*, *life plant* dan *miracle leaf* dengan nama daerah adalah sebagai berikut: didingin banen (Aceh); daun sejuk (Melayu); buntiris (Sunda); sosor

bebek (Jawa Tengah); daun ancar bebek (Madura); mamala (Halmahera); rau kufiri (Ternate) kabi-kabi (Tidore) ⁽⁶⁾.

c. Deskripsi tanaman

- Daun : Berbatang basah, daun tebal pinggir beringgit, banyak mengandung air, bentuk daunnya lonjong atau bundar panjang, panjang 5 - 20 cm, lebar 2,5-15 cm, ujung daun tumpul, pangkal membundar, permukaan daun gundul, warna hijau sampai hijau keabu-abuan. Daun tunggal atau kelihatan seolah-olah berbilang 3 atau menyirip berdaun 5. Daun atau tajunya memanjang atau oval, dengan ujung yang tumpul, beringgit tau beringgit rangkap, 5-20 kali 2,5-15 cm.
- Batang : Segi empat, lunak, beruas, warna hijau. Batang segi empat tumpul atau hampir membulat bunga berbilang atau kelipatan empat, menggantung.
- Bunga : bentuk malai, mahkota bentuk corong warna merah. Kelopak berdaun lekat.
- Buah : kotak, warna ungu bernoda putih. buah silindris, melembung, 1,5- 4cm panjangnya, taju pendek. Mahkota bentuk periuk ataulonceng, jelas menyempit di atas pangkal yang melebar, di atasnya lagi melebar, panjang 3,5-5,5 cm, bagian yang muncul di atas kelopak merah, pangkal tabung dengan 8 lipatan yang dalam, taju bulat telur bentuk lanset, bentuk ekor yang meruncing. Tangkai putik panjang. Helaian sisik segi empat ⁽⁷⁾.

d. Anatomi tanaman

Pada penampang melintang melalui tulang daun tampak epidermis atas yang terdiri dari satu lapis sel berbentuk empat persegi panjang, kutikula tipis, stomata sedikit. Epidermis bawah terdiri dari 1 lapis sel berbentuk empat persegi panjang, kutikula tipis, stomata lebih banyak daripada epidermis atas. Di dalam mesofil

tidak terdapat jaringan palisade, jaringan bunga karang terdiri dari sel-sel yang besar hampir bundar, berisi lender, terdapat sedikit hablur kalsium oksalat berbentuk prisma. Pada tulang daun terdapat pembuluh tipe kolateral, pada bagian bawah berkas pembuluh terdapat beberapa lapis jaringan kolenkim, pada bagian bawah tulang daun terdapat 1 sampai 2 lapis jaringan kolenkim. Pada sayatan paradermal tampak epidermis atas dan epidermis bawah berbentuk polygonal, dinding sedikit berombak, stomata tipe anomositik. Serbuk berwarna hijau kotor keabu-abuan. Fragmen pengenal adalah epidermis atas dinding sedikit berombak dengan stomata anomositik, epidermis bawah dinding sedikit bergelombang dengan stomata lebih banyak; mesofil meliputi dari sel besar, bentuk bundar, dinding tipis, di dalamnya kadang-kadang ada hablur kalsium, oksalat bentuk prisma; berkas pembuluh xilem dengan penebalan tangga dan spiral ⁽⁸⁾.

e. Kandungan kimia

Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam tumbuhan sosor bebek diantaranya saponin, flavonoid, dan tanin ⁽⁶⁾, sedangkan pada daunnya terkandung senyawa kimia yang disebut *bufadienolides*. *Bufadienolides* pada *Kalanchoe pinnata* memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri, antitumor, dan insektisida ⁽²⁾, sedangkan zat aktif yang diduga memiliki daya antibakteri adalah *cinamic acid* yang menghambat sintesis protein mikroba, flavonoid dan alfatokoferol yang bekerja dengan menghambat metabolisme sel mikroba, serta bufadienolide yang bekerja dengan merusak asam nukleat mikroba ⁽⁴⁾.

Tabel I. Kandungan kimia yg terdapat dalam *Kalanchoe pinnata* ⁽⁹⁾.

Kandungan Kimia	Jenis Senyawa	Bagian Tumbuhan
<i>Amyrin, alpha</i>	<i>Triterpene</i>	Daun
<i>Amyrin, alpha acetate</i>	<i>Triterpene</i>	Daun
<i>Amyrin, beta</i>	<i>Triterpene</i>	Daun
Astragalin	Flavonol	Daun
<i>Caffeic Acid</i>	<i>Phenylpropanoid</i>	Daun, Akar
<i>Campesterol</i>	Steroid	<i>Aerial Parts</i>
<i>Cinnamic acid, 4-hydroxy-3-methoxy</i>	<i>Phenylpropanoid</i>	Daun
<i>Cinnamic acid, p-hydroxy</i>	<i>Phenylpropanoid</i>	Daun
<i>Coumaric Acid, para</i>	<i>Phenylpropanoid</i>	Daun, Akar
<i>Ferulic Acid</i>	<i>Phenylpropanoid</i>	Daun
<i>Flavone, 3,8-dimethoxy-4,5,7-trihydroxy</i>	<i>Flavone</i>	Daun
<i>Gallic Acid</i>	Benzenoid	<i>Aerial Parts, Akar</i>
<i>Gallocatechin-3-o-syringate, epi</i>	Flavonoid	<i>Aerial Parts</i>
Kaempferol	Flavonol	Daun
Quercetin	Flavonol	Daun
<i>Quercetin-3-o-diarabinoside</i>	Flavonol	Daun
Rutin	Flavonol	Daun

f. Kegunaan sosor bebek

Penelitian yang dilakukan oleh Nayak BS beserta rekan-rekan dari University of the West Indies menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sosor bebek memiliki efektivitas dalam menyembuhkan luka (yang disengaja) dengan tikus sebagai hewan ujinya ⁽³⁾.

Selain *bufadienolides*, sosor bebek yang mempunyai rasa sedikit asam, lunak, dan dingin ini juga mengandung zat asam lemon, zat asam apel, vitamin C, *alkaloid, flavonoid, quercetin-3-diarabinoside*, dan *kaempferol-3-glucoside*. Kandungan kimia tersebut membuat sosor bebek bisa digunakan untuk berbagai pengobatan.

Kemudian, sosor bebek juga digunakan untuk mengatasi trauma luka akibat kecelakaan, memar, ataupun perdarahan. Hal ini terutama dikarenakan sifat daun sosor bebek yang dingin ⁽¹⁰⁾.

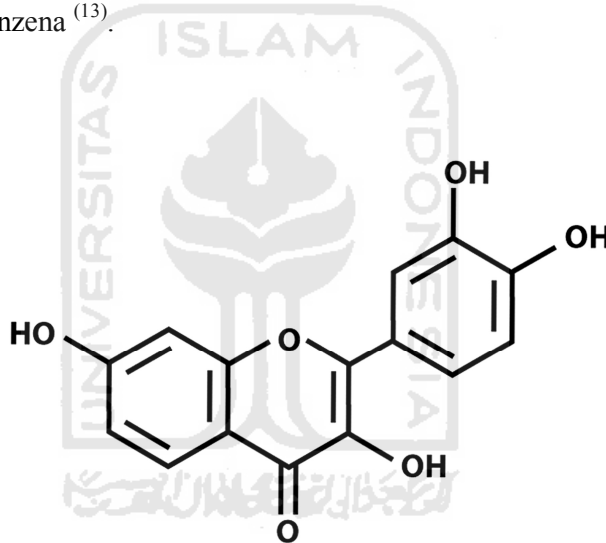
g. Uraian tentang kandungan kimia

1) Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder, kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid ⁽¹¹⁾.

Flavonoid adalah senyawa kimia yang terdapat dalam semua tumbuhan hijau, selain itu flavonoid juga terdapat pada semua bagian tanaman terutama daun, akar, kayu, kulit, tepung, bunga, buah, dan biji ⁽¹²⁾.

Flavonoid merupakan suatu golongan senyawa dengan dua cincin aromatis atau benzena yang dihubungkan oleh jembatan yang terdiri dari tiga atom karbon membentuk kerangka karbon dengan sistem C₆-C₃-C₆ dimana masing-masing merupakan cincin benzena ⁽¹³⁾.



Gambar 2. Struktur flavonoid

2) Terpenoid

Terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa tumbuhan, dan istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis semua senyawa tumbuhan itu berasal dari senyawa yang sama. Jadi semua terpenoid berasal dari molekul isoprena $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambung dua atau lebih satuan C₅ ini. Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai eter, atau kloroform ⁽¹⁴⁾.

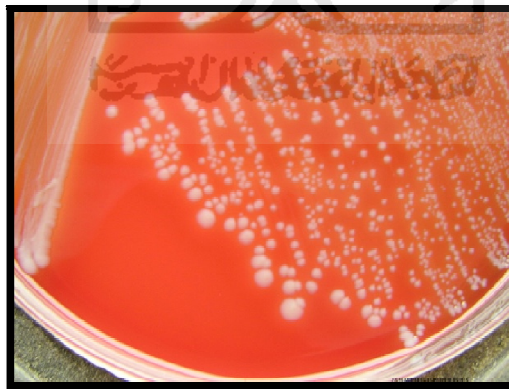
2. *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*)

a. Deskripsi

Staphylococcus epidermidis termasuk kedalam genus staphylococcus. Dalam suasana asam, genus ini dapat mengadakan fermentasi glukosa menghasilkan asam dan lisis terhadap 200 µg lisostafin. Pada keadaan aerob dapat mengadakan fermentasi gliserol yang mengandung 0,4 µg eritromisin dengan menghasilkan gas⁽¹⁵⁾.

b. Klasifikasi

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Phylum</i>	: Firmicutes
<i>Class</i>	: Cocci
<i>Order</i>	: Bacillales
<i>Family</i>	: Staphylococcaceae
<i>Genus</i>	: Staphylococcus
<i>Species</i>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i> ⁽¹⁶⁾



Gambar 3. Bakteri *S. epidermidis* pada media agar darah⁽¹⁶⁾

c. Morfologi

Staphylococcus adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 µm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur, bersifat nonmotil

dan tidak membentuk spora ⁽¹⁷⁾. Bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini bersifat koagulase negatif, memfermentasi glukosa, tidak memfermentasi manitol ⁽¹⁸⁾.

d. Biakan

Staphylococcus tumbuh dengan baik pada media bakteriologi dibawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37⁰C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperature kamar (20-35⁰C). Koloni pada media yang padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat. Koloni pada *S. epidermidis* biasanya berwarna abu-abu hingga putih terutama pada isolasi primer, beberapa koloni menghasilkan pigmen hanya pada inkubasi yang diperpanjang ⁽¹⁷⁾.

3. Uraian tentang penyarian

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan akan larut. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan ⁽¹⁹⁾.

a. Maserasi

Istilah *maceration* berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya merendam. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur ruangan dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari ⁽²⁰⁾. Maserasi sering digunakan untuk mengekstraksi bahan yang zat aktifnya tidak tahan terhadap pengaruh pemanasan.

b. Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana tercelup dalam penangas air mendidih, suhu terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit). Simplisia dengan derajat halus yang sesuai dimasukkan ke

dalam panci dan ditambahkan air secukupnya. Kemudian di panaskan pada penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90⁰C sambil sekali-kali diaduk. Selanjutnya cairan diserka selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang dikehendaki (jika tidak dikatakan lain, dibuat infus 10%). Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam ⁽²¹⁾.

c. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan ⁽²¹⁾.

d. Penyarian dengan alat Soxhletasi

Soxhletasi adalah suatu cara menyari simplisia dengan pelarut panas secara berkesinambungan dengan menggunakan alat yang dinamakan Soxhlet. Bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantung ekstraksi di dalam sebuah alat ekstraksi dan gelas yang bekerja kontinyu. Pada cara ini diperlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil, juga simplisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif belangsung secara terus menerus (pembaharuan pendekatan konsentrasi secara kontinyu) ⁽²²⁾.

Keuntungan metode ini adalah :

- (1) Dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung,
- (2) digunakan pelarut yang lebih sedikit, dan
- (3) pemanasannya dapat diatur ⁽²²⁾.

4. Sterilisasi

Sterilisasi adalah usaha yang dilakukan untuk membebaskan alat, barang, atau bahan dari mikroorganisme hidup termasuk bakteri dan spora. Atau suatu usaha yang dilakukan untuk membunuh/menghancurkan mikroorganisme dan spora dari alat atau bahan yang steril ⁽²³⁾. Secara garis besar terbagi menjadi :

- 1) Sterilisasi secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0,22 mikron atau 0,45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.
- 2) Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.

Pemanasan:

- a) Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat : OSE, pinset, batang L, dll.
- b) Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-180°C. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi dll.
- c) Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggunakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
- d) Uap air panas bertekanan : menggunakan autoklaf. Sterilisasi biasanya dijalankan dengan menggunakan panas 120°C selama 10-30 menit tergantung pada kebutuhan.

Penyinaran dengan UV:

Sinar Ultra Violet juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior *Safety Cabinet/ LAF* dengan disinari lampu UV

- 3) Sterilisasi secara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan antara lain alkohol ⁽²³⁾.

5. Antimikrobia

Antimikroba adalah bahan yang mengganggu pertumbuhan metabolisme mikroba. Dalam penggunaan umum, istilah ini menyatakan penghambatan

pertumbuhan, dan bila dimasukkan untuk kelompok-kelompok organisme yang khusus, maka sering kali digunakan istilah seperti antibakterial atau antifungal⁽²³⁾.

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri pada umumnya, khususnya yang bersifat patogen bagi manusia. Obat-obat ini bekerja dengan prinsip toksisitas selektif, yaitu mengganggu pertumbuhan mikroorganisme yang merugikan tanpa merusak sel host, antibakteri dapat berupa zat yang menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut bakteriostatik.

6. Uji antibakteri

Pemeriksaan terhadap kepekaan suatu mikroba terhadap suatu agen antimikroba dapat dilakukan melalui uji mikrobiologi sebagai berikut:

a. Uji dilusi (*Dilution tests*)

Terdapat dua macam metode dilusi yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair dilakukan dengan cara antimikroba diencerkan hingga beberapa konsentrasi kemudian masing-masing konsentrasi antimikroba ditambahkan ke dalam suspensi kuman dalam media cair. Prinsip pada dilusi padat sama dengan dilusi cair namun pada dilusi padat media yang digunakan berupa media agar⁽²⁴⁾. Parameter yang dilihat dari metode dilusi baik dilusi padat maupun dilusi cair adalah kekeruhan. Semakin bertambah kekeruhan berarti terjadi peningkatan pertumbuhan jumlah bakteri, artinya aktivitas antimikrobanya semakin melemah.

b. Uji difusi (*Diffusion tests*)

Secara umum, prinsip dari uji difusi adalah terjadinya difusi zat antimikroba ke dalam agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba. Pada permukaan agar diberikan suatu tempat penampungan zat aktif, yang dapat berupa *paper* disk pada permukaan agar atau dengan membuat sumur pada agar. Potensi antimikroba akan diperoleh dengan adanya zona hambat yang berupa zona bening di sekitar tempat penampung zat aktif tersebut setelah waktu inkubasi pada temperatur optimal dari mikroba.

1) Metode tuang (*Pour Plate Method*)

Metode ini menginokulasikan mikroba dengan mencampurnya langsung dengan agar pada saat agar dalam keadaan cair. Hasil akhir pada plate adalah mengandung konsentrasi mikroba dari hasil pengenceran dengan agarnya. Cara ini

adalah sama seperti pada dilusi. Pada metode ini dapat digunakan *paper* disk atau dibuatkan lubang sumur sebagai tempat penampungan zat uji yang digunakan ⁽²⁵⁾.

2) Metode sebar (*Spread Plate Method*)

Pada metode ini, inokulasi mikroba tidak dicampurkan langsung dengan media agar, tetapi ditanam secara taburan, disebar di atas permukaan agar secara merata menggunakan *spader* atau dapat pula menggunakan lidi kapas steril. Prosedur ini dikenal pula dengan *Kirby-Bauer test*. Penanaman mikroba yang tidak merata pada seluruh permukaan agar, tetapi dengan cara zig-zag atau menyebarkan sesuai arah sebaran ose disebut juga dengan *streak – swab procedure*. Metode *spread plate* ini menggunakan *device* berupa *paper* disk berisi zat uji yang diletakkan pada permukaan agar dengan hasil zona bening di sekitar *paper* disk sebagai zona hambatnya. Metode sebar *plate* ini dikatakan sebagai solusi jika penggunaan *pour plate method* mengancam pertumbuhan mikroba yang tidak tahan terhadap panas, karena pada *pour plate*, pencampuran mikroba dengan media adalah pada saat media dalam keadaan cair dan panas ⁽²⁵⁾.

7. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu dari prosedur kromatografi dengan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dibawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembangan campur. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir yang disebut fase diam. Fase diam ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita pada plat tersebut, kemudian dimasukkan kedalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut yang akan bergerak dalam fase diam oleh adanya gaya kapiler. Pemisahan senyawa terjadi selama proses pengembangan ⁽²⁶⁾.

Derajat retensi yang menyatakan polaritas suatu zat pada kromatografi lapis tipis biasanya dinyatakan sebagai faktor retensi (*R_f*).

$$\text{Harga } R_f = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik penotolan}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik penotolan}}$$

Harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga Rf :

- (a) Struktur kimia dari senyawa yang digunakan,
- (b) sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya,
- (c) tebal dan kerataan dari lapisan penyerap,
- (d) pelarut dan derajat kemurnian fase gerak,
- (e) derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan,
- (f) teknik percobaan,
- (g) jumlah cuplikan yang digunakan,
- (h) suhu, dan
- (i) kesetimbangan ⁽²⁶⁾.

Identifikasi bercak senyawa pada kromatogram dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu :

- (a) Bercak langsung dilihat pada sinar tampak atau ultraviolet,
- (b) bercak terlebih dahulu disemprot atau diuapi dengan pereaksi tertentu, kemudian dilihat pada sinar tampak atau ultraviolet, dan
- (c) bercak dikerok terlebih dahulu, lalu diidentifikasi dengan beberapa cara, misalnya dengan ditambah pereaksi tertentu dalam tabung reaksi dan mencari panjang gelombang pada serapan maksimum ⁽²⁶⁾.

B. Landasan Teori

Tanaman sosor bebek khususnya bagian herbanya biasa digunakan oleh masyarakat untuk mengobati luka bernanah, bisul, koreng dan penyakit kulit lainnya. Penyebab penyakit tersebut karena adanya aktivitas bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Salah satu bakteri Gram positif yg menjadi penyebab penyakit kulit adalah *S. epidermidis*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Wahyu Barata, R ⁽⁴⁾ bahwa ekstrak etanol daun sosor bebek mempunyai efek bakteristatik pada *E. coli* dan *S aureus*. Maka perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah daun sosor bebek juga mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. epidermidis* yang merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit kulit.

C. Hipotesis

Dari uraian di atas dapat ditarik hipotesis bahwa ekstrak daun sosor bebek mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat Dan Bahan

1. Alat yang digunakan

- a. Alat untuk penyarian, partisi dan pembuat ekstrak. Alat yang digunakan antara lain *rotary evaporator*, penangas air, cawan porselin, Erlenmeyer, sendok, toples kaca, dan lemari pendingin.
- b. Alat uji mikrobiologi dan KLT. Alat yang digunakan adalah petridisk, ose, lampu spiritus, tabung reaksi (Pyrex), mikropipet (Finn), autoklaf, *incubator* (Memmert), jangka sorong, pelubang gabus.
- c. lat untuk identifikasi senyawa dengan KLT. Alat yang digunakan antara lain pipa kapiler, bejana pengembang, *oven*, lampu UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm, spatel dan seperangkat alat semprot.

2. Bahan yang digunakan

- a. Bahan utama. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman sosor bebek (belum berbunga) yang diambil pada bulan Oktober tahun 2010 di Minomartani - Sleman, Yogyakarta pada jam 08.00-10.00 pagi.
- b. Bahan penyari. Bahan kimia yang digunakan adalah petroleum eter dan etil asetat.
- c. Bahan uji mikrobiologi. Bahan yang digunakan berupa aquadest steril, nutrient agar (Oxoid), *nutrient broth* (Oxoid), NaCl 0,9%, DMSO 100% (E. Merck)' *blue tip* dan *yellow tip*.
- d. Bahan untuk fase gerak pada analisis KLT. Bahan kimia yang digunakan berderajat *pro analysis (p.a)*.
- e. Bahan untuk fase diam. Bahan yang dipakai adalah lempeng silika gel F₂₅₄ (E. Merck).

B. Cara Penelitian

1. Pembuatan serbuk kering daun sosor bebek

Daun sosor bebek dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Bahan yang telah bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah daun dirasa cukup, daun yang kering tadi lalu disimpan pada lemari pengering pada suhu 60^0 C selama 3 hari. Bahan yang kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender, ayak dengan pengayak nomor 20, serbuk halus yang diperoleh masukkan dalam wadah tertutup rapat dan simpan.

2. Pembuatan ekstrak larutan

Daun sosor bebek yang telah kering, diekstraksi dalam dua tahap:

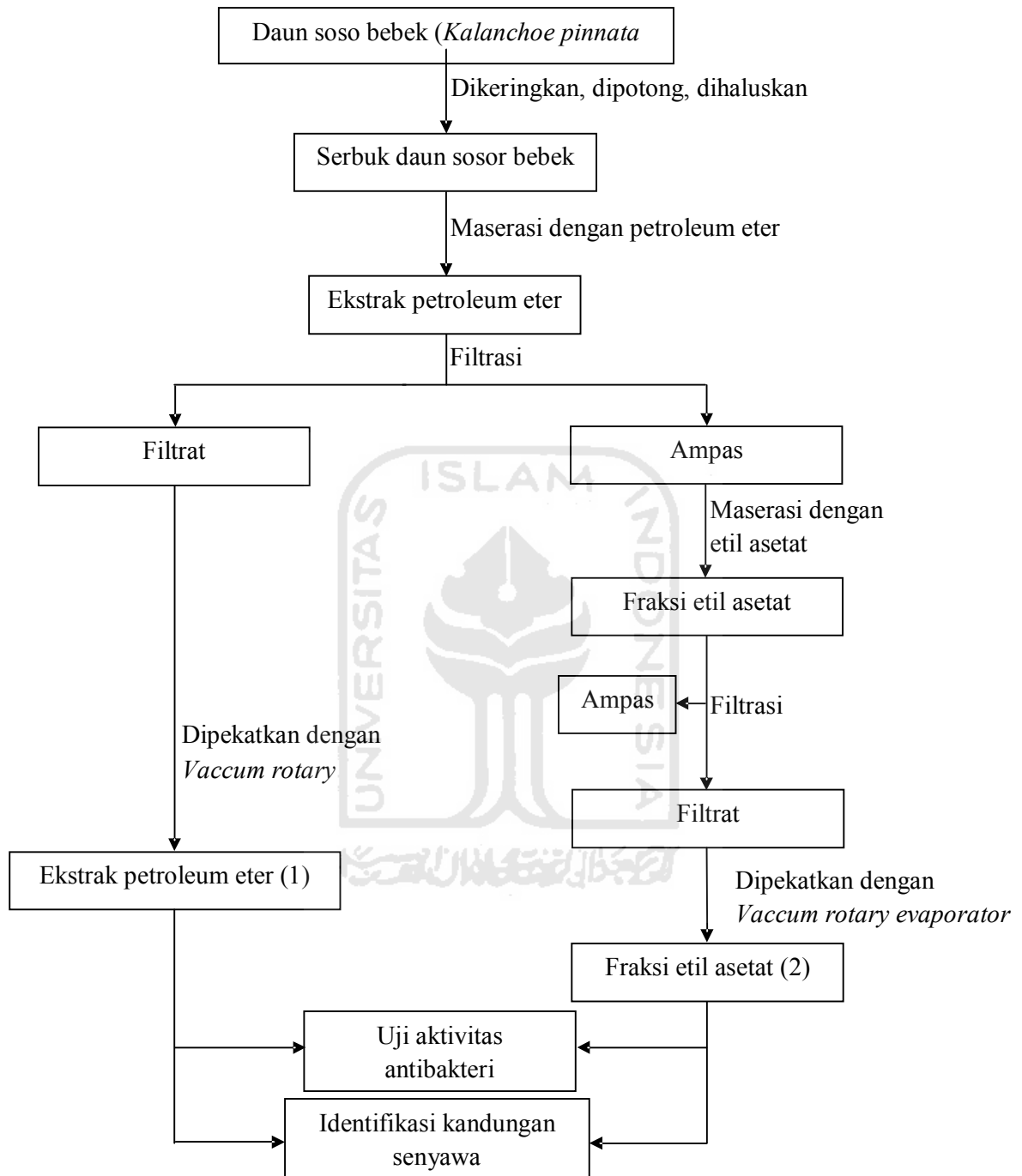
a) Maserasi dengan petroleum eter

Serbuk daun sosor bebek dimasukkan ke dalam toples kemudian ditambahkan PE dengan perbandingan volume serbuk daun sosor bebek : PE (1:3). Maserasi dilakukan selama tiga hari. Selama maserasi berlangsung dilakukan pengadukan sesering mungkin. Setelah tiga hari larutan disaring dengan corong Buchner kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak PE (1). Ekstrak PE dimasukkan dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya kemudian ditimbang dan di simpan di dalam desikator. Maserasi diulangi kembali sampai PE terlihat jernih.

b) Maserasi dengan etil asetat

Serbuk daun sosor bebek sisa maserasi sebelumnya dikeringkan terlebih dahulu. Kemudian dimasukkan dalam toples dan tambahkan etil asetat dengan perbandingan volume serbuk daun sosor bebek: etil asetat (1:2). Maserasi dilakukan selama tiga hari. Selama maserasi berlangsung dilakukan pengadukan sesering mungkin. Setelah tiga hari larutan disaring dengan corong buchner kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat (2). fraksi etil asetat dimasukkan dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya kemudian ditimbang dan di simpan di dalam desikator.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada skema berikut.



Gambar 4: Skema Penelitian

3. Uji aktivitas antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan untuk pemeriksaan aktivitas antibakteri disterilkan dengan menggunakan autoklav pada suhu 121°C selama 15-30 menit.

b. Penyiapan larutan uji

Larutan uji dibuat masing-masing fraksi yaitu fraksi PE dan fraksi etil asetat. Kemudian masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (DMSO) dan dibuat sebagai seri kadar 100 mg/ml, 50 mg/ml, dan 25 mg/ml.

c. Penyiapan suspensi bakteri

Dalam pembuatan suspensi, yang dilakukan pertama kali adalah pembuatan kultur bakteri dengan cara penanaman bakteri murni pada media yang sesuai, yaitu *Staphylococcus epidermidis* pada media nutrisi agar, kemudian bakteri yang sudah ditanam pada media yang sesuai diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C . Hal ini dimaksudkan untuk meremajakan bakteri agar dapat bergenerasi kembali. Suspensi bakteri yang diperoleh diencerkan dengan aquades steril atau NaCl 0,9% dan disamakan dengan larutan standar Mc. Farland 0,5.

d. Pembuatan media uji

1) Nutrien Broth: Sebanyak 1,3 g nutrisi *Broth* dilarutkan dengan aquades 100 ml dalam erlenmeyer, jika perlu dipanaskan. Tutup dengan kapas dan aluminium foil, sterilkan dengan autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit. Simpan erlenmeyer dalam lemari pendingin. Pembuatan media uji, yaitu sebanyak 0,56 g dilarutkan dalam 20 ml aquades untuk satu petri, kemudian dipanaskan. Tutup dengan kapas dan aluminium foil, sterilkan dengan autoklav pada 121°C selama 15 menit. Simpan dalam lemari pendingin jika akan digunakan dicairkan kembali dan tuang untuk satu petri steril.

- 2) Nutrien agar: Sebanyak 11,2 g nutrien agar ditimbang dan dilarutkan dengan 400 ml aquades kemudian diaduk hingga homogen. Sterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121⁰C selama 15 menit.

e. Penanaman bakteri

Suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan standar Mc. Farland hingga didapat kekeruhan 10⁸ CFU/ml diambil 0,2 ml disuspensikan dengan 20 ml media steril dalam petri sampai homogen, diamkan dan biarkan beku. Pada media yang telah beku dibuat sumuran dengan diameter 6 mm. Pada masing-masing sumuran dimasukkan 20 µl ekstrak dengan kadar 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml. Untuk kontrol negatif digunakan DMSO dan untuk kontrol positif digunakan timol untuk mengetahui adanya diameter hambatan pada pertumbuhan bakteri. Inkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37⁰C. Diameter hambatan dapat dilihat setelah masa inkubasi selesai.

f. Mencari Kadar Hambat Minimum (KHM)dan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Uji potensi antibakteri dilakukan untuk mengetahui KHM dan KBM. Media yang digunakan pada uji dilusi cair adalah *nutrient broth*. Dibuat seri kadar dengan cara pengenceran bertingkat. Disiapkan 10 tabung reaksi. Tabung reaksi 1-5 digunakan untuk uji dan tabung reaksi 8-10 untuk kontrol. Tabung reaksi 1-7 diisi 2 mL media dan tabung reaksi 7-8 diisi 1 mL media. Kemudian tabung reaksi yang telah berisi media ditutup menggunakan kapas dan aluminium foli. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf beserta alat-alat gelas yang tahan panas serta *blue tip* dan *yellow tip*.

Tabung reaksi 1 ditambahkan ekstrak sebanyak 2 mL, kemudian dari tabung reaksi 1 diambil 2 mL ditambahkan ke tabung reaksi 2, begitu seterusnya sampai tabung reaksi 7. Kemudian dari tabung reaksi 7 dibuang 2 mL. Tabung reaksi 8 ditambahkan 1 mL 0,5% timol, tabung reaksi 9 ditambahkan 1 mL DMSO dan tabung 10 diisi 2 mL media. Kemudian seluruh tabung reaksi ditambahkan 20 µl suspensi bakteri kecuali tabung reaksi 10 yang berfungsi sebagai kontrol normal. Suspensi bakteri yang ditambahkan sebelumnya telah distandarkan terlebih dahulu

kekeruhannya dengan Mc. Farland 0,5. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Untuk mengetahui KHM dan KBM hasil inkubasi uji dilusi cair kemudian digoreskan pada media *nutrient agar*. Replikasi dilakukan 3 kali.

4. Identifikasi senyawa kimia

Sampel ditotolkan pada plat KLT, yaitu silika gel F 254 menggunakan pipa kapiler. Penotolan dilakukan beberapa kali, tetapi untuk penotolan berikutnya ditunggu agar penotolan yang pertama benar-benar kering. Setelah kering, kromatogram dimasukkan dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan uap fase gerak, dan dikembangkan pada jarak pengembang 10 cm. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak daun sosor bebek dapat dilakukan dengan mengukur Rf dari bercak-bercak yang dihasilkan.

1. Flavonoid

Fase diam : silika gel F₂₅₄
Fase gerak : n-butanol - asam asetat - air (9: 2 : 6, v/v)
Deteksi : UV₂₅₄, UV₃₆₆, uap amoniak ⁽²⁷⁾, Al Cl₃ ⁽¹⁴⁾.

2. Terpenoid

Fase diam : silika gel F₂₅₄
Fase gerak : toluena - n-heksana (2:8, v/v)
Deteksi : UV₂₅₄, UV₃₆₆, Anisaldehyda asam sulfat ⁽¹⁴⁾.

C. Analisis Hasil

1. Hasil uji aktivitas antibakteri dari masing-masing fraksi dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif. Hasil dilihat dari ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* oleh ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat dengan mengukur diameter hambatan.
2. Data yang diperoleh dari uji dilusi diolah menggunakan uji statistik *OneWay* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%.
3. Analisis secara kualitatif hasil uji KLT dibandingkan dengan pustaka, nilai hRf dan warna yang ditimbulkan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tumbuhan Sosor bebek

Determinasi tumbuhan sosor bebek dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia. Hasil determinasi adalah sebagai berikut:

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a – golongan 10. Daun tunggal, terletak berhadapan 239b – 243b – 244b – 248b – 249b – 250a – 251b – 253b – 254b – 255b – 256b – 267b – 271b – 273b – 276b – 278b – 279b – 282b – family *Crassulaceae* 56 – 1 *Kalanche* (genus) spesies *Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers. (Lampiran. I)



Gambar 6. Daun sosor bebek

Determinasi dilakukan berdasarkan pada buku *Flora of Java*. Tujuan dilakukannya determinasi adalah untuk menghindari kekeliruan penggunaan tumbuhan dan memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan sosor bebek

B. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah daun sosor bebek. Daun sosor bebek diperoleh dari daerah Minomartani - Sleman, Yogyakarta pada jam 08.00-10.00 pagi. Daun sosor bebek dipilih yang mempunyai bentuk yang tidak cacat, warna hijau, dan bersih dari hama.

Daun sosor bebek yang diperoleh dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan diudara terbuka dengan tetap dijaga agar tidak terkena kotoran dan debu. Selanjutnya daun dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 60°C selama tiga hari. Tujuan pengeringan dilakukan di dalam lemari pengering adalah untuk menjaga suhu pengeringan stabil sehingga diperoleh hasil pengeringan yang merata.

Setelah daun sosor bebek kering, kemudian diserbuk dengan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk kering daun sosor bebek. Tujuan dilakukannya penyerbukan ini yaitu untuk mengurangi ukuran partikel sehingga luas permukaan efektif menjadi meningkat. Dengan meningkatnya luas permukaan maka akan meningkatkan pula kontak antara permukaan dengan pelarut, sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalam daun sosor bebek dapat terekstraksi lebih optimal.

C. Hasil Ekstraksi Daun Sosor Bebek

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara perendaman. Bahan yang akan diekstraksi dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditambahkan cairan penyari dan dilakukan perendaman. Alasan pemilihan maserasi karena pada metode ini dalam prosenya tidak menggunakan pemanasan sehingga cocok untuk mengekstraksi senyawa kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Maserasi dilakukan dalam dua tahap, yaitu dengan menggunakan penyari petroleum eter dan pelarut etil asetat. Hal ini dilakukan untuk dapat mengekstraksi senyawa baik yang bersifat polar maupun non-polar. Maserasi yang pertama menggunakan pelarut petroleum eter yang bersifat non-polar. Maserasi dilakukan selama 48 jam pada kondisi terlindung dari sinar matahari secara langsung. Kemudian setelah 48 jam ekstrak dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ampas dari maserasi tadi kemudian di maserasi kembali dengan petroleum eter. Proses maserasi dengan petroleum eter ini dilakukan berulang kali sampai cairan penyari terlihat bening yang berarti bahwa senyawa non-polar yang terkandung dalam serbuk sosor bebek telah

terlarut dalam cairan penyari. Ampas dari hasil maserasi tadi kemudian dikeringkan sampai kandungan cairan penyari benar benar hilang.

Maserasi yang kedua menggunakan penyari etil asetat dilakukan setelah ampas kering. Proses maserasi menggunakan penyari etil asetat sama dengan maserasi menggunakan petroleum eter. Maserasi dilakukan selama 48 jam pada kondisi terlindung dari sinar matahari secara langsung. Kemudian setelah 48 jam ekstrak dipekatkan menggunakan *vacum rotary evapotor* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Proses maserasi dengan penyari ini dilakukan berulang sampai cairan penyari terlihat jernih.

Alasan kenapa etil asetat digunakan pada maserasi yang kedua karena etil asetat merupakan penyari yang bersifat semi polar, sehingga tidak hanya senyawa polar saja yang dapat larut dalam penyari ini tapi juga senyawa yang bersifat non-polar. Jika proses maserasi yang pertama dilakukan dengan menggunakan etil asetat maka dikhawatirkan akan ada senyawa yang bersifat non-polar ikut terekstraksi. Oleh karena, itu maserasi dilakukan pertama kali menggunakan pelarut petroleum eter yang bersifat non-polar kemudian maserasi kedua menggunakan pelarut etil asetat.

Dari proses dua tahap maserasi ini diperoleh ekstrak petroleum eter yang bersifat non-polar dan fraksi etil asetat yang bersifat polar. Kedua ekstrak inilah yang akan diuji aktivitasnya terhadap bakteri *S. epidermidis*.

Tabel II. Rendemen yang dihasilkan

Ekstrak	Bobot ekstrak (gram)	Bobot serbuk (gram)	Rendemen (% b/b)
petroleum eter	30,55	187,54	16,28
Etil asetat	3,05	130,25	2,34

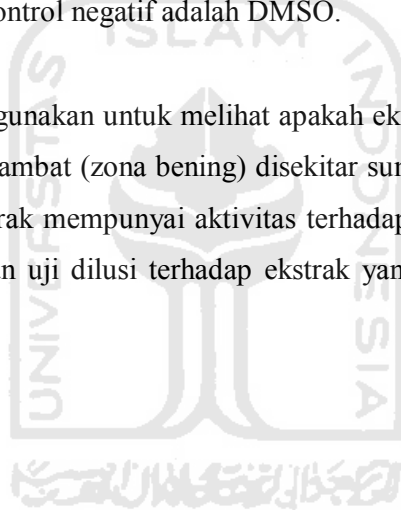
D. Hasil Uji Pendahuluan: Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sosor Bebek Dengan Metode Difusi

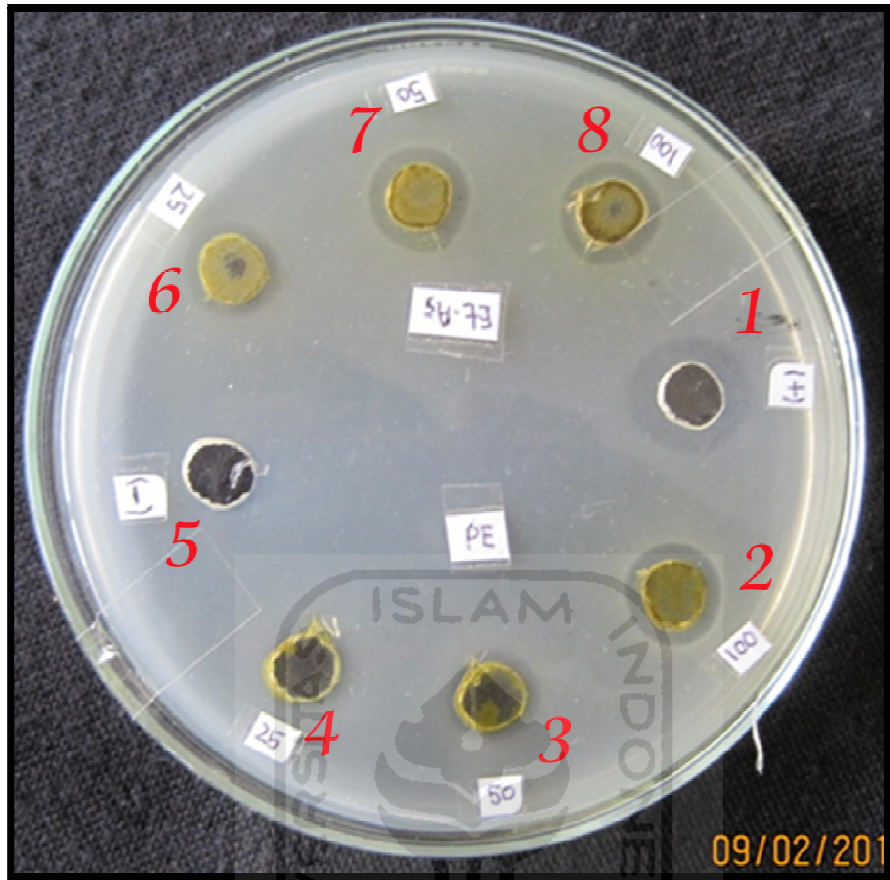
Untuk mengetahui apakah ekstrak daun sosor bebek memiliki aktivitas antibakteri maka perlu dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak tersebut yaitu dengan uji difusi. Hasil dari uji difusi yaitu untuk menyatakan ada atau tidaknya

potensi tersebut. Hasil ini juga untuk menentukan langkah/uji selanjutnya yang akan dilakukan.

Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan metode sumuran, dimana dengan membuat sumuran pada agar yang telah mengandung bakteri kemudian diisi pada sumuran tersebut ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat yang masing-masing dibuat dalam kadar 25 mg/mL, 50 mg/mL, dan 100 mg/mL. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak daun sosor bebek adalah DMSO (*dimethyl sulfoxide*) yang merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik non-polar dan polar, disamping itu DMSO tidak memberikan daya hambat sehingga tidak akan mengganggu hasil uji aktivitas antibakteri. Pada uji pendahuluan kontrol positif yang digunakan adalah larutan timol 0,5% dan kontrol negatif adalah DMSO.

Indikator yang digunakan untuk melihat apakah ekstrak memiliki aktivitas antibakteri adalah zona hambat (zona bening) disekitar sumuran. Apabila terdapat zona hambat berarti ekstrak mempunyai aktivitas terhadap bakteri *S. epidermidis* dan selanjutnya dilakukan uji dilusi terhadap ekstrak yang mempunyai aktivitas tersebut.





Gambar 7. Hasil uji difusi

Keterangan :

Diameter sumuran = 6 mm

1. Kontrol positif = Timol 0.5 %
2. Ekstrak PE konsentrasi 100 mg/mL
3. Ekstrak PE konsentrasi 50 mg/mL
4. Ekstrak PE konsentrasi 25 mg/mL
5. Kontrol negatif = DMSO 100 %
6. Fraksi etil asetat konsentrasi 25 mg/mL
7. Fraksi etil asetat konsentrasi 50 mg/mL
8. Fraksi etil asetat konsentrasi 100 mg/mL

Hasil yang dapat dilihat berupa adanya zona radikal di sekitar sumuran. Zona radikal ini merupakan zona jernih yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Selain zona radikal terdapat juga zona irradikal yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri tapi tidak dimatikan. Hasil uji difusi ini kemudian dihitung secara statistik menggunakan uji statistic Oneway ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%.

Tabel III. Hasil uji pendahuluan

	Kadar (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		X ₁	X ₂	X ₃	
Petroleum eter	25	6,25	6,00	7,05	6,43 ± 0,55
	50	6,85	7,25	8,15	7,42 ± 0,67
	100	7,15	8,15	9,15	8,15 ± 1,00
Etil asetat	25	7,05	7,10	8,55	7,57 ± 0,85
	50	8,15	7,55	9,55	8,42 ± 1,03
	100	9,10	9,15	9,75	9,33 ± 0,36
Kontrol +		9,55	9,60	9,75	9,36 ± 0,10
Kontrol -		6,00	6,00	6,00	6,00 ± 0,00

Keterangan

Diameter sumuran = 6 mm

X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi

Kontrol positif = Timol 0.5 %

Kontrol negatif = DMSO 100 %

Petroleum eter = Ekstrak petrooleum eter

Etil asetat = Fraksi etil asetat

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa kedua ekstrak baik petrooleum eter maupun fraksi etil asetat keduanya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*. Selanjutnya data tersebut diolah menggunakan One-Way ANOVA untuk mengetahui signifikansi perbedaannya.

Test of Homogeneity of Variances menghasilkan nilai *Leven statistic* 2,468 dengan nilai signifikansi 0,064. Karena nilai signifikansi > 0,05 maka dapat dikatakan bahwa data di atas mempunyai variansi yang identik atau dengan kata lain adalah normal sehingga asumsi kesamaan variansi untuk uji ANOVA terpenuhi. Uji ANOVA menghasilkan F hitung 10,745 dengan probabilitas 0,000 adalah lebih kecil dari 0,05. Jadi data diatas mempunyai rata-rata minimal ada satu yang tidak sama sehingga dilakukan uji lanjut. Di bawah ini disajikan tabel signifikansi perbandingan antara masing-masing konsentrasi ekstrak petrooleum eter dengan fraksi etil asetat.

Tabel IV. Hasil One-Way ANOVA (Lampiran. II)

Perbandingan	Signifikansi		Hasil	
	Tukey	Benferoni	Tukey	Benferoni
Petroleum eter 25 vs Etil asetat 25	0,482	1,000	Tidak signifikan	Tidak signifikan
Petroleum eter 50 vs Etil asetat 50	0,623	1,000	Tidak signifikan	Tidak signifikan
Petroleum eter 100 vs Etil asetat 100	0,431	1,000	Tidak signifikan	Tidak signifikan
Petroleum eter 25 vs K+	0,001	0,001	Signifikan	Signifikan
Petroleum eter 50 vs K+	0,018	0,028	Signifikan	Signifikan
Petroleum eter 100 vs K+	0,197	0,456	Tidak signifikan	Tidak signifikan
Etil asetat 25 vs K+	0,030	0,050	Signifikan	Signifikan
Etil asetat 50 vs K+	0,399	1,000	Tidak signifikan	Tidak signifikan
Etil asetat 100 vs K+	0,999	1,000	Tidak signifikan	Tidak signifikan

Jika nilai signifikansi $< 0,05$ maka perbedaan yang terjadi bersifat signifikan begitu juga sebaliknya jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka perbedaan yang terjadi tidak signifikan. Semua perbandingan konsentrasi antara ekstrak petroleum eter dengan fraksi etil asetat tidak berbeda signifikan baik secara uji Tukey maupun Benferoni. Pada perbandingan antara ekstrak PE dengan kontrol positif diperoleh hasil bahwa perbedaan yang terjadi bersifat signifikan kecuali untuk ekstrak PE dengan kadar 100 %. Untuk perbandingan antara fraksi etil asetat dengan kontrol positif terlihat bahwa tidak terjadi perbedaan yang signifikan baik pada uji Tukey maupun Benferoni kecuali pada fraksi etil asetat dengan kadar 25 %.

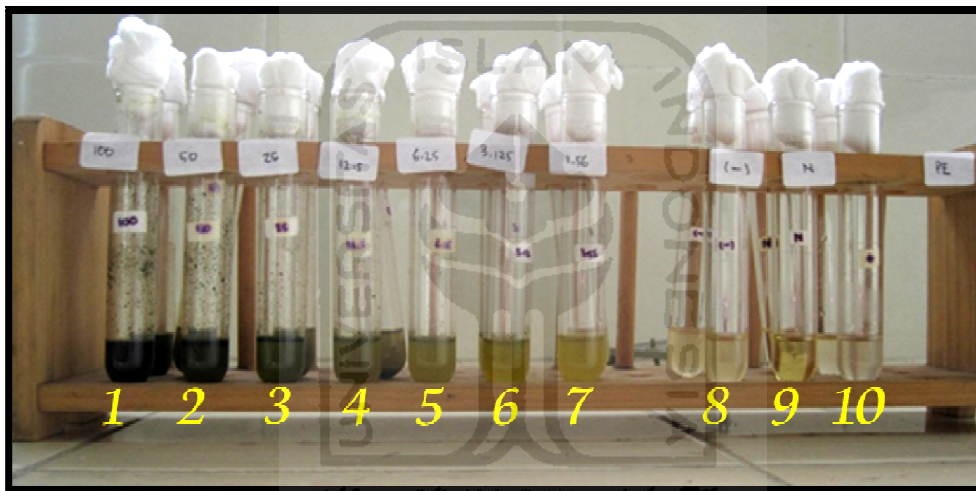
E. Hasil Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Sosor Bebek dengan Metode Dilusi Cair

Sebagai tindak lanjut dari hasil uji difusi maka dilakukan dilusi cair. Pertimbangan akan kekurangan pada metode difusi menentukan diambilnya langkah ini. Metode dilusi ini selain dapat menentukan KHM, juga dapat menentukan KBM sekaligus.

Uji dilusi cair ini dilakukan dengan melakukan pengenceran bertingkat dari konsentrasi 100 mg/mL diencerkan sampai konsentrasi 1,56 mg/mL.

Indikator dari uji dilusi ini berupa kekeruhan atau kejernihan untuk sampel yang jernih. Kekeruhan menunjukkan hasil negatif, artinya pada konsentrasi tersebut masih terdapat pertumbuhan bakteri. Akan tetapi ekstrak daun sosor bebek merupakan ekstrak yang berwarna sehingga jika hanya melihat dari kekeruhan akan sulit untuk menentukan kekeruhan yang merupakan akibat pertumbuhan bakteri maka hasil dari uji dilusi digoreskan pada permukaan agar untuk melihat apakah ekstrak memiliki aktivitas antibakteri atau tidak.

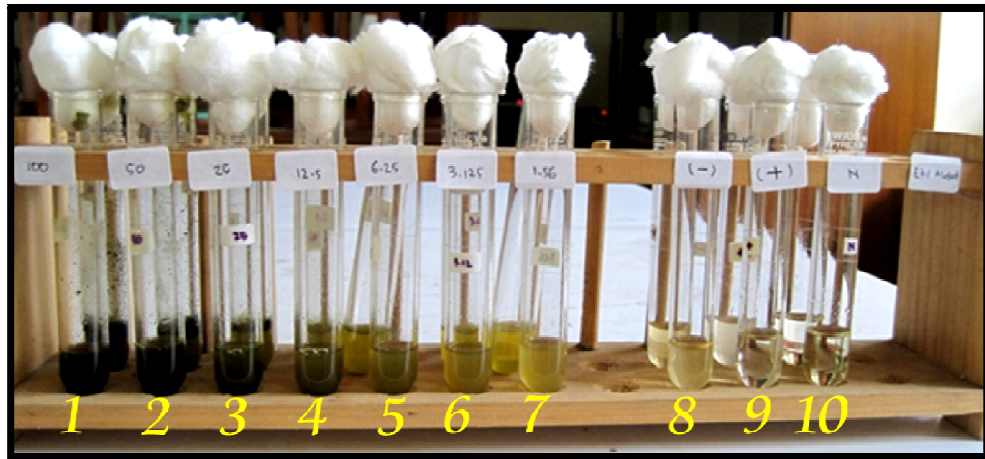
Uji dilusi cair dilakukan untuk mengetahui nilai konsentrasi bunuh minimal (KBM) dan konsentrasi hambat minimal (KHM). Di bawah ini foto hasil uji dilusi.



Gambar 8. Uji dilusi cair ekstrak petroleum eter

Keterangan:

- 1 = Ekstrak konsentrasi 100 mg/mL + media + bakteri
- 2 = Ekstrak konsentrasi 50 mg/mL + media + bakteri
- 3 = Ekstrak konsentrasi 25 mg/mL + media + bakteri
- 4 = Ekstrak konsentrasi 12,5 mg/mL + media + bakteri
- 5 = Ekstrak konsentrasi 6,25 mg/mL + media + bakteri
- 6 = Ekstrak konsentrasi 3.125 mg/mL + media + bakteri
- 7 = Ekstrak konsentrasi 1,56 mg/mL + media + bakteri
- 8 = Kontrol negatif (media + bakteri)
- 9 = Kontrol netral (media + DMSO)
- 10 = Kontrol positif (media + timol 0,5% + bakteri)



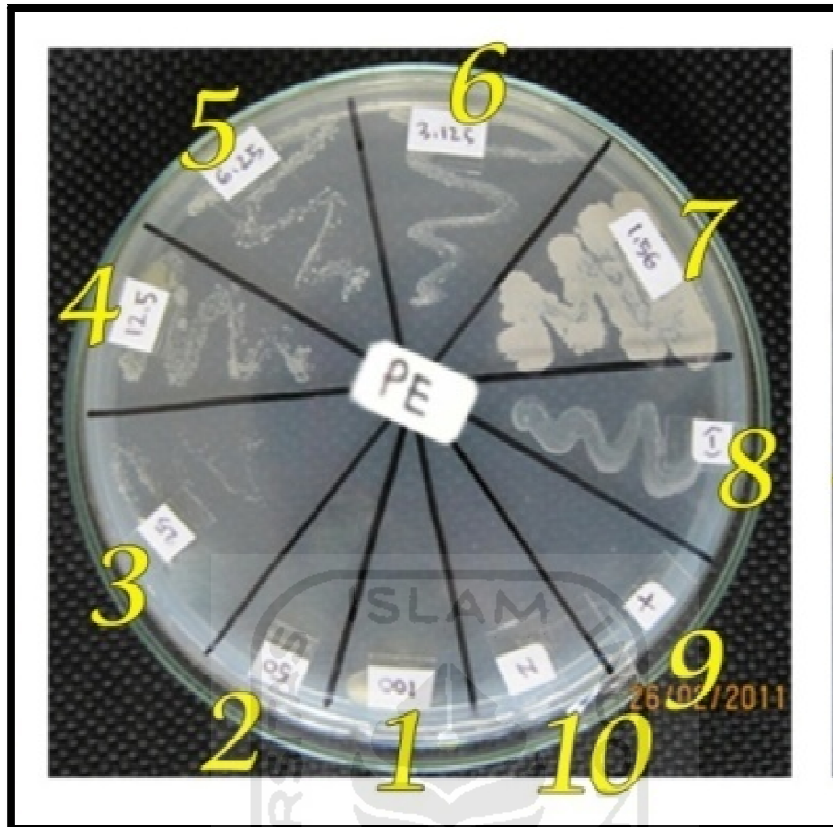
Gambar 9. Uji dilusi cair fraksi etil asetat

Keterangan:

- 1 = Ekstrak konsentrasi 100 mg/mL + media + bakteri
- 2 = Ekstrak konsentrasi 50 mg/mL + media + bakteri
- 3 = Ekstrak konsentrasi 25 mg/mL + media + bakteri
- 4 = Ekstrak konsentrasi 12,5 mg/mL + media + bakteri
- 5 = Ekstrak konsentrasi 6,25 mg/mL + media + bakteri
- 6 = Ekstrak konsentrasi 3.125 mg/mL + media + bakteri
- 7 = Ekstrak konsentrasi 1,56 mg/mL + media + bakteri
- 8 = Kontrol negatif (media + bakteri)
- 9 = Kontrol positif (media + timol 0,5% + bakteri)
- 10 = Kontrol netral (media + DMSO)

Karena ekstrak sosor bebek merupakan ekstrak yang berwarna maka dalam percobaan ini kekeruhan tidak menjadi indikator adanya pertumbuhan *S. epidermidis* akan tetapi menunjukkan tingkat konsentrasi. Sedangkan pada kontrol negatif, kontrol positif, dan kontrol normal pertumbuhan *S. epidermidis* dapat langsung diamati karena ketiganya berupa larutan jernih. Pada kontrol negatif terjadi kekeruhan, hal ini menunjukkan adanya pertumbuhan *S. epidermidis*. Sedangkan pada kontrol positif dan kontrol normal media tetap jernih dan tidak terlihat adanya pertumbuhan *S. epidermidis*.

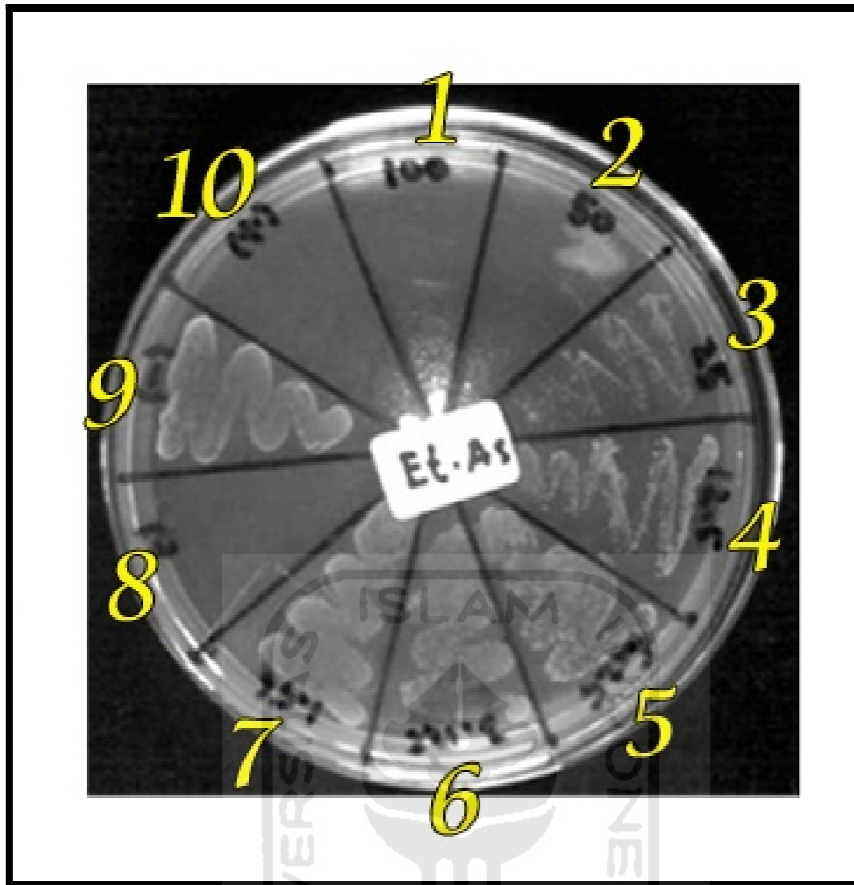
Untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) hasil dari uji dilusi cair kemudian digoreskan pada permukaan agar dalam cawan petri. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil dari penggoresan pada permukaan agar adalah sebagai berikut.



Gambar 10. Hasil penggoresan uji dilusi cair ekstrak petroleum eter

Keterangan:

- 1 = Ekstrak konsentrasi 100 mg/mL
- 2 = Ekstrak konsentrasi 50 mg/mL
- 3 = Ekstrak konsentrasi 25 mg/mL
- 4 = Ekstrak konsentrasi 12,5 mg/mL
- 5 = Ekstrak konsentrasi 6,25 mg/mL
- 6 = Ekstrak konsentrasi 3.125 mg/mL
- 7 = Ekstrak konsentrasi 1,56 mg/mL
- 8 = Kontrol negatif
- 9 = Kontrol positif
- 10 = Kontrol normal



Gambar 11. Hasil penggoresan uji dilusi cair fraksi etil asetat

Keterangan:

- 1 = Ekstrak konsentrasi 100 mg/mL
- 2 = Ekstrak konsentrasi 50 mg/mL
- 3 = Ekstrak konsentrasi 25 mg/mL
- 4 = Ekstrak konsentrasi 12,5 mg/mL
- 5 = Ekstrak konsentrasi 6,25 mg/mL
- 6 = Ekstrak konsentrasi 3.125 mg/mL
- 7 = Ekstrak konsentrasi 1,56 mg/mL
- 8 = Kontrol negatif
- 9 = Kontrol positif
- 10 = Kontrol normal

Tabel V. *Konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat*

Konsentrasi (mg/mL)	Pertumbuhan bakteri			
	Ekstrak petroleum eter		Fraski etil asetat	
	Rep 1	Rep 2	Rep 1	Rep 2
100.00	-	-	-	-
50,0	-	-	-	-
25,0	+	+	+	+
12,5	+	+	+	+
6,25	+++	+	++	+
3,125	+++	+	++	++
1,56	+++	+++	++	++
Kontrol negatif	++	++	++	++
Kontrol positif	-	-	-	-
Kontrol normal	-	-	-	-

Keterangan:

- X : replikasi
- (-) : sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri
- (+) : bakteri yang tumbuh sedikit
- (++) : bakteri yang tumbuh banyak

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa pada ekstrak petroleum eter terjadi penghambatan pertumbuhan *S. epidermidis* pada konsentrasi 50 mg/mL dan pada konsentrasi 100 mg/mL tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri sedikitpun. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak petroleum eter daun sosor bebek terhadap *S. epidermidis* adalah pada konsentrasi 50 mg/mL dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) pada konsentrasi 100 mg/mL.

Pada fraksi etil asetat kemampuan menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* terlihat pada konsentrasi 50 mg/mL. Pada konsentrasi 100 mg/mL permukaan media agar bersih dari pertumbuhan *S. epidermidis*. Jadi konsentrasi hambat minimal (KHM) fraksi etil asetat daun sosor bebek terhadap *S. epidermidis* adalah pada konsentrasi 50 mg/mL dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) pada konsentrasi 100 mg/mL.

F. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Sosor Bebek

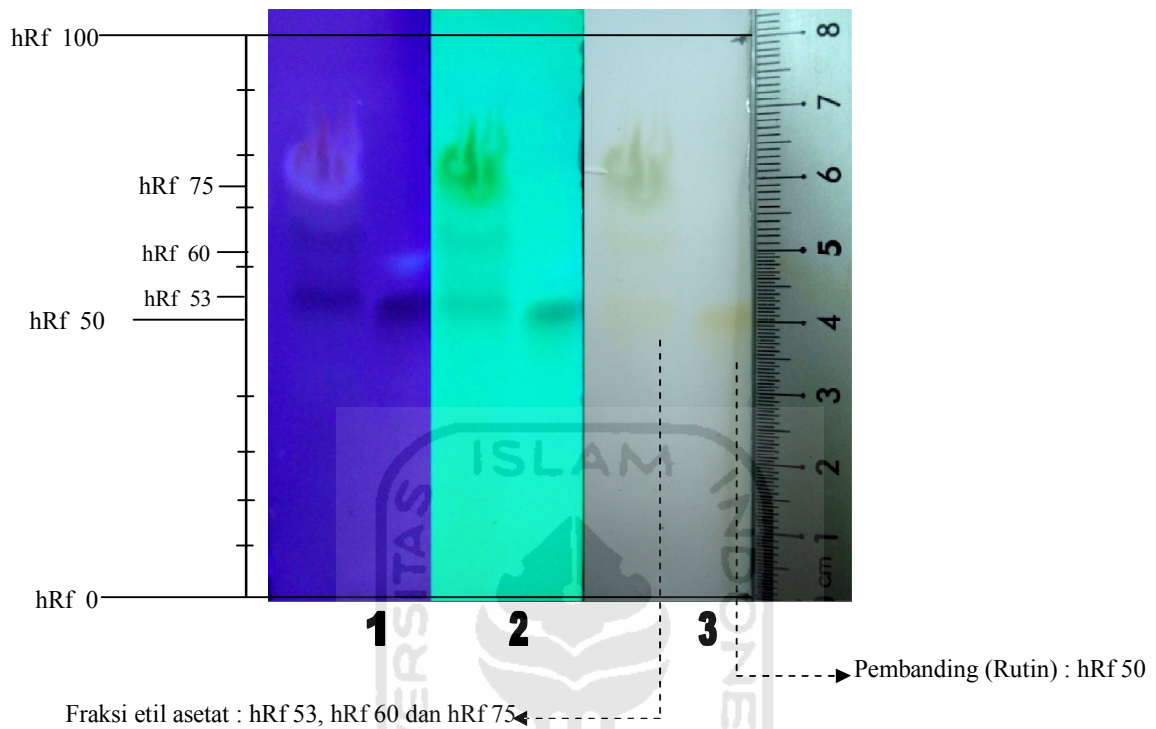
Untuk mendapatkan penegasan tentang gambaran golongan senyawa kimia yang terkandung dalam daun sosor bebek maka perlu dilakukan uji identifikasi dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Eluen yang digunakan untuk ekstrak petroleum eter menggunakan campuran eluen n-heksana-toluena (8:2, v/v) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄. Eluen yang digunakan untuk fraksi etil asetat adalah BAW dengan perbandingan (9:2:6, v/v) dan fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄. Semua eluen yang digunakan untuk KLT mempunyai tingkatan *pro analysis* (p.a).

Petroleum eter merupakan pelarut non-polar sehingga bisa dipastikan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter adalah senyawa-senyawa non-polar. Begitu juga dengan etil asetat yang mempunyai sifat semi polar bisa dipastikan senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat adalah senyawa-senyawa yang bersifat polar.

1. Identifikasi senyawa flavonoid

Deteksi senyawa flavonoid dalam daun sosor bebek dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot aluminium klorida. Flavonoid dapat memberikan pemadaman dibawah sinar UV₂₅₄⁽²⁸⁾ dan dapat memberikan fluoresensi hijau kuning jika disemprot dengan aluminium klorida⁽¹⁴⁾.

Pereaksi aluminium klorida digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid. Sampel dinyatakan positif mengandung senyawa golongan flavonoid jika terbentuk fluoresensi hijau kuning dengan sinar UV₃₆₆ setelah penyemprotan⁽²⁸⁾. Pada identifikasi senyawa flavonoid ini yang digunakan sebagai pembanding adalah rutin.



Gambar 12. Hasil KLT identifikasi flavonid fraksi etil asetat sebelum disemprot pereaksi aluminium klorida

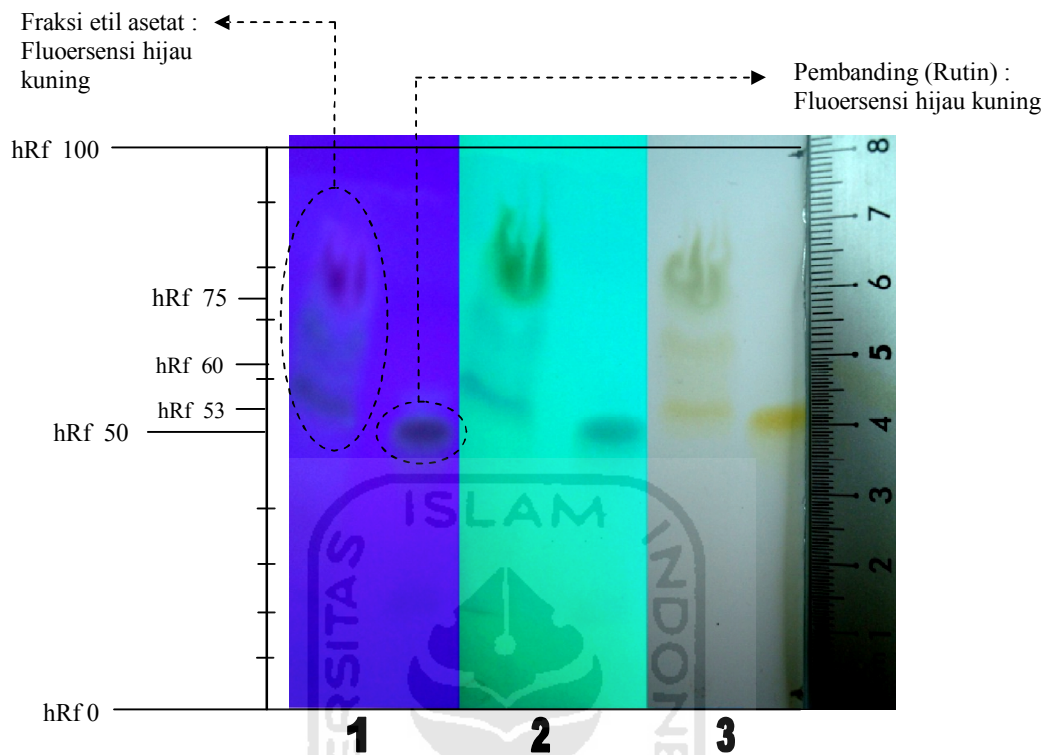
Keterangan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄

Fase gerak: n heksana-toluena (8:2, v/v)

Pembanding : Rutin

1. UV₃₆₆
2. UV₂₅₄
3. Sinar tampak



Gambar 13. Hasil KLT identifikasi flavonid fraksi etil asetat setelah disemprot pereaksi aluminium klorida

Keterangan:

Pereaksi semprot : aluminium klorida

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄

Fase gerak: n heksana-toluena (8:2 v/v)

Pembanding : Rutin

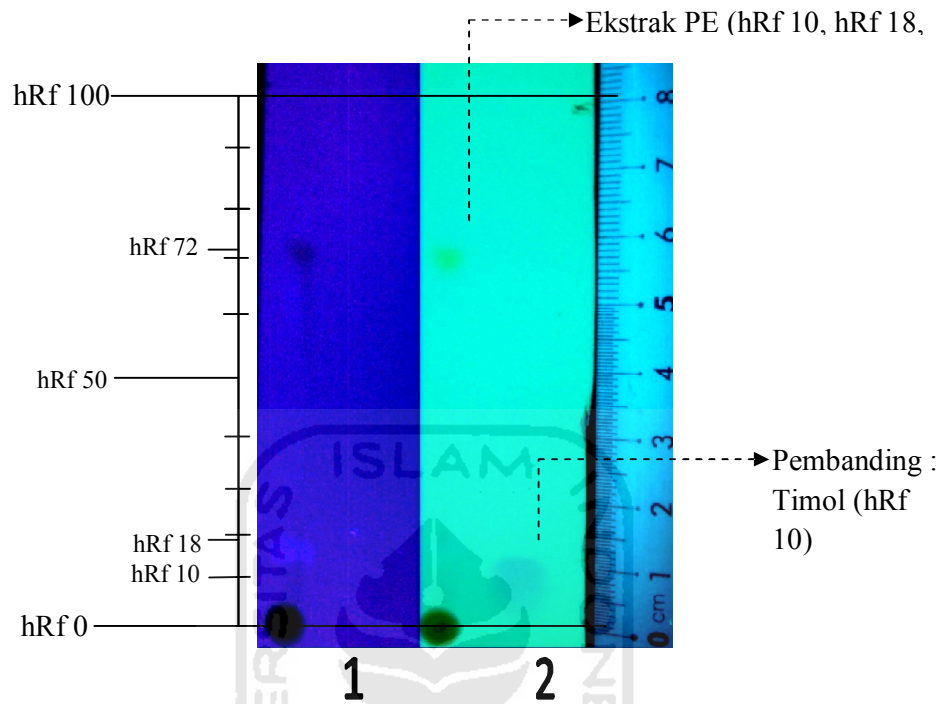
1. UV₃₆₆
2. UV₂₅₄
3. Sinar tampak

Pada fraksi etil asetat muncul tiga bercak dengan hRf 53, hRf 60 dan hRf 75. Dibawah sinar tampak bercak dengan hRf 53 dan hRf 60 terlihat berwarna kuning, sedangkan hRf 75 berwarna kuning kehijauan. Jumlah bercak yang sama juga terlihat di bawah UV₂₅₄, dan pada UV₃₆₆ terjadi pemadaman di area bercak. Semua bercak menghasilkan warna kuning setelah disemprot dengan pereaksi aluminium klorida. Dari hasil warna yang terlihat maka dapat dikatakan bahwa ketiga bercak tersebut termasuk dalam senyawa flavonoid.

Bila dibandingkan dengan bercak senyawa pembanding (rutin) yang memiliki hRf 50 maka dapat dikatakan bahwa fraksi etil asetat daun sosor bebek mengandung golongan senyawa flavonoid karena nilai hRf antara pembanding dengan bercak sampel tidak berbeda jauh. Tapi tentu saja nilai hRf yang tidak berbeda jauh ini (hRf antara bercak pembanding dengan bercak sampel) tidak dapat dijadikan patokan utama dalam menentukan kesamaan kandungan senyawa. Hal ini berarti bahwa senyawa pada hRf 50 belum tentu rutin. Yang dapat dijadikan patokan utama adalah terbentuknya fluoresensi hijau kuning dengan sinar UV₃₆₆ setelah penyemprotan⁽²⁸⁾.

2. Identifikasi senyawa terpenoid

Identifikasi senyawa terpenoid dalam daun sosor bebek dilakukan menggunakan pereaksi semprot Anisaldehyd. Pereaksi semprot ini digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid. Sampel dikatakan positif mengandung senyawa golongan terpenoid jika terbentuk warna ungu, biru, biru-ungu, atau orange ke merah ungu yang dapat dilihat pada sinar tampak setelah dilakukan penyemprotan⁽¹⁴⁾. Warna tersebut diatas akan tampak setelah plat dipanaskan pada suhu 110°C selama 5 – 10 menit⁽²⁸⁾.



Gambar 14. Hasil KLT identifikasi terpenoid ekstrak petroleum eter sebelum disemprot pereaksi anisaldehyd asam sulfat

Keterangan:

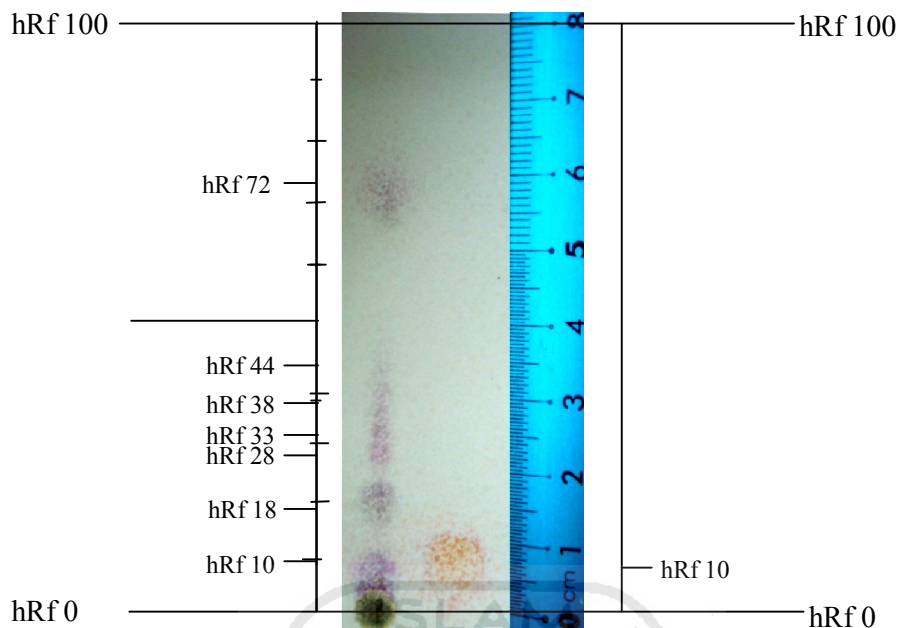
Pereaksi semprot: Anisaldehyd asam sulfat

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄

Fase gerak: B:A:W (9:2:6, v/v)

Pembanding: Timol

1. UV₃₆₆
2. UV₂₅₄



Gambar 15. Hasil KLT identifikasi terpenoid ekstrak petroleum eter setelah disemprot pereaksi anisaldehyd asam sulfat dibawah sinar tampak

Keterangan:

Fase diam: silika gel 60 F₂₅₄

Fase gerak: B:A:W (9:2:6 v/v)

Pembanding: Timol

Pada ekstrak PE sebelum plat KLT disemprot pereaksi anisaldehyd asam sulfat diperoleh 2 bercak (hRf 18 dan hRf 72) baik pada sinar UV₂₅₄ maupun UV₃₆₆. Setelah plat disemprot bercak bertambah menjadi tujuh spot (hRf 10, 18, 28, 33, 38, 44 dan 72) dan berubah warna menjadi ungu dilihat pada sinar tampak. Sedangkan pada bercak pembanding (hRf 10) warna yang timbul setelah disemprot adalah orange. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan adanya warna ungu, biru, biru-ungu, atau orange ke merah ungu yang dapat dilihat pada sinar tampak setelah dilakukan penyemprotan ⁽²⁸⁾. Jadi dapat disimpulkan bahwa keempat bercak yang berubah warna tadi merupakan golongan senyawa terpenoid dan ini berarti bahwa ekstrak PE daun sosor bebek mengandung senyawa terpenoid. Untuk hRf 0 juga terlihat bercak tebal berwarna hijau tua yang berarti bahwa masih ada senyawa masih belum terpisahkan oleh fase gerak.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan uraian pembahasan di atas dapat di tarik kesimpulan:

1. Ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun sosor bebek mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*.
2. Ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun sosor bebek mempunyai potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis* dengan KHM 50 mg/mL serta KBM 100 mg/mL.
3. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter adalah terpenoid serta golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat adalah flavonoid.

B. Saran

1. Perlu dilakukan uji bioautografi untuk menentukan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*.
2. Perlu dilakukan uji KLT kembali untuk menentukan golongan senyawa yang masih belum terpisah.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Hutapea, J.R., 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, ed 3, Penerbit Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- (2) Lana, Ana. 2005. Toksisitas Fraksi Etil Asetat Daun Cocor Bebek *Kalanchoe daigremontiana* Hamet & Perrier. <http://hpt.unpad>
- (3) Nayak, B.S., Marshal, J.R., Isitor, G. Wound Healing potential of ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* Lam. Daun-A preliminary study. 2010.
- (4) Wahyu Barata, R. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Secara *In vitro*. Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- (5) Anonim, 2010, *Staphylococcus epidermidis*, http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis (diakses 15 juni 2011)
- (6) *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. USDA Natural Resources Conservation Service. PLANTS Profile. <http://plants.usda.gov/java/nameSearch?keywordquery=Kalanchoe+pinnata&mode=sciname&submit.x=12&submit.y=8> (diakses 2 juni 2011)
- (7) Stennis, C.G.G.J, 1975, *Flora Untuk Sekolah Di Indonesia*, PT Prandya Paramita, Jakarta
- (8) Anonim, 1997, *Materia Medika Indonesia* jilid I, 40 - 41 ; 43 – 45, Depkes, Jakarta
- (9) Anonim, 2011, *Kalanchoe pinnata*, <http://www.rain-tree.com/kalanchoe-chemicals.pdf> (diakses 13 mei 2011)
- (10) Anonim, 2010, *Sosor bebek*, <http://faridbj.blogspot.com/2010/10/manfaat-sosor-bebek-cocor-bebek-bagi.html>.
- (11) Markham, K. R., 1998, Cara mengidentifikasi flavonoid, ITB, Bandung, 1-3.
- (12) Trease, G.E., and Evans, W.C., 2002, *Pharmacognosy*, 11 th Ed, Bailliere Tindall, London.

- (13) Geissman, T.A., 1962, *The Chemistry Of Flavonoid Compound*, The Mac Milln Company, New York.
- (14) Harborne, J.B, 1996, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh : Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro, Edisi Kelima, Terbitan Kedua, Penerbit ITB, Bandung, 47, 70-71.
- (15) Dzen, 2003, *Bakteriologi Medik*, Bayumedia Publishing, Malang, 119, 131.
- (16) Anonim, 2010, *Staphylococcus epidermidis*,
<http://archive.microbelibrary.org/ASMOnly/Details.asp?ID=2037>
(diakses 26 Mei 2011).
- (17) Jawetz, E., Melnick, J. L, and Adelberg, E.A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi pertama, Salemba Medika, Jakarta, 308
- (18) Anonim, 1994, *Mikrobiologi Kedokteran*, Binarupa aksara, hal 103, 111
- (19) Ansel, Haward C., 1985, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Universitas Indonesia press, Jakarta, 607-609
- (20) Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 16-18.
- (21) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Rebutlik Indonesia, Jakarta, 9-12.
- (22) Tyler, V. e., Brady, L. R., Robers, J. E., 1988, *Pharmacognosy*, 9th Edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- (23) Tortora, G. C.; Funke, B.R.; Case, C. L., 2007, *Microbiology*, An Introduction, Ninth Edition, Pearson Benjamin, San Fransisco
- (24) Anonim, 1993, *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 115-116.
- (25) Jawetz, E., Melnick, J.L, and Adelberg, E.A., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20, alih bahasa oleh Edi Nugroho, R.F., Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- (26) Sastrohamidjojo, H., 1985, *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 34-36

- (27) Sabir, A. Aktivitas antibakteri flavonoid *propolis Trigona sp* terhadap bakteri *Streptococcus mutans (in vitro)*. Universitas Hasanuddin
- (28) Wagner, H., Bladt, S., S., Zgainski, E. M., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd ED, Springer – verlag Berlin Heinderlberg, New York, 226 – 228.



LAMPIRAN



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:37/UII/Jur Far/det/III/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi
Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Abdul Ghofur
NIM : 05613122
Pada tanggal : 9 April 2011

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan
Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Kalanchoe pinnata*, Pers (cocor bebek)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

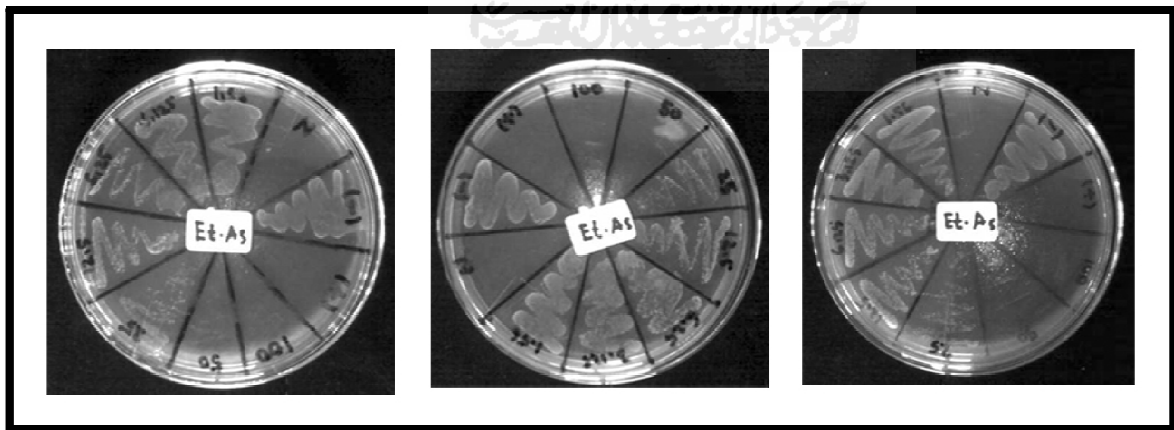
Yogyakarta, 9 April 2011
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,



Hady Anshory T.S.Si., Apt.
NIP.056130703



Hasil penggoresan uji dilusi cair ekstrak petroleum eter



Hasil penggoresan uji dilusi cair fraksi etil asetat

Descriptives

ZonaHambat								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
etil asetat 25	3	7.5667	.85196	.49188	5.4503	9.6830	7.05	8.55
etil asetat 50	3	8.4167	1.02632	.59255	5.8671	10.9662	7.55	9.55
etil asetat 100	3	9.3333	.36171	.20883	8.4348	10.2319	9.10	9.75
PE 25	3	6.4333	.54848	.31667	5.0708	7.7958	6.00	7.05
PE 50	3	7.4167	.66583	.38442	5.7626	9.0707	6.85	8.15
PE 100	3	8.1500	1.00000	.57735	5.6659	10.6341	7.15	9.15
k +	3	9.6333	.10408	.06009	9.3748	9.8919	9.55	9.75
k -	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	24	7.8687	1.34793	.27515	7.2996	8.4379	6.00	9.75

Test of Homogeneity of Variances

ZonaHambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.468	7	16	.064

ANOVA

ZonaHambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34.459	7	4.923	10.745	.000
Within Groups	7.330	16	.458		
Total	41.789	23			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZonaHambat

			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	(I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	etil asetat 25	etil asetat 50	-.85000	.55265	.777	-2.7633	1.0633
		etil asetat 100	-1.76667	.55265	.082	-3.6800	.1467
		PE 25	1.13333	.55265	.482	-.7800	3.0467
		PE 50	.15000	.55265	1.000	-1.7633	2.0633
		PE 100	-.58333	.55265	.957	-2.4967	1.3300
		k +	-2.06667*	.55265	.030	-3.9800	-.1533
		k -	1.56667	.55265	.154	-.3467	3.4800
	etil asetat 50	etil asetat 25	.85000	.55265	.777	-1.0633	2.7633

	etil asetat 100	-.91667	.55265	.711	-2.8300	.9967
	PE 25	1.98333*	.55265	.039	.0700	3.8967
	PE 50	1.00000	.55265	.623	-.9133	2.9133
	PE 100	.26667	.55265	1.000	-1.6467	2.1800
	k +	-1.21667	.55265	.399	-3.1300	.6967
	k -	2.41667*	.55265	.009	.5033	4.3300
etil asetat 100	etil asetat 25	1.76667	.55265	.082	-.1467	3.6800
	etil asetat 50	.91667	.55265	.711	-.9967	2.8300
	PE 25	2.90000*	.55265	.002	.9867	4.8133
	PE 50	1.91667*	.55265	.049	.0033	3.8300
	PE 100	1.18333	.55265	.431	-.7300	3.0967
	k +	-.30000	.55265	.999	-2.2133	1.6133
	k -	3.33333*	.55265	.000	1.4200	5.2467
PE 25	etil asetat 25	-1.13333	.55265	.482	-3.0467	.7800
	etil asetat 50	-1.98333*	.55265	.039	-3.8967	-.0700
	etil asetat 100	-2.90000*	.55265	.002	-4.8133	-.9867
	PE 50	-.98333	.55265	.641	-2.8967	.9300
	PE 100	-1.71667	.55265	.096	-3.6300	.1967
	k +	-3.20000*	.55265	.001	-5.1133	-1.2867
	k -	.43333	.55265	.992	-1.4800	2.3467
PE 50	etil asetat 25	-.15000	.55265	1.000	-2.0633	1.7633

	etil astat 50	-1.00000	.55265	.623	-2.9133	.9133
	etil astat 100	-1.91667*	.55265	.049	-3.8300	-.0033
	PE 25	.98333	.55265	.641	-.9300	2.8967
	PE 100	-.73333	.55265	.876	-2.6467	1.1800
	k +	-2.21667*	.55265	.018	-4.1300	-.3033
	k -	1.41667	.55265	.238	-.4967	3.3300
PE 100	etil astat 25	.58333	.55265	.957	-1.3300	2.4967
	etil astat 50	-.26667	.55265	1.000	-2.1800	1.6467
	etil astat 100	-1.18333	.55265	.431	-3.0967	.7300
	PE 25	1.71667	.55265	.096	-.1967	3.6300
	PE 50	.73333	.55265	.876	-1.1800	2.6467
	k +	-1.48333	.55265	.197	-3.3967	.4300
	k -	2.15000*	.55265	.022	.2367	4.0633
k +	etil astat 25	2.06667*	.55265	.030	.1533	3.9800
	etil astat 50	1.21667	.55265	.399	-.6967	3.1300
	etil astat 100	.30000	.55265	.999	-1.6133	2.2133
	PE 25	3.20000*	.55265	.001	1.2867	5.1133
	PE 50	2.21667*	.55265	.018	.3033	4.1300
	PE 100	1.48333	.55265	.197	-.4300	3.3967
	k -	3.63333*	.55265	.000	1.7200	5.5467
k -	etil astat 25	-1.56667	.55265	.154	-3.4800	.3467

	etil asetat 50	-2.41667*	.55265	.009	-4.3300	- .5033
	etil asetat 100	-3.33333*	.55265	.000	-5.2467	-1.4200
	PE 25	-.43333	.55265	.992	-2.3467	1.4800
	PE 50	-1.41667	.55265	.238	-3.3300	.4967
	PE 100	-2.15000*	.55265	.022	-4.0633	-.2367
	k +	-3.63333*	.55265	.000	-5.5467	-1.7200
Bonferro ni	etil asetat 50	-.85000	.55265	1.000	-2.9168	1.2168
	etil asetat 100	-1.76667	.55265	.157	-3.8335	.3001
	PE 25	1.13333	.55265	1.000	-.9335	3.2001
	PE 50	.15000	.55265	1.000	-1.9168	2.2168
	PE 100	-.58333	.55265	1.000	-2.6501	1.4835
	k +	-2.06667	.55265	.050	-4.1335	.0001
	k -	1.56667	.55265	.335	-.5001	3.6335
etil asetat 50	etil asetat 25	.85000	.55265	1.000	-1.2168	2.9168
	etil asetat 100	-.91667	.55265	1.000	-2.9835	1.1501
	PE 25	1.98333	.55265	.069	-.0835	4.0501
	PE 50	1.00000	.55265	1.000	-1.0668	3.0668
	PE 100	.26667	.55265	1.000	-1.8001	2.3335
	k +	-1.21667	.55265	1.000	-3.2835	.8501
	k -	2.41667*	.55265	.013	.3499	4.4835
etil asetat 100	etil asetat 25	1.76667	.55265	.157	-.3001	3.8335
	etil asetat 50	.91667	.55265	1.000	-1.1501	2.9835

	PE 25	2.90000*	.55265	.002	.8332	4.9668
	PE 50	1.91667	.55265	.089	-.1501	3.9835
	PE 100	1.18333	.55265	1.000	-.8835	3.2501
	k +	-.30000	.55265	1.000	-2.3668	1.7668
	k -	3.33333*	.55265	.000	1.2665	5.4001
PE 25	etil asetat 25	-1.13333	.55265	1.000	-3.2001	.9335
	etil asetat 50	-1.98333	.55265	.069	-4.0501	.0835
	etil asetat 100	-2.90000*	.55265	.002	-4.9668	-.8332
	PE 50	-.98333	.55265	1.000	-3.0501	1.0835
	PE 100	-1.71667	.55265	.190	-3.7835	.3501
	k +	-3.20000*	.55265	.001	-5.2668	-1.1332
	k -	.43333	.55265	1.000	-1.6335	2.5001
PE 50	etil asetat 25	-.15000	.55265	1.000	-2.2168	1.9168
	etil asetat 50	-1.00000	.55265	1.000	-3.0668	1.0668
	etil asetat 100	-1.91667	.55265	.089	-3.9835	.1501
	PE 25	.98333	.55265	1.000	-1.0835	3.0501
	PE 100	-.73333	.55265	1.000	-2.8001	1.3335
	k +	-2.21667*	.55265	.028	-4.2835	-.1499
	k -	1.41667	.55265	.583	-.6501	3.4835
PE 100	etil asetat 25	.58333	.55265	1.000	-1.4835	2.6501
	etil asetat 50	-.26667	.55265	1.000	-2.3335	1.8001
	etil asetat 100	-1.18333	.55265	1.000	-3.2501	.8835

	PE 25	1.71667	.55265	.190	-.3501	3.7835
	PE 50	.73333	.55265	1.000	-1.3335	2.8001
	k +	-1.48333	.55265	.456	-3.5501	.5835
	k -	2.15000*	.55265	.036	.0832	4.2168
k +	etil asetat 25	2.06667	.55265	.050	-.0001	4.1335
	etil asetat 50	1.21667	.55265	1.000	-.8501	3.2835
	etil asetat 100	.30000	.55265	1.000	-1.7668	2.3668
	PE 25	3.20000*	.55265	.001	1.1332	5.2668
	PE 50	2.21667*	.55265	.028	.1499	4.2835
	PE 100	1.48333	.55265	.456	-.5835	3.5501
	k -	3.63333*	.55265	.000	1.5665	5.7001
k -	etil asetat 25	-1.56667	.55265	.335	-3.6335	.5001
	etil asetat 50	-2.41667*	.55265	.013	-4.4835	-.3499
	etil asetat 100	-3.33333*	.55265	.000	-5.4001	-1.2665
	PE 25	-.43333	.55265	1.000	-2.5001	1.6335
	PE 50	-1.41667	.55265	.583	-3.4835	.6501
	PE 100	-2.15000*	.55265	.036	-4.2168	-.0832
	k +	-3.63333*	.55265	.000	-5.7001	-1.5665

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

ZonaHambat

		N	Subset for alpha = 0.05				
Ekstrak			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	k -	3	6.0000				
	PE 25	3	6.4333	6.4333			
	PE 50	3	7.4167	7.4167	7.4167		
	etil asetat 25	3	7.5667	7.5667	7.5667	7.5667	
	PE 100	3		8.1500	8.1500	8.1500	8.1500
	etil asetat 50	3			8.4167	8.4167	8.4167
	etil asetat 100	3				9.3333	9.3333
	k +	3					9.6333
	Sig.		.154	.096	.623	.082	.197

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.