

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96%
RIMPANG KUNYIT PUTIH (*Curcuma longa* L.) DAN PARE
(*Momordica charantia* L) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
USWATUN HASANAH
NIM. 13630089



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma longa* L.) DAN PARE (*Momordica charantia* L.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
USWATUN HASANAH
NIM. 13630089

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma longa L.*) DAN PARE (*Momordica charantia L.*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
USWATUN HASANAH
NIM. 13630089

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 6 Februari 2018

Pembimbing I


Akyunul Jannah, S.Si, M.P.
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIDT. 19860512 201608 011 060

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**



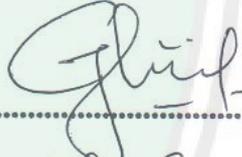
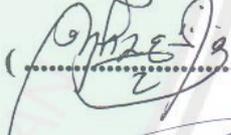
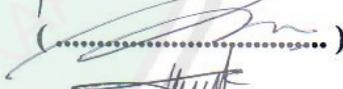

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma longa* L.) DAN PARE (*Momordica charantia* L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
USWATUN HASANAH
NIM. 13630089

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 6 Februari 2018

Penguji Utama	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	()
Ketua Penguji	: Hafidatul Hasanah, M.Si LB. 64108	()
Sekretaris Penguji	: Akyunul Jannah, S.Si, M.P. NIP. 19750410 200501 2 009	()
Anggota Penguji	: Mujahidin Ahmad, M.Sc NIDT. 19860512 201608 011 060	()

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia




Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Uswatun Hasanah
NIM : 13630089
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol 96% Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma longa* L.) dan Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 04 Maret 2018

Yang membuat pernyataan,



Uswatun Hasanah
NIM. 13630089

MOTTO

Surah Al-Insyirah ayat 5 dan 6

Artinya :

**“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya
bersama kesulitan ada kemudahan”**

**Jadikan sebuah keGAGALan sebagai BAHAN BAKAR untuk mencapai
keSUKSESan MASA DEPAN**



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **UJI “AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 96% RIMPANG KUNYIT PUTIH (*Curcuma longa* L.) DAN PARE (*Momordica charantia* L) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”** dengan semaksimal mungkin.

Shalawat serta salam semoga tetap terlimpah kepada Qudwah hasanah kita, Rasulullah ﷺ pembawa berita gembira dan pembawa kebenaran serta penyempurna akhlak sehingga sampai detik ini kita masih bisa mengenal Islam dengan khaffah.

Penulis menyadari kekurangan serta keterbatasan yang dimiliki, tanpa adanya dukungan, bimbingan serta arahan dari berbagai pihak, sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Seiring dengan terselesaikannya penyusunan skripsi ini dengan penuh rasa hormat, kesungguhan, dan kerendahan hati, Penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia.
4. Ibu Akyunul Jannah, S.Si. M.P. selaku pembimbing, Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc, selaku pembimbing agama dan Ibu Hafidatul Hasanah, M.Si. selaku konsultan yang selalu meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan Penulis dalam menyelesaikan skripsi.
5. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa, semangat, materi, moril dan motivasi agar terus mengukir prestasi.
6. Teman-teman herbal Squade dan teman-teman Antibakteri yang selalu memberikan informasi, motivasi dan bantuannya.
7. Teman-teman kimia angkatan 2013 khususnya kelas kimia C.
8. Teman-teman se daerah (Bawean) yang selalu memberikan semangat.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya penulis pribadi.

Malang, 4 Maret 2018,

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR ORISINALITAS PENELITIAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman seagai Obat salam Prespektif Islam	9
2.2 Pare	10
2.2.1 Morfologi dan Klasifikiasi Tanaman Pare	10
2.2.2 Manfaat dan Kandungan Tanaman Pare	12
2.3 Kunyit	13
2.3.1 Morfologi dan Klasifikasi Kunyit	13
2.3.1 Manfaat dan Kagunaan Tanaman Kunyit	15
2.4 Ekstraksi.....	16
2.4.1 Pengertian Ekstraksi.....	16
2.4.2 Metode Ekstraksi Maserasi	17
2.4.3 Faktor yang Berpengaruh pada Mutu Ekstrak	17
2.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
2.5.1 Bakteri	19
2.5.1.1 <i>Escherichia coli</i>	19
2.5.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.5.2 Mekanisme Kerja Antibakteri	22
2.5.3 Resistensi Antibakteri	23
2.6 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	24
2.7 Kandungan senyawa Aktif dalam Kunyit dan Pare	25
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	31
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
3.2.1 Alat	31
3.2.2 Bahan Penelitian.....	31
3.3 Rancangan Penelitian	32
3.4 Tahapan Penelitian	32

3.5 Pelaksanaan Penelitian	32
3.5.1 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi	33
3.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	33
3.5.2.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	33
3.5.2.2 Pembuatan Media.....	33
3.5.2.3 Peremajaan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	34
3.5.2.4 Pembuatan Inokulum Bakteri.....	34
3.5.2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri	35
3.5.3 Pengukuran Zona Hambat.....	36
3.5.4 Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Kunyit dan Pare dengan Uji Fitokimia	37
3.5.4.1 Uji Alkaloid	37
3.5.4.2 Uji Flavonoid	38
3.5.4.3 Uji Saponin	38
3.5.4.4 Uji Steroid dan Terpenoid.....	38
3.5.4.5 Uji Tanin	39
3.5.5 Analisis Data	39
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Ekstraksi Senyawa Aktif.....	40
4.2 Uji Fitokimia	41
4.2.1 Alkaloid.....	42
4.2.2 Flavonoid	44
4.2.3 Saponin.....	45
4.2.4 Triterpenoid.....	46
4.3 Aktifitas Antibakteri	47
4.4 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Prespektif Islam	57
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	71

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Kategori Zona Hambat	37
Tabel 4.1 Hasil randemen ekstrak etanol 96%	40
Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol	41
Tabel 4.3 Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi (pare dan kunyit) terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	48
Tabel 4.4 Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi (pare dan kunyit) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	48



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Buah Pare	11
Gambar 2.2 Kunyit Putih	14
Gambar 2.3 Zona hambat terhadap bakteri	19
Gambar 2.4 <i>Esccherichia coli</i>	20
Gambar 2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Gambar 2.6 Struktur Flavonoid	26
Gambar 2.7 Struktur Triterpenoid	27
Gambar 2.8 Struktur saponin	28
Gambar 2.9 Struktur Alkaloid	28
Gambar 2.10 Struktur Tanin	29
Gambar. 4.1 Hasil Zona Hambat	51
Gambar 4.2 Proses pemutusan ikatan peptidoglikan	53
Gambar L.11.1 Uji Antibakteri Ekstrak Kunyit terhadap <i>S aureus</i>	91
Gambar L.11.2 Uji Antibakteri Ekstrak Kunyit terhadap <i>E.coli</i>	92
Gambar L.11.3 Uji Antibakteri Ekstrak Paret terhadap <i>S aureus</i>	93
Gambar L.11.4 Uji Antibakteri Ekstrak Pare terhadap <i>E.coli</i>	94
Gambar L.11.5 Uji Antibakteri Ekstrak kunyit:pare (1:2) terhadap <i>S aureus</i>	95
Gambar L.11.5 Uji Antibakteri Ekstrak kunyit:pare (1:2) terhadap <i>E.coli</i>	96

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	71
Lampiran 2. Skema Kerja	72
Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan	79
Lampiran 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	85
Lampiran 5. Dokumentasi.....	86
Lampiran 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	91
Lampiran 6. Hasil Analisis SPSS Metode <i>Two Way</i> ANOVA	97



ABSTRAK

Hasanah, U. 2017. **Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol 96% pada Kunyit Putih (*Curcuma longa L*) dan Buah Pare (*Momordica charantia L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P. ; Pembimbing II: Mujahiddin Ahmad, M.Sc; Konsultan: Hafidatul Hasanah, M.Si.

Kata Kunci: *Curcuma longa L.*, *Momordica charantia L.*, *Staphylococcus aureus.*, *Escherichia coli.*, Antibakteri, difusi cakram

Kunyit Putih (*Curcuma longa L*) dan Buah Pare (*Momordica charantia L*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki banyak manfaat dan mengandung metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini adalah untuk Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 96 % pada kunyit dan pare dan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak Kunyit putih dan Pare.

Uji Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Kunyit Putih dan Pare diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Formulasi Ekstrak yaitu pare:kunyit putih (1:1; 1:2; 2:1). Identifikasi metabolit sekunder menggunakan reagen. Variasi konsentrasi ekstrak yaitu 5%; 25%; 35%; 50%; dan 65%.

Kombinasi ekstrak terbaik pada formulasi pare:kunyit yaitu 1:2 pada konsentrasi 65%. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* masing-masing 12,4 dan 8,6 mm. Hasil identifikasi metabolit sekunder dengan reagen ekstrak positif senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Uji *two way anova* menunjukkan variasi kombinasi ekstrak dan variasi konsentrasi mempunyai pengaruh yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Uswatun, H. 2017. **The Test of Antibacterial Activity of Combination of 96% Ethanol Extract on White Turmeric (*Curcuma longa L*) and Bitter Melon (*Momordica charantia L*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. Supervisor I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P. ; Supervisor II: Mujahidin Ahmad, M.Sc; Consultant: Hafidatul Hasanah, M.Si.

Keywords: *Curcuma longa L.*, *Momordica charantia L.*, *Staphylococcus aureus.*, *Escherichia coli.*, Antibacterial, Kirby Beur

White turmeric (*Curcuma longa L*) and Bitter Melon (*Momordica charantia L*) is one of the plants that are commonly used as traditional medicine who have many benefits and secondary metabolites. The purposes of the research were to know the antibacterial activity of 96% ethanol extract combination on turmeric and bitter extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and to know the class of active compound in white turmeric extract and Bitter melon extract.

White Turmeric and Bitter Melon were extracted by 96% ethanol solvent using maceration method. Single extract and combination were with comparison pare:white turmeric were 1:1; 1:2; 2:1. Identification of secondary metabolites used reagents. Single and combination extracts tested for antibacterial activity with variation concentration of 5%; 25%; 35%; 50%; and 65% use disck difution. Secondary metabolites in combination extracts that had the greatest antibacterial activity.

The best combination of extracts in comparison of 1:2 at concentration 65%. The diameters of inhibition zone for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria were 12.4 and 8.6 mm. The results of secondary metabolite identification with reagent showed ethanol extract of 96% and contained alkaloid, flavonoid, saponin, and triterpenoid.

الملخص

حسنة, أسوة. 2017. اختبار نشاط ضدّ البكتيرية بمجموعة مقتطف الإيثانول 96% في الكركم الأبيض (*Curcuma longa L*) وثمره الحلج (*Momordica charantia L*) على البكتيرية *Staphyococcus aureus* و *Escherichia coli*. البحث الجامعي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: أخين الجنة الماجستير، المشرف الثاني: مجاهد الماجستير، والمستشارة: حفظة الحسنه الماجستير.

الكلمات الأساسية: الكركم الأبيض، ثمره الحلج، *Staphyococcus aureus*، *Escherichia coli*، ضد البكتيرية، نشر أجار.

والجزير بالذكر أن الكركم الأبيض وثمره الحلج واحد من النبات المستخدم للدواء من أجل محتوي على كثير الفوائد والأبيض الثناوي. أن أهداف هذه الدراسة لمعرفة نشاط ضد البكتيرية بمجموعة مقتطف الإيثانول 96% في الكركم الأبيض وثمره الحلج باستخدام نشر أجار لمعرفة فئه المركبات النشطة التي تحتوي على الكركم الأبيض وثمره الحلج. يقتطف الكركم الأبيض وثمره الحلج بمذيب الإيثانول 96% باستخدام النقاة. استخراج الواحد والجمع بصياغة الحلج: الكركم الأبيض (1:1، 1:2، 2:1). تحديد الأبيض الثناوي يستخدم الكواشف. استخراج الواحد والجمع باختبار نشاط ضد البكتيرية بعدة التركيز 5%، 25%، 35%، 50%، و60% باستخدام *Kirby Beur*. أن الأبيض الثناوي في استخراج الواحد لها أكبر نشاط ضد البكتيرية . مجموعة المقتطف الجيد في صياغة الحلج: الكركم على التنافس 1:2 في تركيز 65%. قطر المنطقة المثبطة المنتجة على ضدّ البكتيرية *Staphyococcus aureus* و *Escherichia coli* لكلها 12,4 و 8,6 mm. أن نتيجة تحديد الأبيض الثناوي بالكاشف و تدل على مقتطف الإيثانول 96% تحتوي على مجموعة السبونين وترايتيرينويد.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia sebagai makhluk yang di karuniai akal mempunyai kewajiban untuk mengkaji tentang apa yang ada di langit dan di bumi. Sebagaimana Firman Allah dalam surah Ali ‘Imran Ayat 190 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ
الَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَبْصَارِ

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.” (Q.S Ali ‘Imran : 190)

Akal merupakan pembeda antara manusia dan hewan yang bertujuan agar manusia berfikir terhadap proses penciptaan langit dan bumi beserta isinya. Kemudian dari hasil berfikir tersebut, manusia menganalisa sehingga menghasilkan sebuah ilmu pengetahuan. Sebagaimana dalam tafsir Ibnu katsir kalimat لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَبْصَارِ yaitu akal-akal yang sempurna dan memiliki kecerdasan.

Manusia yang menggunakan kecerdasan akalanya dalam mengkaji segala sesuatu dapat memahami hakikatnya secara jelas (Ibnu Katsir. 2002). Salah satunya meneliti apa yang tidak nampak/tersembunyi. Sebagaimana hadist berikut:

إَلْتَمِسُوا عَنْ عَائِشَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهَا أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ: الرِّزْقُ حَبَائِبٌ فِي الْأَرْضِ (رواه الطبراني)

“Dari Aisyah رضي الله عنها telah berkata Rasulullah ﷺ : carilah rezki oleh kalian yang tersembunyi di dalam tanah” (HR. Thabrani)

Bahwa Rasulullah menganjurkan ummatnya untuk mencari atau mengkaji tumbuhan yang terdapat di dalam perut bumi atau di permukaan bumi.

Allah telah menjelaskan dalam surat Luqman tentang penciptaan tanaman yang baik. Firman Allah ﷻ tersebut terdapat dalam QS Luqman ayat 10 sebagai berikut :

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۚ وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا
مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (dipermukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis binatang. Dan kami turunkan air hujan dari langit lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuhan-tumbuhan yang baik”.

Bagian akhir ayat diatas berkenaan dengan tumbuhan yang digunakan untuk segala sesuatu yang baik dan dapat dimanfaatkan. Berdasarkan tafsir Al-Mishbah kata كَرِيمٍ pada bagian akhir ayat tersebut digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik berdasarkan objeknya. Sedangkan زَوْجٍ كَرِيمٍ bermakna tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik menurut tafsir tersebut adalah yang tumbuh subur, menghasilkan seperti apa yang diinginkan oleh pemiliknya, dan bermanfaat untuk makhluk hidup lainnya (Manusia dan Hewan) (Shihab. 2002). Diantara tanaman yang termasuk dalam kategori baik adalah Kunyit dan Pare.

Kunyit memiliki manfaat sebagai obat tradisional antara lain untuk obat gatal, sesak napas, sakit perut, encok, antidiare dan penawar racun. Ekstrak Kunyit berpotensi sebagai antiinflamasi (Meltyza *et al*, 2014), sebagai antioksidan (Pujimulyani *et al*, 2010), sebagai antikanker (Putri, 2014) dan sebagai antibakteri (Sarjono, 2007). Senyawa aktif yang terkandung pada Kunyit, seperti kurkumoid,

tanin, saponin dan flavonoid mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sarjono (2007) daya hambat ekstrak Kunyit dengan konsentrasi ekstrak 0,05 % terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 6,83 mm. Menurut Adila dan Agustien (2013) daya hambat ekstrak Kunyit murni dengan konsentrasi 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* 15,75 mm dan pada bakteri *Escherichia coli* 31,56 mm. Berdasarkan penelitian Kamzeri *et al*, (2012) pada konsentrasi 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat sebesar 1,2 mm.

Tanaman lain yang memiliki kadar antibakteri yaitu Pare. Tanaman ini jarang dikonsumsi oleh masyarakat dikarenakan rasanya yang pahit. Pare (*Momordica charantia L*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional karena mempunyai beberapa khasiat, antara lain perasan daunnya dapat dipakai sebagai obat cacing, obat muntah, dan untuk obat pencahar (Dharma, 1985). Selain itu, tanaman tersebut mengandung senyawa kimia aktif yang dapat menambah kekebalan tubuh dan menghambat aktivitas bakteri yang mengganggu kesehatan. Menurut hasil penelitian, Pare dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri diantaranya *Staphyococcus aureus* sampai 85 % m (Oktaviani, 2010) dan bakteri *Escherichia coli* sampai 75% (Cahyo, 2015). Taylor (2002) mengatakan Pare salah satu tumbuhan yang memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan penelitian Faruq (2012), pada konsentrasi 15%, Pare memiliki aktifitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara kualitatif adalah sebesar 7,8 mm.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode ekstraksi maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara perendaman sampel dengan pelarut pada 2 - 3 hari dan dilakukan pada temperatur ruang (Depkes RI, 2000). Ekstraksi maserasi menjadikan zat aktif pada sampel terlarut pada pelarut. Kelebihan ekstraksi dengan metode ini yaitu prosedur dan alat yang digunakan mudah dan sederhana, dilakukan pada suhu ruang sehingga, bahan alam yang digunakan tidak mudah terdenaturasi ataupun terurai. Menurut Istiqomah (2013) pada kondisi dingin (suhu ruang) senyawa yang terekstrak lebih banyak. Penelitian yang telah dilakukan oleh Faruq (2013) Perendaman dilakukan selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi maserasi adalah etanol 96%. Menurut Mardiah (2010), ekstrak etanol 96% lebih aktif menyerap komponen-komponen metabolit pada suatu bahan alam sehingga senyawa aktif yang terdapat di dalamnya akan lebih banyak terekstrak. Havelly (2015) menyatakan semakin besar konsentrasi etanol yang digunakan maka akan semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak. Berdasarkan penelitian Himawan (2012), sampel yang digunakan 200 g dan menggunakan 3 pelarut diantaranya ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 96%, hasil ekstrak yang menghasilkan randemen paling tinggi yaitu ekstrak etanol dengan randemen 3,91%. Ekstrak etanol pada 600 gram sampel jenis Kunyit memperoleh randemen 23,45 % (Rita, 2010). Berdasarkan penelitian Mukti (2012) ekstrak etanol 96% pada Pare diperoleh randemen 30,138 %. Hasil ekstraksi pada sampel 1,00 kg serbuk kering daun trembesi dengan 6,5 L etanol teknis 96 % yang dilakukan oleh Sari, *et al* (2015) menghasilkan randemen sebesar 36,80 g.

Hasil penelitian Komala , (2012) pada konsentrasi 50% ekstrak etanol Pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar sebesar 12,4 mm. Berdasarkan pengamatan Cahyo (2015) diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol buah Pare sebanyak 15% mempunyai aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 5,20 mm. Ekstrak etanol 96% Pare dengan konsentrasi 12% berdasarkan penelitian yang dilakukan Kholifah (2014), mempunyai daya hambat 8 mm. Ekstrak etanol 96 % pada Kunyit putih pada penelitian Himawan (2012) daya hambat bakteri 17,3 mm dengan lama inkubasi 24 jam. Penelitian lain yang mendukung penggunaan etanol 96% dalam ekstraksi maserasi adalah penelitian aktivitas antibakteri seperti uji aktivitas antibakteri pada Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Thina (2009), Herba Krokot (*Portulaca oleracea L.*) (Karilan, 2005).

Saraswaty *et al.*,(2013) menyatakan kombinasi ekstrak mempunyai senyawa aktif lebih banyak sehingga memiliki aktivitas yang besar pula. Ratna (2011) melakukan kombinasi ekstrak Kunyit dan Pare dengan komposisi (1:1) terhadap kadar LDL tikus putih memberikan pengaruh dibandingkan kontrol negatif ($P=0,001$). Berdasarkan penelitian Armayani (2013) ekstrak kombinasi Kunyit putih dan mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kombinasi (1:1) menghasilkan zona hambat sebesar 10 mm. Kombinasi ekstrak juga dilakukan oleh Noriko (2103) dan mengkombinasikan ekstrak daun teh dan daun anting-anting dengan perbandingan (1:2). Daya hambat kombinasi tersebut hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* sebesar 21,6 mm.

Penyakit infeksi yang banyak diderita masyarakat dapat disebabkan oleh beberapa bakteri, salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia*

coli (Jawetz, 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Bakteri *Staphylococcus aerus* merupakan bakteri patogen gram positif yang bersifat invasif dan merupakan flora normal pada kulit, mulut dan saluran pernafasan bagian atas. *Staphylococcus aureus* menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetz *et al*, 2005). *Escherichia coli* bakteri penyebab infeksi pada usus. *Escherichia coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru, saluran empedu, dan saluran otak (Jawetz dkk.,1991).

Perkembangan Bakteri dapat dihambat dan dilakukan pengobatan dengan antibiotik. Wibowo (2015) mengatakan pengobatan dengan antibiotik menimbulkan permasalahan resistensi bakteri. Berdasarkan penelitian terdahulu di RSUD Dr. Moewardi pada tahun 2012, tingkat resistensi gram positif terhadap beberapa antibiotik, khususnya terhadap Amoxicillin yaitu 93,75%, tetrasiklin yaitu 87,5 %. Sedangkan resistensi bakteri gram negatif terhadap antibiotik yaitu mencapai 100% diantaranya siprofloksisin, amoksilin, gentamisin dan sefotaksim (Chudlori *et al*, 2012). Banyaknya resistensi bakteri perlu dilakukan perkembangan antibiotik.

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri . Bakteri yang telah ditanam dalam media agar diberi agen antibakteri. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri (Pratiwi, 2008). Cara difusi agar digunakan media padat dan reservoir yang dapat berupa kertas cakram. Agen antibakteri yang digunakan diletakkan pada kertas cakram yang selanjutnya di tempelkan

pada media agar (Barus, 2013). Adanya zona bening pada media agar menandakan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri (antibakteri).

Berdasarkan uraian di atas, penting dilakukan penelitian tentang uji antibakteri pada ramuan Kunyit dan Pare untuk mengetahui seberapa besar daya hambat terhadap bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol 96% pada Kunyit dan Pare mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphyococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram ?
2. Golongan senyawa aktif apa saja yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% Kunyit dan Pare ?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 96 % pada Kunyit dan Pare ekstrak terhadap bakteri *Staphyococcus aureus* bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode Difusi cakram.
2. Mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak Kunyit putih dan Pare.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel merupakan serbuk rimpang Kunyit putih dan buah Pare dari PT. Materia Medica Batu.
2. Ekstraksi menggunakan metode maserasi pelarut etanol 96%.
3. Konsentrasi ekstrak uji 5%, 25%, 35%, 50% dan 65%.

4. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* bakteri *Escherichia coli*.
5. Identifikasi golongan senyawa aktif menggunakan uji fitokimia.

1.5 Manfaat

1. Bagi Mahasiswa

Hasil penelitian diharapkan mahasiswa dapat mengimplementasikan pengetahuan dan teknologi yang sudah diperoleh dari perguruan tinggi sebagai bekal untuk menghadapi dunia kerja atau untuk studi lanjut.

2. Bagi Universitas

Memberikan informasi ilmiah kepada civitas akademika mengenai aktivitas antibakteri pada ramuan rimpang Kunyit putih dan buah Pare sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut

3. Bagi Umum

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri yang dapat diperoleh dan dibuat dengan mudah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Prespektif Islam

Bumi yang menjadi tempat tinggal manusia terdapat makhluk hidup dan makhluk mati, semua itu merupakan ciptaan Allah ﷻ yang patut direnungkan. Tumbuhan adalah makhluk hidup yang berperan penting terhadap keberlangsungan hidup manusia. Salah satunya yaitu Oksigen hasil fotosintesis yang sangat vital bagi proses respirasi manusia. Tumbuhan merupakan salah satu bukti kebesaran Allah ﷻ dan nikmat bagi kehidupan makhluk hidup lainnya. Allah ﷻ menciptakan tumbuhan dengan berbagai manfaat dan kebaikan. Tumbuhan merupakan anugerah Allah ﷻ yang harus dipelajari dan dimanfaatkan. Kajian tentang manfaat tumbuhan telah disebutkan dalam firman Allah ﷻ pada potongan ayat surat Thaha ayat 53 berikut ini.

وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ [طه: 53]

Artinya : “Dan yang menurunkan air hujan dari langit. Kemudian kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuhan” [Thahaa:53]

Berdasarkan dalam tafsir Al-Qurthubi kata أَزْوَاجًا yang terdapat pada ayat di atas maknanya adalah berjenis-jenis. Sedangkan kata شَتَّىٰ dalam tafsir Al-qurthubi adalah na'at kata أَزْوَاجًا dan bisa juga menjadi na'at kata نَبَاتٍ. Al Akhfasy mengatakan أَزْوَاجًا مِنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ perkiraan maksudnya adalah berbagai macam Tumbuhan atau tumbuhan-tumbuhan bisa bermacam-macam. Allahu'alam. Penciptaan tumbuh-tumbuhan dengan beranekaragam memiliki berbagai manfaat

di dalamnya untuk kemaslahatan umat. Oleh sebab itu, mengkaji salah satu jenis tumbuhan yang telah Allah ﷻ tumbuhkan di bumi merupakan tugas manusia sehingga dapat mengetahui potensi dari tumbuhan tersebut.

Hariardi dan Mubdy (2013) menyatakan Rasulullah ﷺ menggunakan madu untuk mengobati salah satu keluarga sahabat yang sedang sakit. Hadist yang lain disebutkan bahwa habatus sauda' (jinten hitam) yang merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat dari berbagai penyakit. Sebagaimana hadist berikut :

أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ
قَالَ ابْنُ شِهَابٍ وَالسَّامُ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ شُونِيزُ (رواه بخارى)

Artinya : *“Dari Abu Khurairoh sesungguhnya beliau mendengar Rasulullah ﷺ bersabda : “Dalam habbatus sauda’ ini mengandung obat segala penyakit kecuali sam. Aibnu Shihab berkata, apakah sam itu ? al sam adalah maut sedangkan habbatus sauda’ adalah syuniz” (HR. Bukhari).*

Hadist lain Rasulullah ﷺ bersabda yang artinya : *Thalhah berkata, “ Rosulullah pernah diberi buah safarjal alu beliau bersabda, “ ambillah buah itu karena dapat merelaksasikan hati” (HR. Ibnu Majah).*

Berdasarkan firman Allah ﷻ dan hadist Rasulullah ﷺ sebagaimana yang telah diuraikan diatas, dapat dikatakan bahwa islam memperbolehkan pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional asal pemakaiannya disesuaikan dengan ajaran Islam.

2.2 Pare

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Pare

Tanaman pare tumbuh merambat dengan sulur-sulur spiral di ujung tangkainya. Buahnya berbentuk seperti mentimun namun berkulit keriput dan

lebih lancip di ujungnya. Selubung bijinya berwarna putih saat masih mentah dan menjadi merah ketika matang (Megawati, Musa dan Sihaloho, 2015).



Gambar 2.1 Buah Pare (Mukti, 2012)

Menurut Mukti (2012) klasifikasi tanaman pare sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Cucurbitales
Familia	: Cucurbitaceae
Genus	: Momordica
Spesies	: <i>Momordica charantia</i> L

Berdasarkan ordo dan familinya tanaman pare dan labu mempunyai kesamaan.

Tanaman jenis tersebut telah Allah ﷻ sebutkan dalam al-qur'an dalam surat Ash-Shaffat ayat 146 :

وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجَرَةً مِنْ يَقْطِينٍ (146)

Artinya: “Dan kami tumbuhkan untuk dia sebatang pohon dari jenis labu”. (QS. Ash-Shaffat [37]:146).

Pada surat Ash-Shaffat ayat 146 menyebutkan bahwa Allah SWT menumbuhkan sebatang pohon dari jenis labu untuk digunakan oleh nabi yunus saat terdampat dari dalam perut ikan ke bumi. Tafsir Al-qurtubhi menyebutkan kata يَقْطِينٍ artinya pohon yang menjalar. Menurut beberapa ulama yang disebutkan dalam tafsir tersebut berpendapat yang dimaksud yaqtini adalah tumbuhan yang tidak memiliki tangkai dan daunnya terhampar ditanah, seperti pohon labu dan semangka. Sebagaimana yang disebutkan juga dalam kitab attadzkira kata yaqtini

adalah sejenis tumbuhan labu dan semangka. Salah satu tumbuhan yang memiliki banyak manfaat dan memiliki famili yang sama dengan Labu adalah buah pare. Manfaat buah pare sangat banyak sehingga dilakukan pengamatan terhadap pare.

2.2.2 Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Pare

Pare merupakan salah satu tanaman yang secara umum digunakan sebagai obat tradisional karena mempunyai beberapa manfaat. Menurut Karpu (2006) pare mempunyai beberapa manfaat diantaranya antibakteri, antibiotik, antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, antileukimia, antioksidan, antitumor, antivirus, obat pencahar, afrodisiak, astringen, karminatif, sitostatik, sitotoksik, hipotensi, hipoglikemik, imunostimulan, insektisida, stomatik, dan tonik.

Bagian tanaman ini memiliki manfaat yang sangat banyak. Bagian daunnya dapat dipakai sebagai obat cacing, obat muntah, dan untuk obat pencahar (Dharma, 1985). Akarnya dipakai untuk mengobati penyakit mata dan Bijinya untuk mengatasi gangguan lever dan limpa (Megawati, Musa, dan Sihaloho, 2015). Menurut Wibowo dan Yuliani (2015) buah dari tanaman ini berpotensi sebagai antibakteri.

Pare berpotensi sebagai antibakteri. Mahanani (2012) menyatakan, pare mempunyai daya hambat sebesar 5 mm pada konsentrasi 100% terhadap bakteri *Streptococcus viridans*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wibowo dan Yuliani (2015) ekstrak etanol buah pare sebanyak 15 mg memiliki aktivitas antibakteri pada *Esherichia coli* dengan zona hambat rata-rata 10,22 mm dan pada *Staphilococcus aureus* 12,33 mm. Hasil penelitian Mukti (2012) ekstrak etanol buah pare memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* Pada konsentrasi 70% sebesar 14,5 mm. Data yang diperoleh dari Technical Data

Report For Bitter Melon Herbal Secret of the Rainforest 2nd Edition ekstrak daun pare, ekstrak buah pare, serta jus buah pare dengan pelarut air, etanol, maupun metanol telah melalui uji klinis menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptobacillus* dan *Streptococcus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mukti (2012) ekstrak etanol buah pare berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. Ekstrak etanol buah pare menurut penelitian Faruq (2012) secara berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Echericia coli* secara in vitro.

Buah Pare (*Momordica charantia* L) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa- senyawa aktif seperti tannin, flavonoid dan alkaloid yang cukup banyak pada buahnya (Gunawan, 2009). Menurut Juliana (2010) dan Grover (2004), pare banyak mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah turunan triterpenoid, turunan flavonoid dan turunan steroid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kristinawati (2004) buah pare juga mengandung senyawa alkaloid, tanin, polifenol, dan saponin. Buah Pare juga mengandung protein 1,85 %, serat 0,81 %, lemak 0,83 %, karbohidrat 3.48 % dan air 93,15 %. Vitamin yang terkandung dalam buahnya adalah vitamin A (347 µg/100mL) dan C (18,9mg/100mL), serta senyawa non nutrisi lainnya yaitu oksalat (0,58 %), fitat (0,11%) (Ojiako and Igwe, 2008).

2.3 Kunyit

2.3.1 Morfologi dan klasifikasi Kunyit

Kunyit putih merupakan tanaman semusim dengan karakteristik daun berbentuk bundar berwarna hijau muda, bunga tumbuh bergerombol di atas batang

semu setinggi 30–70 cm, akarnya berdaging membentuk umbi seukuran telur puyuh, rimpang kunyit putih tumbuh pendek, berwarna pucat, banyak serat, berbau khas, dan memiliki rasa pahit (Putri, 2014).



Gambar 2.2 Tanaman Kunyit putih (*Curcuma longa L.*) (Meltyza, dkk., 2014)

Menurut Ratna (2011) Klasifikasi Tanaman Kunyit Putih sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Classis	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Zingiberaceae
Genus	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma longa L.</i>

Tanaman kunyit dilihat dari klasifikasinya mempunyai kesamaan ordo dan famili dengan tanaman jahe. Tanaman tersebut telah Allah ﷻ sebutkan dalam al-qur'an. Hal ini menunjukkan tumbuhan dari jenis jahe diperbolehkan untuk dikonsumsi.

Sebagaimana Firman Allah ﷻ dalam surat al-insan ayat 17 :

(17) وَيُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَ مِزَاجُهَا زَنْجَبِيلًا

Artinya:” Di dalam surga itu mereka diberi minum segelas (minuman) yang campurannya adalah jahe”.

Tafsir Al-Mishbah menyebutkan زَنْجَبِيلًا adalah akar-akaran yang terdapat dalam tanah dan bukan pohon. Menurut Al-Tafsir wajis kitabillahi ‘Aziz Kata زَنْجَبِيلًا bermakna sesuatu yang serupa dengan jahe dan kelezatan minumannya. Allah ﷻ

menciptakan tanaman jahe dan sejenisnya beserta manfaatnya untuk kehidupan manusia. Salah satu tanaman yang memiliki kesamaan famili yaitu kunyit.

2.3.2 Manfaat dan kegunaan tanaman kunyit

Kunyit putih terbukti memiliki aktifitas farmatologi yaitu memiliki sifat hemostatis (menghentikan pendarahan), berpotensi sebagai antibakteri, kurkumin yang terkandung dalam rimpang kunyit putih bermanfaat sebagai anti tumor, dan antioksidan (Kusmiyati, 2003). kandungan utama pada kunyit adalah Minyak atsiri dan kurkumin. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam kunyit memiliki aktivitas biologis yang berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan dan anti hepatotoksik. Berdasarkan penelitian secara ilmiah telah banyak dilaporkan manfaat kunyit, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antibakteri. Kunyit mengandung beberapa senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa aktif yang terdapat dalam kunyit yaitu tanin dan flavonoid (Pujimulyani, *et al*, 2010), senyawa triterpenoid (Elyn, 2015), saponin (Kusmiyati.2011), alkaloid, glikosida, fenol dan steroid (Putri, 2014).

Kunyit berpotensi menghambat pertumbuhan beberapa bakteri pantogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Wijayanto (2014) aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* zona hambat yaitu 23,4 mm. Zona hambat terhadap *Escherichia coli* 7,4 mm. Penelitian yang dilakukan Adila, Nurmiati dan Agustien (2013) kunyit memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 15,75 mm dan daya hambat terhadap *Escherichia coli* sebesar 31,56 mm. Menurut Niamsa dan Sittiwet (2009) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia*

coli. Zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 20,3 mm dan terhadap *Escherichia coli* sebesar 21,5 mm.

Setiap bagian dari tumbuhan kunyit memiliki potensi masing-masing. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Edriana (2014) daun kunyit berpotensi sebagai antioksidan. Menurut Hartati (2014) Rimpang kunyit yang dilakukan secara *in vitro*, *in vivo*, dan uji klinis, membuktikan bahwa rimpang kunyit berpotensi sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh beberapa jenis bakteri. Rimpang kunyit juga dapat digunakan sebagai pewarna alami dan pengawet makanan.

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan senyawa aktif yang diinginkan dari tanaman obat dan menggunakan pelarut yang dipilih, dimana senyawa aktif yang diinginkan dapat terlarut. Senyawa aktif yang berasal dari tumbuh-tumbuhan ataupun hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Senyawa aktif hasil proses ekstraksi disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur saja tetapi berbagai unsur, tergantung pada ekstrak yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Hidayah, 2010). Menurut Mukhriani (2014) prinsip ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Sifat pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sangat berpengaruh terhadap hasil yang diperoleh. Pelarut yang digunakan harus memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan senyawa aktif yang akan diteliti.

2.4.2 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif larut karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam sel dengan yang di luar sel. Maka larutan yang terpekat didesak keluar. Pada penyarian dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk menentukan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia. Sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sebesar-besarnya antara larutan di dalam dengan larutan di luar sel (Hidayah, 2010). Menurut Depkes RI (2000) maserasi terdapat dua tahap yaitu kinetika dan remaserasi. Maserasi kinetika berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Cara ini dapat menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan.

2.4.3 Faktor yang berpengaruh pada mutu ekstrak (Depkes RI, 2000)

2.4.3.1 Faktor Biologi

Mutu ekstrak tergantung pada bahan alam (tumbuhan) yang digunakan dan faktor-faktor yang dapat dilihat secara biologi. Menurut (Depkes RI (2000), faktor biologi yang berpengaruh terhadap mutu ekstrak antara lain :

- a. Identitas jenis (spesies) : jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (spesies).

- b. Lokasi tumbuhan asal : lokasi berarti faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya).
- c. Periode pemanenan hasil tumbuhan : faktor ini merupakan dimensi waktu dari proses kehidupan tumbuhan terutama metabolisme sehingga menentukan senyawa kandungan.
- d. Penyimpanan bahan tumbuhan : merupakan faktor eksternal yang dapat diatur karena berpengaruh pada stabilitas bahan serta adanya kontaminasi (biotik dan abiotik).
- e. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan.

2.4.3.2 Faktor kimia

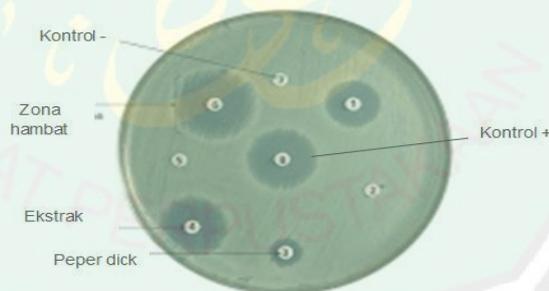
Komposisi bahan alam merupakan faktor kimia yang dapat mempengaruhi mutu ekstrak. Berikut ini merupakan faktor kimia yang berpengaruh terhadap mutu ekstrak :

- a. Faktor internal
 - 1. Jenis senyawa aktif dalam bahan.
 - 2. Komposisi kualitatif senyawa aktif.
 - 3. Komposisi kuantitatif senyawa aktif.
 - 4. Kadar total rata-rata senyawa aktif.
- b. Faktor eksternal
 - 1. Metode ekstraksi.
 - 2. Perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat).
 - 3. Ukuran, kekerasan, dan kekeringan bahan.
 - 4. Kandungan logam berat.

5. Kandungan pestisida.

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan sebagai antiseptik atau obat untuk membunuh bakteri. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat dan membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisida bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy and Ganiswara, 1995). Ada beberapa syarat sebagai antibakteri yaitu : pH Lingkungan, Komponen-komponen perbenihan, stabilitas obat, besarnya inokulum bakteri, masa pengeraman, aktivitas metabolik mikroorganismenya (Jawetz, 1991). Senyawa dapat dikatakan sebagai antibakteri apabila menghambat atau membunuh patogen, bersifat bakterisid, tidak bersifat alergenik dan larut dalam air secara stabil (Syahrurrahman.1994).



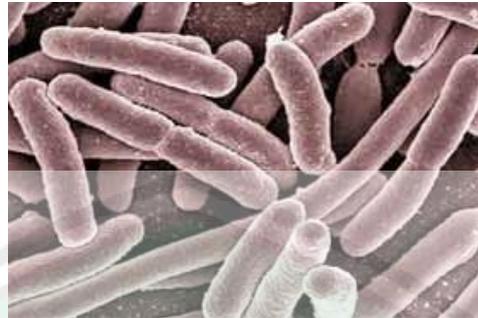
Gambar 2.8 Metode difusi agar yang terdapat zona bening (Kunkel, 1999)

2.5.1 Bakteri

2.5.1.1 *Escherichia Coli*

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif dan dapat tumbuh pada media agar darah. Bakteri ini berbentuk batang pendek lurus (kokobasil), dengan ukuran 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm . *Escherichia coli* tidak memiliki kapsul dan spora.

Bersifat anaerobik fakultatif, tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana (Pelczar and Chan, 1998).



Gambar 2.4 Bentuk koloni *Escherichia coli* (Fardiaz, 1993)

Sistem klasifikasi bakteri ini sebagai berikut (Todar, 2004):

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri ini sebagai flora normal yang dapat ditemukan dalam usus besar manusia. *Escherichia coli* mudah tumbuh pada media yang sederhana dan bakteri ini dapat menyebabkan diare akut (Pelczar, 1986). Tempat yang paling sering terkena infeksi *Escherichia coli* adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat-tempat lain dibagian rongga perut (Jawetz, 2005).

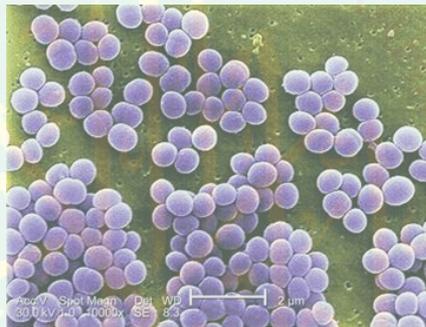
Menurut Supardi dan Sukarto (1999) *Escherichia coli* memiliki ciri-ciri sebagai berikut :

- a. Termasuk bakteri coliform, merupakan flora komensal yang paling banyak pada usus manusia dan hewan, hidup aerobik/fakultatif anaerobik.
- b. Merupakan bakteri yang mempunyai fimbria, bersifat motil dan tersusun tunggal.

- c. Tumbuh pada suhu 10-40°C, dengan suhu optimum 37 °C. pH optimum pertumbuhannya adalah pada 7,0-7,5. pH minimum pada 4,0 dan maksimum 9,0.

2.5.1.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang memiliki hanya satu dinding sel sehingga senyawa yang bersifat sebagai antibakteri akan lebih mudah untuk merusak dinding sel bakteri ini. Bakteri ini dapat menyebabkan adanya racun pada makan, sindrom racun, infeksi kulit dan luka (Nurfadilah, 2013).



Gambar 2.5 Bentuk koloni *Staphylococcus aureus* (Fardiaz, 1993)

Menurut Salle (1961), Klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Devisi	: Prophyta
Kelas	: Bacilli
Order	: Eubacteriales
Suku	: Micrococcaceace
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus merupakan sel Gram positif berbentuk bulat dengan garis tengah 0,5-0,1 μm tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur. Dinding selnya mengandung dua komponen utama, yaitu peptidoglikan serta asam tekoat. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan cepat pada berbagai

tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap (Jawetz *et al.*, 2008). *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik (Pelczar dan Chan, 1998).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri pantogen yang paling berbahaya diantara genus *Staphylococcus* (Dwijoseputro, 2005). Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka yang mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. Pada saluran pernapasan dapat menyebabkan infeksi intra abdomen yang dapat timbul karena komplikasi pasca bedah. Infeksi uranius dan infeksi traktus genitali pada wanita (Salle, 1961).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah Suhu optimum pertumbuhan 35-40°C (Pelczar dan Chan, 1998). Suhu minimum 6.7 °C dan suhu maksimum 45,5 °C. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri ini pada pH 4,0-9,8 dengan ph optimum sekitar 7,0-7,5 (Supardi dan Sukanto, 1999).

2.5.2 Mekanisme Kerja antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, senyawa antibakteri dapat digolongkan menjadi (Volk dan Wheeler, 1993) :

a. Zat antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yaitu polimer selang-seling N-asetilglokusamin dan N-asetilmuramat. beberapa senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat reaksi peptidasi pada

proses sintesis petidoglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat membuat terjadinya lisis

b. Zat antibakteri menghambat sintesis protein

Proses penghambatan ini terjadi dengan cara adanya proses peptidil transferase yang dapat mengganggu proses pengikatan asam amino baru pada rantai petida yang sedang terbentuk. Menurut tjay dan Rahardja (2002) zat antibakteri dapat berikatan dengan subunit ribosom bakteri sehingga menghambat sintesis asam-asam amino dan menghasilkan protein yang inaktif.

c. Zat antibakteri yang mempengaruhi membran sel

Beberapa senyawa antibakteri dapat mempengaruhi sifat semipermeabilitas membran sel sehingga kerusakan struktur dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang osmosis dan mencegah sejumlah biosintesis yang dibutuhkan didalam membran.

2.5.2 Resistensi Antibakteri

Resistensi merupakan kemampuan alami bakteri untuk tidak terpengaruh terhadap agen antibakteri. Salah satu penyebab terjadinya resistensi ini adalah penggunaan antibakteri yang tidak rasional (Nugroho, 2012). Oleh sebab itu, dikembangkan penemuan senyawa baru sebagai antibakteri yang salah satu sumbernya berasal dari tanaman. Berbagai macam bagian tanaman telah digunakan untuk perawatan kulit sebagai antibakteri dan antifungi seperti daun, ranting akar kulit, batang ataupun buah yang diaplikasikan secara topikal.

2.6 Metode uji aktivitas antibakteri

Metode penentuan aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu metode turbidimetri dan metode difusi. Metode turbidimetri menggunakan medium agar cair dalam tabung reaksi. Kelebihan dari metode ini lebih cepat dari metode difusi agar. Hasil dari metode turbidimetri dapat dibaca setelah 3 sampai 4 jam inkubasi. Metode difusi agar menggunakan medium padat. Larutan pada metode ini akan berdifusi dari pencadangan ke permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri. Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi agar, yaitu (Wattimena dkk. 1981) :

- a. Pradifusi, perbedaan waktu pradifusi mempengaruhi jarak difusi dari zat uji yaitu difusi antar pencadangan.
- b. Ketebalan medium agar adalah penting untuk memperoleh sensitivitas yang optimal. Perbedaan ketebalan media agar mempengaruhi difusi dari zat uji ke dalam agar, sehingga akan mempengaruhi diameter hambatan. Makin tebal media yang digunakan akan makin kecil diameter hambatan yang terjadi.
- c. Kerapatan inokulum, ukuran inokulum merupakan faktor terpenting yang mempengaruhi lebar daerah hambatan, jumlah inokulum yang lebih sedikit menyebabkan obat dapat berdifusi lebih jauh, sehingga daerah yang dihasilkan lebih besar, sedangkan jika jumlah inokulum lebih besar maka akan dihasilkan daerah hambatan yang kecil.
- d. Komposisi media agar, perubahan komposisi media dapat merubah sifat media sehingga jarak difusi berubah. Media agar berpengaruh terhadap ukuran daerah hambatan dalam hal mempengaruhi aktivitas beberapa bakteri, mempengaruhi kecepatan difusi antibakteri dan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan antibakteri.

- e. Suhu inkubasi, kebanyakan bakteri tumbuh baik pada suhu 37⁰ C.
- f. Waktu inkubasi disesuaikan dengan pertumbuhan bakteri, karena luas daerah hambat ditentukan beberapa jam pertama, setelah diinokulasikan pada media agar, maka daerah hambat dapat diamati segera setelah adanya pertumbuhan bakteri.
- g. Pengaruh pH, adanya perbedaan pH media yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan jumlah zat uji yang berdifusi, pH juga menentukan jumlah molekul zat uji yang mengion. Selain itu pH berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri.

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja, cara kerja dan ditentukan pula oleh konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi Hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi minimum dari suatu zat yang mempunyai efek daya hambat pertumbuhan mikroorganismenya (Wattimena, 1981).

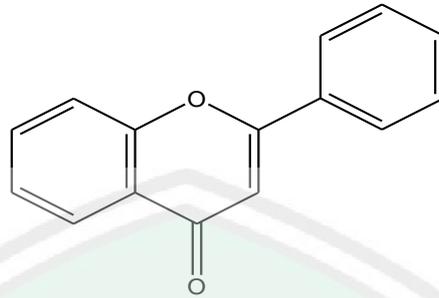
2.7 Kandungan Senyawa Aktif dalam Kunyit dan Pare

Berdasarkan beberapa penelitian, kunyit dan pare mengandung beberapa senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa aktif tersebut diantaranya :

2.7.1 Flavonoid

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson, 1995). Flavonoid dapat diekstrak dengan etanol dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya

berubah bila ditambah basa atau amonia. Sehingga senyawa ini mudah dideteksi dalam larutan atau kromatogram (Harbone, 1987).



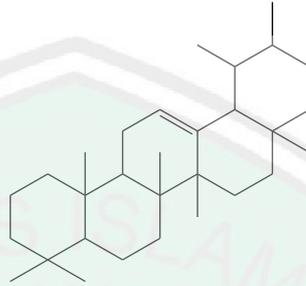
Gambar 2.3 Struktur dasar flavonoid (Redha, 2010)

Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel, dilarutkan dengan air panas, kemudian ditambah etanol 95 %, logam Mg dan HCl pekat. Penambahan HCL pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasanya dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, dan xanton (Robinson, 1995).

2.7.2 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena penyusunnya, kelompok metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995). Berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, terpenoid dibagi menjadi beberapa golongan yaitu monoterpena (C_{10}) dan seskuieterpea (C_{15}) yang mudah menguap, diterpena (C_{20}) sukar menguap,

triterpenoid dan sterol (C30) tidak menguap serta pigmen karotenoid (C40) (Harbone, 2002). Senyawa ini struktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harbone, 2002).



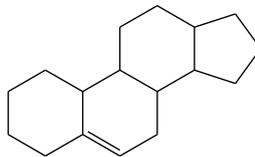
Gambar 2.7 Struktur Dasar Triterpenoid (Robinson, 1995)

Salah satu pereaksi yang paling banyak digunakan untuk uji triterpen dan steroid adalah pereaksi Liebermann-Burchard yang terbuat dari campuran anhidrida asetat dan asam sulfat pekat menghasilkan warna hijau-biru apabila bereaksi dengan kedua senyawa tersebut (Harbone, 1987). Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Andriani, 2013).

2.7.3 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan empat cincin. Beberapa turunan steroid yang penting ialah alkohol steroid atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon androgen, hormon estrogen, dan hormon kortikosteroid (Daintith, 1990). Beberapa persenyawaan steroid mengandung gugus $-OH$ yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya

cenderung lebih polar. Senyawa ini apabila terdapat dalam tumbuhan dapat berperan menjadi antibakteri, antioksidan dan antiinflamasi (Robinson, 1995).

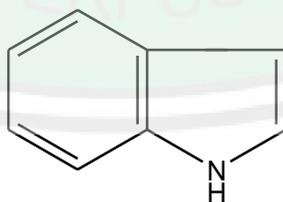


Gambar 2.7 Struktur dasar steroid (Robinson, 1995)

Reaksi warna yang digunakan untuk uji steroid adalah menggunakan reaksi Liebermann-Burchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reaksi warna yang lain pada steroid juga dapat menggunakan Brieskorn dan Briner (asam klorosulfonat dan Sesolvan NK) menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995).

2.7.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa aktif yang mengandung atom nitrogen yang sering kali terdapat dalam cincin heterosiklik. Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana (Robinson, 1995). Hampir semua alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuh-tumbuhan (Lenny, 2006). Kunyit dan pare merupakan tumbuhan yang diduga memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid.



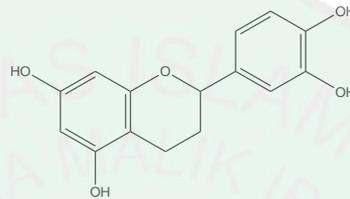
Gambar 2.4 Struktur dasar alkaloid (Robinson, 1995)

Senyawa alkaloid dalam tumbuhan dipisahkan dengan cara mengekstrak tumbuhan tersebut menggunakan pelarut asam. Sedangkan untuk mengetahui keberadaan suatu senyawa didalam tumbuhan dapat diuji menggunakan suatu

reagen. Uji adanya senyawa alkaloid menggunakan reagen Dragendorf dan Mayer.

2.7.5 Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Didalam tumbuhan, letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma (Padmawinata dan Soediro, 1996).



Gambar 2.6 Struktur tanin (Robinson, 1995)

Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau tanin katekin lebih penting dari segi penyamakan (Robinson, 1995). Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal (atau galokatekin) yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi (Padmawinata dan Soediro, 1996).

Kromatografi merupakan metode pemisahan yang didasarkan atas distribusi diferensial komponen sampel diantara dua fase (Soebagio, 2002). Prinsip pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) adalah adanya perbedaan distribusi molekul antara fase diam dan fasa gerak berdasarkan tingkat kepolarannya (Hendayana, 2006).

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan plat silika GF₂₅₄ sebagai fase diamnya dan menggunakan eluen terbaik untuk masing-masing senyawa sebagai fase geraknya (Gritter, 1991). Identifikasi dari senyawa-senyawa

yang terpisah dari hasil Kromatografi lapis tipis menggunakan harga R_f (*Retention Factor*). Harga R_f menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan (Glitter, 1991). Menurut Sastrohamidjojo (2007), harga R_f didefinisikan sebagai berikut :

Rumus harga R_f

$$R_f = \frac{\text{jarak rambat suatu senyawa tertentu}}{\text{jarak rambat fase gerak yang diukur dari penotolan}} \dots\dots\dots 2.1$$

Bercak yang terdapat pada plat dapat dideteksi dengan cara destruksi yang dilakukan dengan mengkontaminasi senyawa oleh reagen (deteksi semprot). Pemanasan diperlukan untuk membantu reaksi warna yang dilakukan dengan hair dryer atau oven (Cannel. 1998). Senyawa yang terdapat pada plat, juga dapat dideteksi di bawah lampu UV yang dengan panjang gelombang 254 nm atau 366 nm. Ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik yang terdapat pada bercak, apabila disinari lampu UV akan tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian terjadi emisi (Gritter, 1991).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-November 2017 di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, neraca analitik (lokal), cawan penguap (lokal), oven (lokal), loyang (lokal), ayakan 60 mesh (lokal), aluminium foil (SIGMA), *vacuum buchner* (lokal), penjepit kayu (lokal), rak tabung reaksi (lokal), spektrofotometer UV-Vis (*Varian Carry*), *rotary evaporator* (*Owl Separation System*), *shaker*, plat silika gel G₆₀F₂₅₄ (Merck), cawan petri, *paper disk*, dan *plasticwrap*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pare (*Momordica charantia L*) dan rimpang kunyit putih (*Curcuma longa L.*) yang diperoleh dari kebun kota Batu Malang, reagen lain yang digunakan antara lain etanol 96% p.a, larutan HCl 37% p.a, NaHCO₃ 99% p.a, gas N₂, H₂SO₄ 95%, methanol, logam Mg, larutan FeCl₃ 99%, CH₃COOH 99,5% p.a, bakteri (*Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphilococcus aureus* ATCC 25923), antibiotik *amoxilin*, DMSO dan aquades.

3.3 Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental dilaboratorium. Sampel yang diambil adalah serbuk kunyit putih dan pare dan diekstraksi maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut Etanol 96%. Ampas yang diperoleh diekstraksi kembali menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan rotary evaporator. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus* dilakukan secara in Vitro menggunakan metode *kirby-beur* dengan analogi penentuan diamere zona hambatan. Identifikasi senyawa aktif menggunakan uji reagen sedangkan pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).

3.4 Tahapan Penelitian

1. Ekstraksi dengan metode maserasi.
2. Uji Aktivitas antibakteri.
3. Identifikasi golongan senyawa aktif dengan reagen.
4. Analisis data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Ekstraksi Senyawa aktif dengan Metode Maserasi

Masing-masing diambil serbuk buah pare dan kunyit putih sebanyak 300 gram. Serbuk maserasi dengan 900 mL etanol 96% selama 24 jam. Kemudian sampel tersebut dishaker dengan kecepatan 130 rpm selama 3 jam. Selanjutnya sampel disaring dan ampas yang diperoleh berwarna lebih bening. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan *vacuum buchner* dan dipekatkan dengan *rotary*

evaporator sampai diperoleh ekstrak yang pekat dan dialiri gas N₂. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots 3.2$$

3.5.2 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*

3.5.2.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi bertujuan untuk memusnahkan mikroorganisme yang terdapat dalam alat-alat atau bahan yang akan digunakan (Safitri dan Sinta, 2010). Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci alat-alat hingga bersih dan kemudian dikeringkan. Alat-alat dibungkus menggunakan kertas dan dibungkus menggunakan plastik. Langkah selanjutnya memasukkan semua alat dan bahan (termasuk media) ke dalam *autoclav* selama 20 menit dengan temperatur 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit.

3.5.2.2 Pembuatan Media

Pembuatan media padat dilakukan dengan cara sebanyak 2,3 g NA dimasukkan kedalam gelas beker kemudian ditambahkan 100 mL akuades dan dimasukkan *stirrer*. setelah itu dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih. Proses selanjutnya dimasukkan pada 2 tabung reaksi sebanyak 5 mL dan sisanya pada erlenmeyer 250 ml. Tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas, dirapatkan dengan plastik warp dan dibungkus plastik tahan panas. Selanjutnya disterilkan dengan *autoklav* selama 15 menit pada tekanan 15 psi dan suhu 121 °C. Media agar yang berada pada tabung reaksi dimiringkan 15-30° hingga memadat.

Media cair dibuat dengan cara sebanyak 1 g NB dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam gelas beker, dimasukkan dalam erlenmeyer dan dipanaskan sampai mendidih. Erlenmeyer tersebut ditutup dengan kapas, dirapatkan menggunakan plastik warp dan dibungkus dengan plastik tahan panas. Media disterilkan dalam *autoklav* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi.

3.5.2.3 Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat miring. Mengambil bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan jarum ose dari stok yang akan digunakan. Jarum ose yang mengandung bakteri digoreskan secara aseptis pada media NA pada cawan yaitu dengan mendekatkan cawan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Tabung ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° dalam inkubator. Selanjutnya bakteri yang sudah diregenerasi disimpan didalam kulkas. waktu 24 jam merupakan waktu panen, dimana waktu tersebut telah berada pada fase logaritmik yang mana bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat (Dwidjoseputro, 1994 dan Pleczar dan Chan, 2008).

3.5.2.4 Pembuatan Inokulum Bakteri

Hasil peremajaan biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil 1 ose, dibiakkan dalam 10 mL media cair (NB) dan dishaker ±18 jam. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif. Berdasarkan penelitian Parhusip (2004), Triwibowo, *et al* (2013), pertumbuhan bakteri pantegen pada masa stasioner antara 10-20 jam.

3.5.2.5 Penghitungan Jumlah Sel Bakteri

Tabung reaksi sebanyak 7 buah diisi dengan NaCl 0,9% steril sebanyak 9 mL. Inokulum bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dalam media NB diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung pertama lalu dihomogenisasi dengan vortex dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Larutan dari tabung pertama dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung kedua sehingga diperoleh pengenceran tingkat kedua (10^{-2}). Demikian seterusnya hingga didapatkan pengenceran 10^{-10} . Penghitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* (TPC). Masing-masing pengenceran diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan dalam cawan petri yang berisi media NA. Cawan petri digoyang-goyang hingga merata dan didiamkan hingga membeku kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C. Cara menghitung, dipilih cawan petri yang mempunyai koloni antara 30-300. Jika perbandingan antara kedua pengenceran < 2 , maka nilai yang diambil adalah rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhatikan nilai pengencerannya. Jika perbandingannya > 2 , maka diambil yang terbesar atau yang terkecil.

Perhitungan jumlah bakteri = jumlah koloni $\times \frac{1}{fp}$ cfu.....3.2

3.5.2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Kombinasi ekstrak etanol pare dan rimpang kunyit putih dibuat dengan menggunakan 3 formulasi komposisi yaitu 1:1 (15 : 15 mg/mL), 1:2 (10 : 20 mg/mL), dan 2:1 (20 : 10 mg/mL) dan kontrol ekstrak pare dan rimpang kunyit putih. Pada ekstrak kombinasi terbaik dari uji kadar hambat bakteri, dibuat variasi konsentrasi 5, 25, 35, 50 dan 65% (b/v) dan diencerkan dengan DMSO 10%. Variasi konsentrasi tersebut diuji aktivitas antibakteri.

Media NA (*Nutrien Agar*) dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu 40°C. Larutan NA dituangkan dalam cawan petri, dicampurkan masing-masing dengan 0,1 mL larutan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* kemudian dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam pada ekstrak kombinasi pare dan rimpang kunyit putih. Kontrol positif digunakan *amoxilin* dan kontrol negatif digunakan DMSO 10 %. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit. Diinkubasi pada suhu 37°C sampai muncul daerah hambatan maksimal selama 48 jam. Uji aktivitas antibakteri pada masing-masing pelarut dan diulang sebanyak 3 kali. Zona hambat diukur dengan menggunakan penggaris untuk menentukan aktivitas bakteri. Luas zona hambat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \text{zona keseluruhan} - \text{diameter cakram} \dots\dots\dots 3.3$$

3.5.2.7 Pengukuran Zona Hambat (Simarmata, 2007)

Zona hambat yang terbentuk diamati disekitar isolat uji. Luas zona hambat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$Lz = Lav - Ld \dots\dots\dots 3.4$$

Dimana :

LZ = Diameter zona hambat (mm)

Lav = Diameter zona hambat dengan kertas saring (mm)

Ld = Diameter diameter kertas saring (mm)

Kategori zona hambat menurut Susanto dan Rega (2012) antara lain adalah :

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

3.5.3 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Kunyit dan pare

Identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji steroid, uji terpenoid, dan uji tannin pada ekstrak etanol 96 % Kunyit, Pare dan kombinasi ekstrak etanol 96% kunyit dan pare.

3.5.3.1 Analisa Fitokimia dengan reagen (Indrayani, dkk., 2006)

Identifikasi yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin.

3.5.3.2 Uji Alkaloid

Ekstrak rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 ml HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendroff, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (dengan reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid. Di ulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya.

3.5.3.3 Uji Flavonoid

Ekstrak rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Kemudian ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga menunjukkan adanya flavonoid. Di ulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya.

3.5.3.4 Uji Saponin

Ekstrak rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) dan sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, bila busa yang terbentuk bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin. Di ulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya.

3.5.3.5 Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 2-3 tetes larutan reagen Liebermann Buchard. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya triterpenoid. Apabila hasil yang diperoleh terbentuk warna hijau kebiruan maka ekstrak tersebut menunjukkan adanya steroid. Di ulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya.

3.5.3.6 Uji Tanin

Ekstrak rumput bambu diambil 1 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka ekstrak tersebut mengandung tanin. Di ulangi perlakuan yang sama untuk ekstrak rimpang kunyit putih dan kombinasi keduanya.

3.5.3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai diameter zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan uji *two way anova* Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphilococcus aureus*.

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Senyawa Aktif

Metode Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat di dalam pare dan kunyit. Ekstraksi dilakukan perendaman dan pengadukan menggunakan *shaker* selama ± 24 jam. Hal ini bertujuan untuk mempercepat proses kontak antara pelarut dengan sampel (kunyit dan pare), sehingga metabolik sekunder pada sampel akan cepat terikat pada pelarut. Maserasi hasil ekstraksi disaring menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Proses ekstraksi ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengulangan bertujuan untuk memaksimalkan ekstrak yang akan diperoleh. Warna filtrat yang dihasilkan dari pengulangan 1 sampai ke 3 berbeda. Perubahan warna terjadi dari warna kuning pekat menjadi kuning pucat untuk sampel kunyit dan hijau pekat menjadi hijau pucat untuk sampel pare. Perubahan warna menandakan proses ekstraksi telah maksimal. Filtrat dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum*. Hasil randemen dari masing-masing sampel ditunjukkan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil randemen ekstrak etanol 96%

Sampel	Berat Sampel (gram)	Berat Ekstrak Pekat (gram)	Randemen (%) (b/b)	Warna Ekstrak Pekat
Kunyit	250	54,18	21,6	Kuning Pekat
Pare	250	49,78	19,9	Hijau Pekat

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui berat ekstrak kasar kunyit dan pare masing-masing 54,18 g dan 49,78 g dengan randemen masing-masing adalah 21,6 % dan 19.9%.

4.2 Uji Fitokimia Menggunakan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Senyawa aktif yang dideteksi meliputi alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, tanin, dan flavonoid. Uji fitokimia pada setiap senyawa aktif menggunakan reagen yang berbeda. Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

4.2 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol.

Golongan Senyawa Aktif	Sampel				
	Pare	Kunyit	1 : 1	1 : 2	2 : 1
Alkaloid					
-Mayer	+	+	+	++	+++
-Dragendorff	+	+	++	+++	++
Flavonoid	+	+	+	++	+
Tanin	-	-	-	-	-
Saponin	+	+	++	++	++
Triterpenoid/Steroid	+	+	++	+++	++

Keterangan : + kuat

++ cukup kuat

+++ sangat Kuat

Berdasarkan hasil uji fitokimia dapat diketahui bahwa pada ekstrak tunggal dan ekstrak kombinasi mengandung senyawa aktif yang sama. Ekstrak kombinasi mengandung senyawa aktif lebih banyak daripada ekstrak tunggal. Berdasarkan beberapa penelitian Mukti (2012) dan Hendra (2015) melaporkan ekstrak pare mengandung saponin, alkaloid dan flavonoid, steroid dan triterpen.

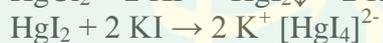
4.2.1 Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan penambahan HCl terlebih dahulu. Hal ini dikarenakan sifat alkaloid bersifat basah sehingga perlu dilakukan penambahan larutan yang bersifat basa (Harbone, 1996). Alkaloid diuji kualitatif menggunakan reagen mayer dan dragendrof. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, atau jingga (dengan reagen Dragendroff) dan endapan putih atau kekuningan (dengan reagen Mayer) menunjukkan adanya alkaloid (Djoronga, 2014).

Pembuatan reagen Mayer diperoleh dengan cara mereaksikan kalium iodide dengan merkuri(II) klorida. Apabila Kalium iodida ditambahkan secara berlebih produk yang akan terbentuk adalah kalium tetraiodomerkurat (II).

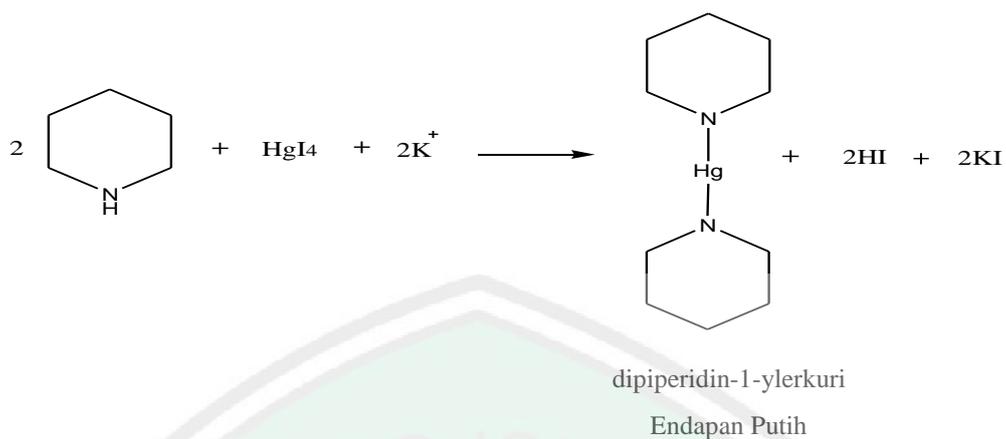
Berikut reaksi yang terjadi :

a. Reaksi Pembuatan Reagen Mayer



kalium tetraiodomerkurat(II)

Positif alkaloid dengan menggunakan reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Endapan tersebut, diperkirakan produk hasil reaksi antara nitrogen pada alkaloid dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkuat(II) (Setyowati, dkk. 2014). Reaksi dugaan yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.1:



Gambar 4.1 Dugaan reaksi antara alkaloid reagen Mayer (Lutfillah, 2008)

Uji senyawa alkaloid juga dilakukan dengan reagen dragendrof. Reagen tersebut diperoleh dengan cara mereaksikan bismuth nitrat dengan kalium iodide dan akan terbentuk endapan hitam bismut. Penambahan Kalium Iodida secara dilakukan secara berlebih sehingga terbentuk senyawa kalium tetraisobismut.

Reaksi dugaan pembuatan larutan dragendrof sebagai berikut :

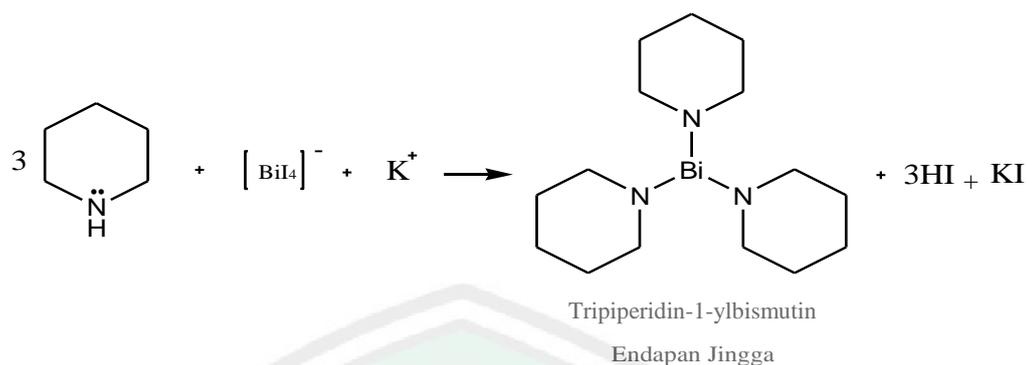
b. Reaksi pembuatan reagen Dragendrof



Kalium tetraiodobismutat

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendrof ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut hasil dari reaksi antara nitrogen pada alkaloid dengan K^+ yang merupakan ion logam pada senyawa kalium tetraiodobismutat. Kedua unsur tersebut akan berikatan kovalen koordinat.

Reaksi reagen dragendrof dengan senyawa alkaloid:



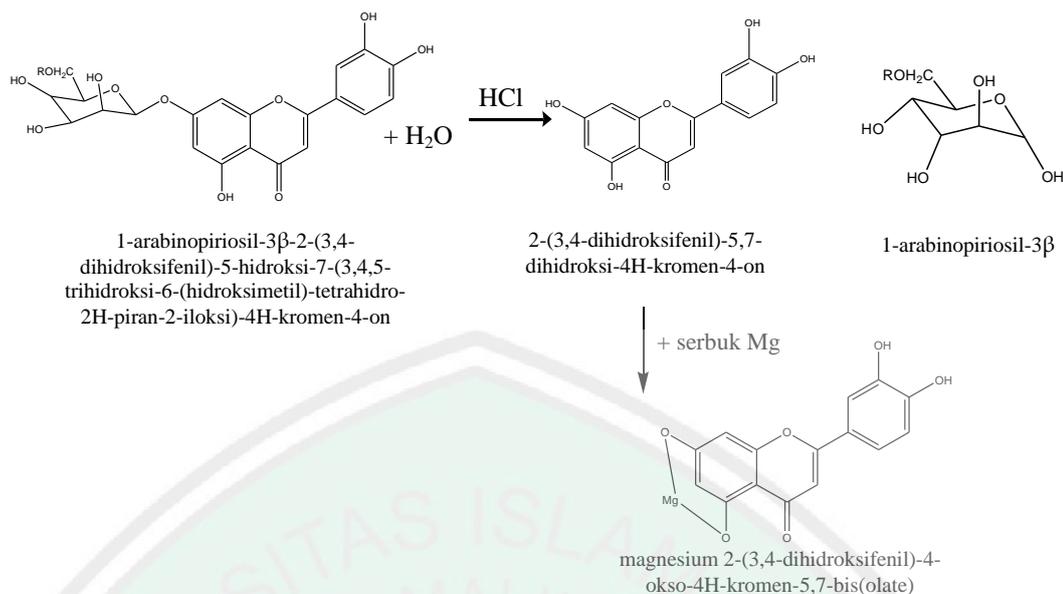
Gambar 4.1 Dugaan reaksi senyawa alkaloid dengan reagen Dragendroff (Lutfillah, 2008)

Senyawa alkaloid pada Uji Mayer dan Uji Dragendroff semua ekstrak positif alkaloid. Hal ini menunjukkan dalam ekstrak tunggal dan kombinasi mengandung senyawa alkaloid.

4.2.2 Flavonoid

Ekstrak tunggal dan kombinasi perbandingan Kunyit dan Pare positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan warna jingga. Rendiani (2014) melaporkan jenis senyawa flavonoid yang terdapat pada pare adalah flavonol 3-OH bebas. Ekstrak Kunyit menurut Nag (2013) mengandung senyawa flavonoid dari jenis kaempferol.

Sampel dikatakan positif flavonoid ditunjukkan dengan warna jingga, merah atau kuning pada larutan (Baud, 2014). Reaksi dugaan senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat ditunjukkan pada Gambar 4.3 :

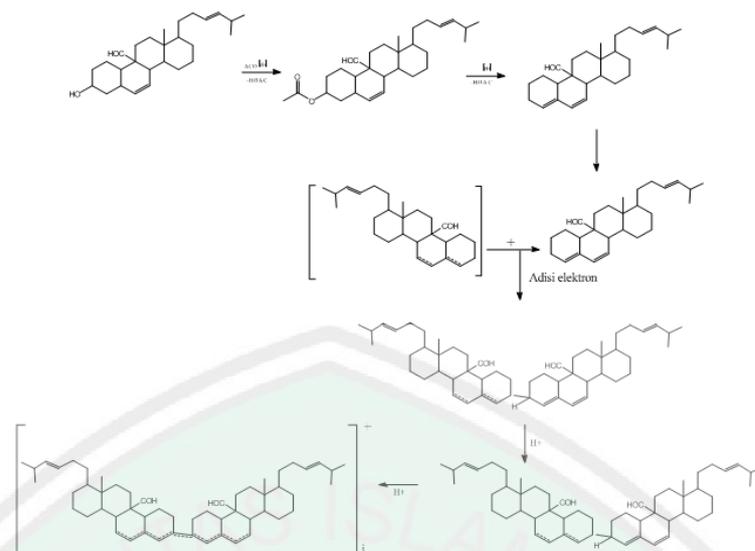


Gambar 4.3 Dugaan reaksi antara flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Mariana, 2013)

HCl pekat yang ditambahkan pada sampel akan menghidrolisis Glikosil dan terbentuk dua produk yaitu flavonoid dan glikosil. Senyawa flavonoid hasil hidrolisis akan bereaksi dengan logam Mg dan menghasilkan warna. Uji flavonoid juga menghasilkan gelembung. Setyowati, dkk (2014) melaporkan gelembung tersebut adalah gas H₂ yang dihasilkan oleh reaksi antara magnesium dan asam klorida.

4.2.3 Saponin

Identifikasi senyawa saponin menggunakan uji forth yang ditandai dengan terbentuknya busa. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang terhidrolisis dalam air membentuk Glukosa dan senyawa lainnya. berikut Reaksi hidrolisis saponin :



Gambar 4.7 Dugaan reaksi senyawa triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard (Setyowati, dkk., 2014)

Terjadinya perubahan warna dikarenakan adanya oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Asam asetat anhidrida bereaksi dengan senyawa triterpenoid dan gugus asetil lepas, sehingga terjadi ikatan rangkap pada produk pertama. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, akibatnya ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan sisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen. Senyawa akan mengalami perpanjangan konjugasi yang mengakibatkan terbentuknya cincin coklat. Pada penelitian ini ekstrak tunggal dan kombinasi pare dan kunyit menunjukkan positif terhadap triterpenoid.

4.3 Aktifitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode kirby-beur. Sampel

mempunyai aktifitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Hasil pengujian ekstrak tunggal maupun kombinasi pare dan kunyit terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki potensi sebagai antibakteri. Ekstrak sampel tunggal dan kombinasi memiliki zona hambat yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.3 dan 4.4.

Tabel 4.3 Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi (pare dan kunyit) terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi / Ekstrak	Zona Hambat (mm)				
	Kunyit	Pare	Pare : Kunyit 1 : 1	Pare : Kunyit 1 : 2	Pare : Kunyit 2 : 1
5 %	-	-	-	4,4	3
25 %	3,4	2	3	4,81	3,7
35 %	4,2	4	4,6	5,9	5,4
50 %	6,3	4,8	6	7,7	7
65 %	8	7,6	8	8,6	7,9
Kontrol +	15	17	20	13	15
Kontrol -	-	-	-	-	-

Keterangan : kontrol + = amoxilyn
Kontrol - = DMSO

Tabel 4.4 Hasil uji antibakteri ekstrak tunggal dan kombinasi (pare dan kunyit) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

konsentrasi / Ekstrak	Zona Hambat (mm)				
	Kunyit	Pare	Pare : Kunyit 1 : 1	Pare : Kunyit 1 : 2	Pare : Kunyit 2 : 1
5 %	-	-	2	4	2
25 %	4	3	4	5	5
35 %	5	5	6	6	6
50 %	7	6	8	9	8,6
65 %	9	8	10	12,4	11
Kontrol +	21	23	15	24	20
Kontrol -	-	-	-	-	-

Keterangan : kontrol + = Amoxilyn
Kontrol - = DMSO

Konsentrasi senyawa uji berdasarkan Tabel 4.3 dan 4.2 yaitu 5%, 25%, 35%, 50% dan 65%. Rata-rata diameter zona hambat pada ekstrak tunggal kunyit pada konsentrasi uji terhadap *E. coli* secara berurutan yaitu 0, 3,4, 4,2, 6,3 dan 8 mm, Ekstrak tunggal pare secara berurutan yaitu 0, 2, 4, 4,8 dan 7,6 mm, ekstrak kombinasi (Pare:Kunyit) dengan perbandingan 1:1 secara berurutan yaitu 0, 3, 4,6, 6 dan 8 mm, ekstrak kombinasi dengan perbandingan 1:2 secara berurutan yaitu 4,4, 4,81, 5,9, 7,7, dan 8,6 mm. Sedangkan pada ekstrak kombinasi perbandingan 2:1 yaitu 3, 3,7, 5,4, 7 dan 7,9 mm. Konsentrasi suatu ekstrak sebanding dengan besarnya zona hambat.

Masing-masing ekstrak dilarutkan menggunakan DMSO 10% (*Dhymetiel Sulfoxide*). Menurut Fadhilah (2015) DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Pada uji ini DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Tujuannya yaitu untuk mengetahui bahwa pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak tidak memiliki aktifitas antibakteri. Natheer *et al* (2012) menyebutkan kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak. Niswah (2014) dan Wibowo (2015) melaporkan bahwa DMSO 10% tidak menunjukkan sebagai zat antibakteri. data yang diperoleh pada penelitian ini, kontrol negatif tidak memiliki aktifitas antibakteri, sehingga DMSO baik digunakan sebagai pelarut suatu ekstrak.

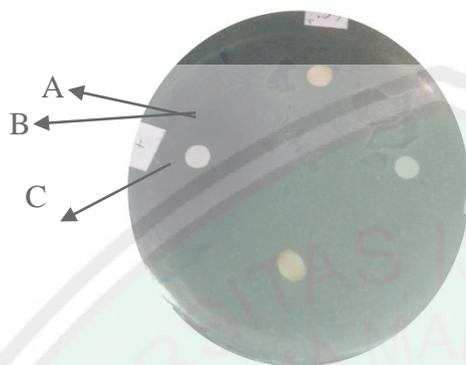
Kloromfenikol digunakan sebagai kontrol positif. Tujuannya untuk membandingkan sampel dengan antibiotik yang sudah berpotensi sebagai zat antibakteri. Utami (2014) dan Wibowo (2015) menyebutkan kloromfenikol merupakan antibiotik yang memiliki tingkat sensitivitas tinggi terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Kontrol positif dapat digunakan untuk mengecek

bakteri uji resisten atau tidak. Zona hambat yang dihasilkan kloromfenikol termasuk dalam kategori kuat yakni sekitar 16-25 mm. Hal ini disebabkan kloromfenikol merupakan turunan dari penicillin yang mempunyai spektrum luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif.

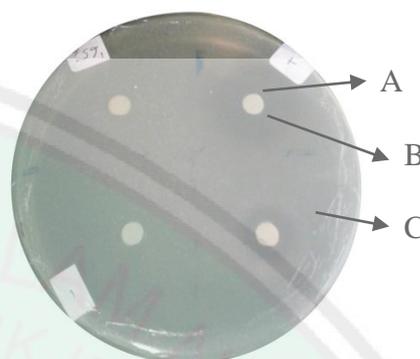
Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.3 dan 4.4, ekstrak tunggal dan kombinsai (pare dan kunyit) dapat menghambat aktifitas bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Wibowo (2015) melaporkan ekstrak etanol pare dapat penghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 7,33 mm pada konsentrasi 15% dan Jayanto (2015) mengatakan ekstrak pare mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10% sebesar 5,3 mm. Menurut Rahmawati (2014) ekstrak kunyit dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 5,64 mm pada konsentrasi ekstrak 50% dan menurut Pangemanan (2016) ekstrak kunyit juga dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 15,0 mm pada konsentrasi ekstrak 40% .

Zona hambat yang dihasilkan pda penelitian ini ekstrak tunggal dan kombinasi terhadap *Escherichia coli* berkisar 2-8 mm. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan terhadap *Staphylococcus aureus* 2-12 mm. Berdasarkan kategori zona hambat menurut Susanto dan Rega (2012), konsentrasi ekstrak tunggal terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25 %, dan 35% adalah lemah, sedangkan pada konsentrasi 50% dan 65 % adalah sedang. Hasil zona hambat ekstrak kombinasi *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5%, dan 25 % termasuk dalam kategori lemah, pada konsentrasi 35% dan 50% adalah sedang, dan pada konsentrasi 65% termasuk kuat. Sedangkan terhadap *Escherichia coli*, ekstrak kombinasi termasuk kategori lemah dari

konsentra 5%-35% dan pada konsentrasi 50% dan 65% adalah sedang. Berikut hasil uji aktifitas antibakteri terbaik: ilustrasi dari uji aktifitas antibakteri :



Gambar 4.6 Hasil zona hambat terhadap *Escherichia coli*



Gambar 4.8 Hasil zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*

Ket : A = senyawa aktif suatu ekstrak pada kertas whatman
 B = zona bening hasil dari aktifitas antibakteri
 C = media agar + suspensi bakteri

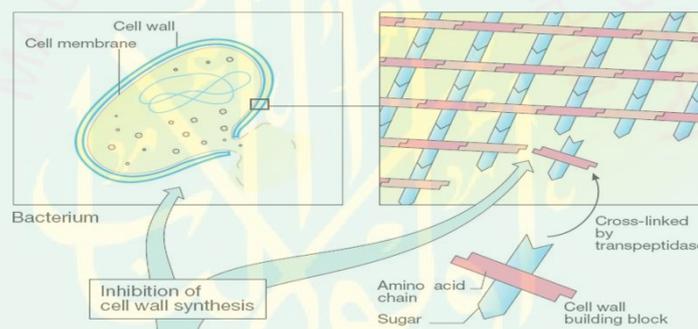
Ekstrak kombinasi etanol pare dan kunyit lebih sensitif terhadap *S. aureus*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan susunan dinding sel pada kedua bakteri tersebut. Susunan dinding sel bakteri *Escherichia coli* mempunyai lapisan dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan *Staphylococcus aureus* (Natheer, dkk. 2012). Gram negatif dan Gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang berbeda. Peptidoglikan pada Gram negatif mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida (LPS). Sementara peptidoglikan pada Gram positif lebih tebal dan mengandung teikot dan lipotekoit (Nendissa, 2012). Hasil sensitivitas bakteri Gram positif dan Gram negatif berbeda. Bakteri Gram negatif dari hasil penelitian zona hambat yang dihasilkan leboh kecil dari pada Gram positif. Menurut Dewi (2010) dan Lingga (2016) mengatakan asam teikoat sebagai penyusun dinding sel bakteri Gram positif merupakan polimer larut dalam air

yang berfungsi sebagai transport ion positif. Sifat larut air ini menunjukkan bahwa bakteri Gram positif bersifat lebih polar, sehingga senyawa bioaktif yang bersifat polar dengan mudah masuk kedalam dinding sel dan merusak lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang bersifat non polar.

Pengujian Zona hambat ekstrak kombinasi dan tunggal yang dihasilkan dapat dinyatakan bahwa ekstrak kombinasi lebih berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. Haddy, dkk (2007) mengatakan semakin banyak pengenceran pada suatu zat uji maka kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai zat antibakteri semakin berkurang. Zona hambat ekstrak kombinasi lebih besar daripada ekstrak tunggal. Perbedaan ini dapat disebabkan karena kandungan metabolite sekunder utama yang terdapat didalam ekstrak-ekstrak kombinasi lebih banyak dibandingkan ekstrak tunggal (Saraswaty dkk, 2013). Ekstrak kombinasi yang memiliki perbedaan secara signifikan adalah pada perbandingan 1:2. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak kunyit dan pare bersifat bakterostatik. Adila dan Agustin (2013) menyebutkan ekstrak etanol kunyit memiliki aktifitas antibakteri yang bersifat bakterostatik. Sama halnya dengan ekstrak etanol pare, Wibowo (2016) melaporkan bahwa ekstrak tersebut bersifat bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak tunggal dan kombinasi mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid. Metabolit sekunder tersebut memiliki aktifitas antibakteri (Mardiana, dkk. 2015) dan (Utami, dkk.2016). oleh karena itu, ekstrak etanol pare dan kunyit dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Okeke (2001) menyebutkan bahwa beberapa senyawa metabolit sekunder seperti

saponin, tanin, flavonoid, terpenoid dan alkaloid telah dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri. Masing-masing senyawa menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme yang berbeda. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh metabolit sekunder secara umum melalui penghambatan pembentukan senyawa penyusun dinding bakteri, meningkatkan permeabilitas membran sel, sintesis protein dan metabolisme sel sehingga sel kehilangan komponen penyusun sel dan menginaktivasi enzim (Mardiana, 2015). penghambatan sintesis dinding sel adalah mekanisme utama metabolit sekunder dalam aktifitas antibakteri Wallas (1962). Aktifitas antibakteri suatu senyawa aktif secara umum sebagai berikut :

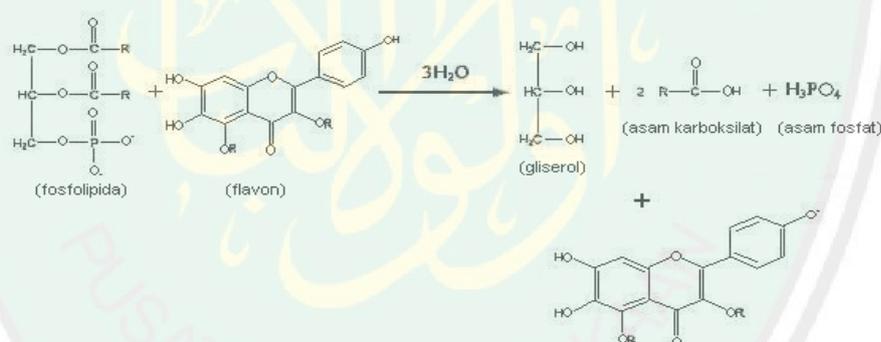


Gambar 4.9 proses senyawa aktif menghambat pertumbuhan bakteri senyawa aktif

Berdasarkan Gambar 4.2, bereaksi dengan *transpeptidase* yang merupakan enzim penyusun peptidoglikan dan terjadi pemutusan sehingga sintesis peptidoglikan terhambat. Antignac, dkk (2007) melaporkan yang menjadi target dari senyawa antibakteri adalah senyawa pembentukan sintesis dinding sel yaitu *Penicillin Binding Proteins* (PBPs) dan *transpeptidase*. Berikut ini Senyawa aktif yang mempunyai aktifitas antibakteri.

Mekanisme kerja flavonoid menurut Hendra *et al*, (2011) dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran

sel dan menghambat metabolisme. 2 cincin yang terdapat dalam senyawa flavonoid berperan penting dalam membentuk ikatan hidrogen dengan menumpuk asam nukleat sehingga pembentukan DNA dan RNA terhambat. Cushine *et al*, (2005) mengatakan kerusakan yang ditimbulkan flavonoid yaitu kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Flavonoid menghambat pertumbuhan membran sel dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein seluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intra seluler (Cowan. 1999; Nuria *et al*. 2009; Bobbarala, 2012). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat (Cushine, 2005.)



Gambar 4.10. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno. 2007)

Senyawa lain dalam ekstrak adalah saponin. Senyawa ini menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berinteraksi dengan membran sitoplasma. Mardiana (2015) mengatakan senyawa saponin berpenetrasi ke dalam dinding sel dan merusak dinding sel sehingga senyawa-senyawa lain dapat masuk dalam dinding sel.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ulya, 2012 dan Utami 2014). Menurut Karou (2015) alkaloid sebagai agen antibakteri dengan cara menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Cushine, 2005).

Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Menurut Noer (2006) dan Cavalieri et al (2005) alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma membentuk senyawa kompleks melalui ikatan hidrogen dan mengurangi kestabilannya.

Senyawa lain yang terdapat dalam ekstrak pare dan kunyit adalah triterpenoid. Senyawa ini dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin. Porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa. Rusaknya porin akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Haryati, dkk. 2015 dan Cowan. 1999).

Alamsyah dan Sabdono (2015) melaporkan, senyawa steroid juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa steroid dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan

permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material interaseluler.

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *two way anova* pada L.8.1 nilai *p-value* < 0.05 yaitu 0.014. Berdasarkan nilai tersebut data yang diujikan mempunyai homogenitas. *Output 3* uji anova menunjukkan hasil uji anova dan diperoleh hipotesis. Berdasarkan nilai probabilitas (*p-value*) yang tercantum pada kolom signifikan apabila *P-value* > 0.05 maka H_0 diterima, sebaliknya jika *P-value* < 0.05 maka H_0 ditolak. Hasil uji anova pada L.8.1 diperoleh nilai *P-value* < 0.05 sehingga H_0 ditolak. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa zona hambat berbeda nyata untuk variasi konsentrasi ekstrak dan zona hambat juga berbeda nyata untuk variasi ekstrak. Berbeda nyata yang dimaksud adalah ada perbedaan rata-rata hasil zona hambat variasi konsentrasi dan kombinasi ekstrak. *Output 4* hasil uji anova untuk menentukan variabel mana yang memiliki perbedaan mean secara signifikan. Hasil uji anova pada *out put 4* setiap variasi konsentrasi dan variasi kombinasi menghasilkan nilai signifikan setiap variasi komposisi dan konsentrasi ekstrak. Hasil uji anova pada *output 5* yaitu *homogeneous subset* untuk menentukan variabel mana yang memiliki perbedaan tidak signifikan. variabel yang tidak memiliki perbedaan tidak signifikan yaitu antara ekstrak tunggal kunyit dan ekstrak kombinasi dengan perbandingan 1:1. Berdasarkan hasil analisis *tukey* menunjukkan bahwa ekstrak yang memiliki pengaruh terbesar pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah ekstrak kombinasi pare:kunyit dengan perbandingan (1:2) pada konsentrasi 65%.

4.4 Pemanfaatan Tumbuhan dalam Prespektif Islam

Tumbuhan-tumbuhan yang berada diperut dan di permukaan bumi merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah ﷻ, maha pengatur dan pemberi rezki. Allah ﷻ menumbuhkan berbagai macam tumbuhan baik dan terdapat banyak manfaat di dalamnya. Salah satu manfaat tumbuhan tersebut yaitu sebagai obat alami. Sebagaimana firman Allah dalam surat Ash-Shaffat ayat 146 dan surat al-insan ayat 17 yang telah disebutkan pada bab sebelumnya.

Ayat 17 dari surah Al-Insan tekandung kata jahe. Hal ini menunjukkan tumbuhan dari jenis jahe diperbolehkan untuk dikonsumsi. Tumbuhan lain yang digunakan sebagai obat adalah tumbuhan dari jenis labu sebagaimana yang Allah sebutkan dalam surat Ash-Shaffat. Tumbuhan dari jenis labu tersebut telah digunakan Nabi yunus untuk mengobati penyakitnya.

Ayat tersebut mengingatkan kita bahwa pada suatu tumbuhan yang ada dimuka bumi ini berpotensi sebagai obat. Maka dalam penelitian ini mencoba untuk mengetahui dan mengkaji kandungan metabolit sekunder pada pare dan kunyit, sebagai sumber antibakteri alami.

Islam menganjurkan ummatnya untuk melakukan pengobatan dari suatu penyakit. Sebagaimana dalam hadist dari Abdullah bin Mas'ud radhiallahu 'anhu mengabarkan dari Nabi Muhammad ﷺ :

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهْلُهُ مَنْ جَهْلَهُ

“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.” (HR. Ahmad)

Berdasarkan hadist diatas, segala bentuk penyakit ada obatnya. Hal ini merupakan tantangan besar bagi manusia untuk mengupayakan dan menggali pengetahuannya

tentang setiap obat dari suatu penyakit tersebut. Kalimat terakhir dari ayat tersebut merupakan tuntutan untuk mengkaji dan mempelajari tentang tumbuhan mana yang bisa berpotensi sebagai obat penyakit tertentu sehingga kesejahteraan manusia mudah tercapai. Obat dari suatu penyakit tidak akan di dapat tanpa proses berfikir (mengkaji dan meneliti).

Firman Allah dalam Qs. al Furqon (25) ; 2 :

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَمِمَّا يَخْتِذُ وُلْدًا وَمِمَّا يَكُنُ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya : “yang kepunyaanNya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Qs. al Furqon (25); 2).

Maksud dari kalimat “*Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya*” menurut Tafsir Al-Qurthubi adalah menetapkan segala sesuatu dari apa yang diciptakan-Nya sesuai dengan hikmah yang diinginkan-Nya, dan bukan karena nafsu dan kelalaian, melainkan segala sesuatu berjalan sesuai dengan ketentuan-Nya hingga Hari Kimiat dan setelah Kiamat (Al-Qurthubi. 2009). Berdasarkan ayat tersebut dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah ﷻ memiliki kapasitas/ukuran masing-masing, begitu pula dengan aktifitas yang dihasilkan dari ekstrak pare dan Kunyit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol y pada perbandingan 1:2 (pare:kunyit) dengan zona hambat terbesar yaitu 12.4 pada *Staphylococcus aureus* dan 8.7 mm pada *Escherichia coli* dengan konsentrasi 65 %. Allahu a’lam bissawab.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Senyawa aktif pada ekstrak etanol 96% Kunyit dan Pare baik tunggal maupun kombinasi hasil identifikasi senyawa aktif dengan reagen yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan triterpenoid.
2. Ekstrak tunggal dan kombinasi etanol 96% pada Kunyit dan Pare mempunyai aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Staphyococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan hasil zona hambat yang berbeda. Ekstrak etanol 96% pada Kunyit dan pare yang mempunyai Aktifitas antibakteri paling besar yaitu kombinasi pare kunyit dengan perbandingan (1:2) pada konsentrasi 65%. Diameter zona hambat terhadap terhadap *Staphyococcus aureus* sebesar 12.6 termasuk kategori kuat dan *Escherichia coli* sebesar 8.6 dengan kategori sedang

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji kadar hambat minumum pada kombinasi dan konsentrasi yang memiliki pengaruh paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif menggunakan KLTP untuk memperoleh senyawa aktif murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Adila, R., Nurmiati, dan Agustin, A. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma spp.* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2 (1). 1-7.
- Alamsyah, K. H., Widowati, I., dan Agus, S. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari Perairan Pulau Panjang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermis*. *Journal of Marine research*. Vol. 3. No. 2. Hal 69-78.
- Al-Mubarak, Z, A. 2006. *Pendekatan Strukturalisme Linguistik dalam Tafsir Al-Qur'an Kontemporer "ala" M.Shahrur*. Yogyakarta : eLSAQ.
- Al-Qurthubi. 2009. *Al-Jami' li Ahkaam Al-Qur'an*. Jakarta : Pustaka Azzam.
- Andriani, Z. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Euchema Cottoni* Dari Pantai tujung Sumenep terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : jurusan Kimia SAINTEK UIN Malang./
- Anwar, A. 1994. *Program Menjaga Mutu Kualitas Pelayanan Kesehatan*. Jakarta : Yayasan Penerbitan ID
- Armayani. 2013. Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Aktivitas Antibakteri kombinasi Ekstrak Etanol Temu putih (*Curcuma zeodoaria* (Chrim.)Roscoe) dan mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) pada Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jakarta : Uin Syarif Hidayatullah
- Asy-shayim, M. 2006. *Tumbuhan pilihan, Sehat Alami Secara islami*. Solo : Pustaka Arafah.
- Barus, D. O., Gelgel, K. T. P., & Suarjana, I. G. K. 2013. Uji Kepekaan Bakteri *Esherichia coli* Asal Ayam Pedaging terhadap Antibiotik Doksisisiklin, Gentamisin, dan Tiamfenikol. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(5):538 – 545.
- Baud, G.S., Meiske, S., Harry, S.J. 2014. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol batang tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*. 107-112.
- Bobbarala, V. 2012. *Antimicrobial Agents*. Intech, Croatia.
- Cannel, R.J.P. 1998. *Natural products Isolation Methods in Biotechnology*. Totowa : Humana Press.

- Cavalieri, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., dan Spiegel. 2005. *Manual of Antimicrobial susceptibility Testing*. American Society for Microbiology, USA.
- Chausine, T.T.P., dan Andre, J.W. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26. Hal : 343-356.
- Cholifah, S., Arsyad, dan Salni. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare (*Momordica Charantia,L*) terhadap Struktur Histologis tesis dan Epidermis Tikus jantan (*Rattus Norvegicus*) Sparuque Dawley. *MKS, Th*. Vol 46. No. 2.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 – 582.
- Cushnie, T.P.T., dan A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal*
- Daintith, J. 1994. *Kamus Lengkap Kimia*. Jakarta: Erlangga.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Paramete Standar umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Diktorat jendral POM-Depkes RI.
- Desmiaty, Y., Ratih H., Dewi M, A., Agustin R. 2008. Penentuan jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria Bicolor hassk*) secara kalorimetri dengan pereaksi Biru Prusia. *Ortocarpus* . Vol. 8. Hal : 106-109.
- Dharma, A.P. 1985. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. Jakarta : Cetakan I. P.N Balai Pustaka.
- Dwidjoseputro, D.1987. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Fadhila, N.W., Yuliawati, M., dan livia, S. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi KLT terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta (L.) Schott*). *Prosiding Peneleitian Sitivitas Akademi Unisba*. ISSN 2460-6472.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan Edisi Pertama*. Jakarta : Raja Grafindo Persada.
- Faruq, R.A. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Pare (*Momordica charantia L.*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Fitriyani, A., Winarti, L. Muslichah, S. Dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz*) pada tikus Putih. *Majalah Obat tradisional*: 16 (1), 34-42

- Gritter, R. J. 1991. *Pengantar Kromatografi, Edisi Kedua*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Grover, J. K., dan Yadav, S, P. 2004. Pharmacological and Potential Uses of *Momordica charntia*. *A review J Ethnopharmacol*, 93(1), 123-132.
- Gunawan, D. 2009. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Handayani, D., Nur, S. Dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar nasional Sains dan teknologi-II 2008*. Lampung : Universitas Lampung.
- Haniah. 2013. Identifikasi dan Uji Aktivitas Ekstral Metanol Daun Buga Matahari (*Helianthus Annus L.*) Sebagai Antimalaria Secara *In Vivo* pada Mencit. *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Padmawinata K, Soedira I. 1996. Bandung: Penerbit Institusi teknologi Bandung.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah : Niksolihin S, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methode*
- Hariardi, A dan Mubdy, F . 2013. *Pengobatan dalam Pandangan Isam*. Jakarta : Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka.
- Haryati, A, N., Saleh, C., dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol 13. No 1.
- Hayati, E. K., Akyunul, J., dan Rachmawati, N. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*). *Molekul*. Vol 7. No. 1.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.

- Hendra, R., Syahida, A., Aspolla, S., Yunus, S., dan Ehsan, O. 2011. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int. J. Mol. Sci.* 12 : 3422-3431
- Himawan, C. H., Vinsensius, S., Laura, P. 2012. Karakteristik dan Identifikasi Komponen Kimia Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai Inhibitor Bakteri Patogen. *Fitofarmaka.* 2 (2). Hal: 116-125.
- Ibnu Katsir. 2002. *Tafsir Ibnu kastir*. Surabaya : Pustaka Imam Syafii.
- Indrayani, L., Soetijo, H., dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Iskandar, Y., Rusmiati, D., dan Rusma, D.R. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rumpun Laut (*Eucheuma Cottonii*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Farmasi*. Sumedang : Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universita Padjadjaran Jatinangor.
- Ismiyah. F., Begum, F., Muti'ah. R., Achmad, G. F. 2013. Identifikasi Golongan Senyawa dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95% Daun , Kulit Batang Dan Akar Pulau (*Alstonia scholaris* (L.)R. Br.) Terhadap Mencit BALB/C. *Skripsi*. Malang : UIN Mauliana Malik Ibrahim Malang.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piper retrofracti fructus*). *Skripsi*. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Jannah, A. 2009. Pengaruh Pemberian Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Proses Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Malang : UIN Malang.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A. 1991. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*, Edisi ke-16. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Juasa. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiberofficinale* Roscoe Var. *Suntival*) dan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper Retrofractum* Vahl) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Skripsi*. Bandung : Universitas Islam Bandung.

- Kareru, P, G., Keriko, J, M., Kenji, G, M., Thiong'o G., Garchanja, A, N, dan Mukira, H, N. 2010. Antimicrobial Activities of Skincare Perparations from Plant Extract. *Afr. J. Trad. CAM.* 7 (3). Hal :214-218.
- Karou D, Savadogo A, Canini A, Saydou Y, Monstesano C, Simpure J, Coilizzi V, Traore AS. 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* 4(12): 1452-1457.
- Kharunnisak. 2013. Efektivitas Antimalaria dan Identifikasi Golongn Senyawa Aktif Ektrak Etanol 80% Daun Bunga Matahari (*Helianthus annus*) pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium Bergeh*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Kholifah. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Edwardsiella tarda* Penyebab Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan. *Skripsi*. Malang : fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Malang
- Kusmayati, A.N.W.R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*), *J Biod.* 8 (1) : 48 – 53.
- Kusmiyati, N.A., dan Sri H. 2011. Isolasi dan Identifikasi Zat Aktif Ekstrak Metanol Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga Val.*) Fraksi Etil Asetat. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian.* 1 (2), 1 – 10.
- Kyle, J.M., Rafal, K., Bartosz, A., and Grzybowski, 2006. *Angewandte Chemie International Edition* 45, Issue 32: 5348 – 5354.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Mabruroh, I, A. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak tanin dari daun Rumput Bambu (*Caphecherum grecille Broaga*) dan Identifikasinya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Mahanani, R., Praharani D., Purwanto. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. *Artikel Hasil Penelitian Mahasiswa*. Jember: UNEJ.

- Mardiah. 2010. Ekstraksi Kelopak Bunga dan Batang Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) sebagai Pewarna Merah Alami. *Seminar Fakultas Agribisnis dan Teknologi Bahan Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Universitas Djuanda, Bogor.
- Mardiana, A.D., Ibrahim, M., dan Lisa, L. 2015. Potensi filtrat Daun *Sansevierua triafasciata* terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LebteraBio*. Vol. 4 No. 1.
- Mariana, L., Yayuk A., dan Erin R. G. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). *Jurnal*. Universitas Mataram.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrinning fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq Swartz) dalam Ekstrak etanol. *Biofarmass*. Vol, 3. No. 1.
- Megawati, C.R., Musa, J.A., Weny, dan Sihaloho, M. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak Kental Buah Pare (*Momordica Charantia* L). Gorontalo: Jurusan Pendidikan Kimia Universitas Negeri Gorontalo.
- Meltyza, E., Indriyanti, R.A., Rahimah, dan Santun, B. 2014. Perbandingan Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria*) dengan Natrium Diklofenak pada Tikus yang Diinduksi dengan Carrageenan. *Prosiding Pendidikan Kedokteran*. Bandung : fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung.
- Mukti, D. 2012. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Skripsi*. Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
- Mulyadi, M., Purbowatiningrum, R.S. dan Wuryanti. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar sampel Alang-Alang (*Impretta cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi cakram. *Chem Info*. 1 (1). Hal : 35-42.
- Mulyani, S., Musthapa, I., dan Aisyah, S. 2010. Isolasi dan Karakteristik Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Aktiv Antidiabetes Daging Buah Pare (*Momordica charantia* Linn). *Jurnal Kimia dan Teknologi Kimia*. Vol 1. No. 2. 191-199.
- Nag, A., Bandyopadhyay, M., dan Mukhereje, A. 2013. Antioxidant Activities and cytotoxicity of Zingiber zerumber (L.) Smith Rhizome. *Journal of Pharmacology and Phytochemistry*. Vol 3. No. 2. 102-108.
- Nendissa, D.M. 2012. Analisa kemampuan alga hijau silpau (*Dictyosphaeriaver sluyisii*) sebagai antibakteri. *Jurnal Ekologi dan Sains*. 1(1).

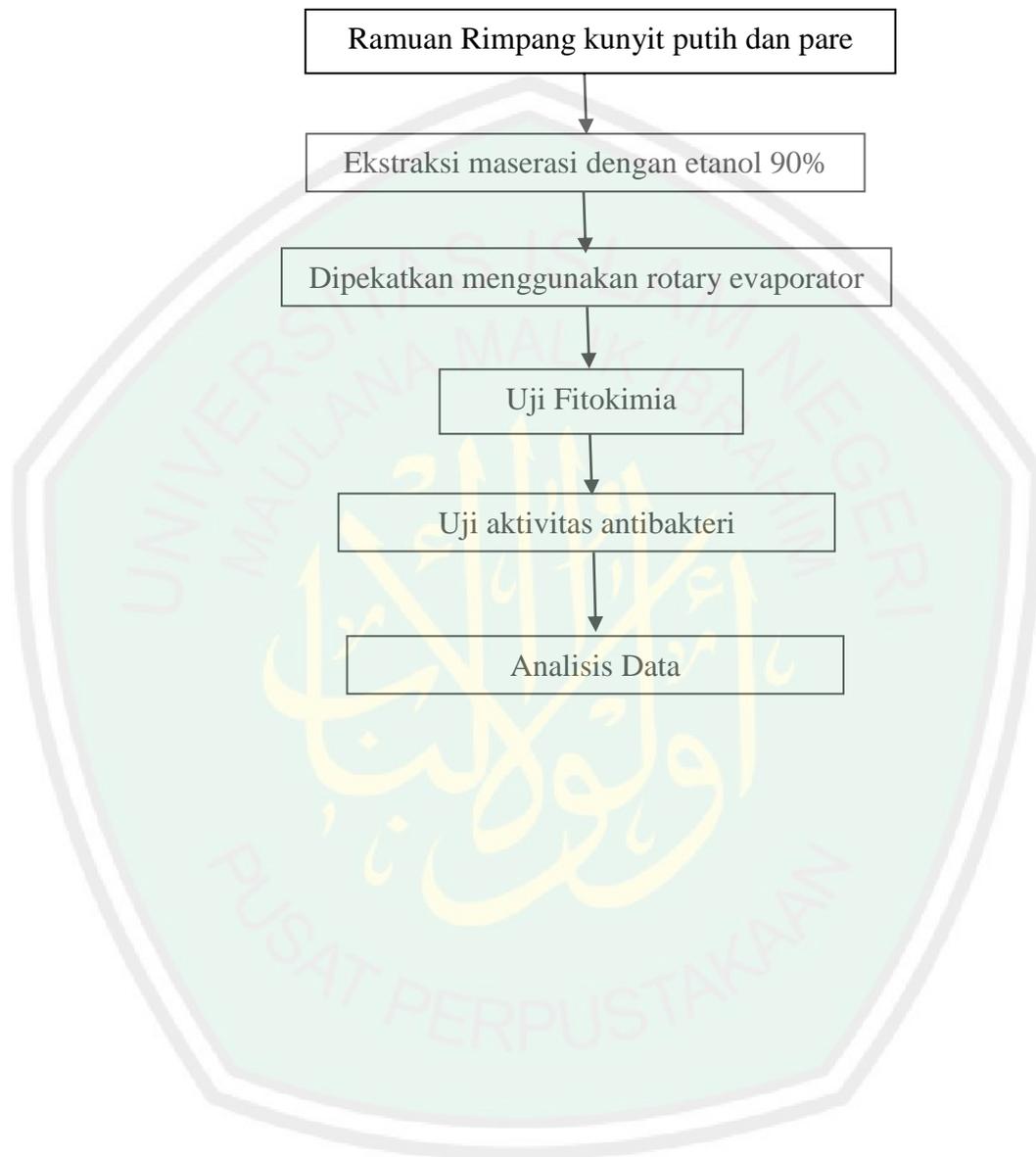
- Noer, I.S dan Nurhayati, L. 2006. Bioaktivitas *Ulva reticulata* Forsskal Asal Gili Kondo Lombok Timur terhadap Bakteri. *Biotika*. 5(1): 45-60.
- Noriko, N. 2013. Potensi Daun teh (*Camellia sinensis*) dan Daun Aning-Aning (*Acalypha indica* L.) Dalam menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. 2 (2). Hal : 104-110
- Nugroho, A. E., A. Malik and S. Pramono. 2013. Total Phenolic and Flavonoid Content, and In Vitro Antihypertension Activity of Purified Extract of Indonesian Cashew Leaves (*Anacardium occidentale* L.). *International Food Research Journal*. 20 (1). Hal : 299 – 305.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.
- Nursal, Siregar, dan Sartina, E. 2005. Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Lengkuas (*Lactuca Indica* L), Toksisitas dan Pengaruh Subletalnya terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Hasil Penelitian Doesen Muda*. Medan Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Pelczar, M. J., dan E. S. Chan.1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi Ke-2*. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Pengamanan, A., Fatimawali., dan Budiarmo. F. Uji Daya hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomona* sp. *Jurnal e-Biomedik*. Vol 4. No. 1.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, T. 1994. *Dasar-Dasar biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- Prajitno, A. 2007. Uji Sensitivitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Skripsi*. Malang : Universitas Brawijaya.
- Pratiwi, ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Pujimulyani, D., Raharjo, S., Marsono., dan Santoso, U. 2010. Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Senyawa Fenolik pada Kunir Putih (*Curcuma mangga* Val.) Segar dan Setelah *Blanching*. *Agritech*. 30 (2).
- Purwitasari, S. 2014. Aktivitas Sitotoksik ekstrak Kasar Daun Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) Terhadap Lava udang (*Artemia salina* Leach) dan Identifikasi Awal Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Putri, M.S. 2014. White Turmeric (*Curcuma zedoaria*): Its Chemical Substance And The Pharmacological Benefit. *Journal Majority*. 3 (7).
- Putri. P. I. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Bunga Sirsak (*Annona muricata linn.*) dengan Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif. *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Putu, S.A. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid pada Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq*). *Seminar Nasional*. Sukarta : Universitas Pendidikan Ganesha.
- Rahayu, D.S., Dewi, K dan Enmy, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Rahmawati, N., Sudjarwo, E., dan Widodo. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. Vol 24. No. 3.
- Ratna, G. 2011. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kunyit dan Pare terhadap LDL Tikus Putih. *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Rendiana, D. 2014. Isolasi Senyawa Flavonoid pada Buah Pare (*Momordica Charantia L.*) Yang Memiliki Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Bandung : Unisba.
- Retnowati. Y., Nurhayati, B dan Nona, W.P. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*. Vol 6, No 2.
- Rita, W. S. 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih. *Jurnal Kimia*. Vol 4. No. 1. Hal :20-26.
- Rizqiyah, H. A. 2014. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophaterum gracile B.*) Dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi golongan Senyawa Aktif. *Skripsi*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rohman, A. dan Gandjar I. G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Rohman, A., Riyanto S., Yuniarti N., Saputra W.R., Utami R., Mulatsih W. 2010. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavaonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Padanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*. 1. Hal : 97-106.
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* B.) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Rosana, I.R. 2015. Aktivitas Antibakteri jamu "Empot Super" Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : Jurusan Biologi Sintek UIN Malang.
- Rukmana HR. 1994. *Kunyit*. Jakarta: Penerbit Kanisius.
- Safitri, R dan Sinta, S. 2010. *Medium Analisa Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*. Jakarta : CV. Trans Info Media.
- Salle, A. J. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi 5th Edition*. New York : MC Graw Hill Book Company Inc.
- Sari, P, P., Rita, W, S., dan Puspawati, N, M. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak daun Trembesi (*Samanea saman(jacq.)Merr*) Sebagai Anti Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*. 9 (1). Hal: 27-34.
- Sarjono, R, Purbowatiningrum dan Mulyani, S, Nies. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga* Vall). *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*. 15 (2)..
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Setiabudy, R. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (*Anredera cordfolia*)(tenore) Steenis Terhadap *S. Aureus* ATCC 25923 dan *E.Colli* ATCC1129 Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi*. Surakarta : fakultas Farmasi UMS Surakarta.
- Setyowati, W.A.E., Sri R.D.A, Mulyani, B., Cici, P.R, dan Ashadi. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibthinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI 271*. ISBN : 979363174-0.
- Shihab, M.Q. 2003. *Tafsir-Almisbah Pesan Kesan Keserasian Al-Quran*. Jakarta : Pustaka lentera hati.

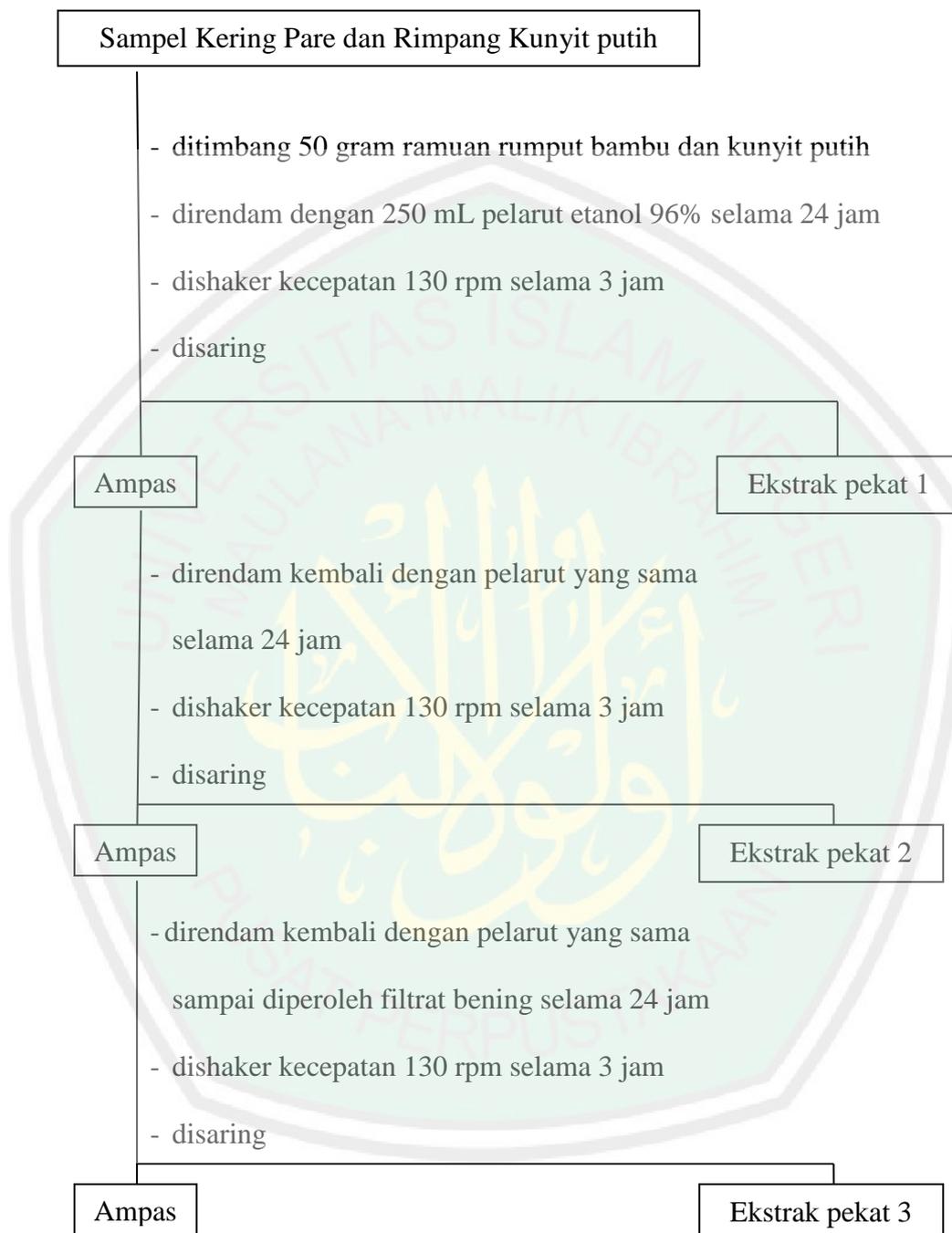
- Shihab, S.M.M. 2002. *Tafsir Al-Misbah pesan-kesan Keserasian Alqur'an Surat Al-maidah*. Tangerang : Lentera Hati.
- Simarmata., R., Sylva, L., dan Harmastini, S. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Jurnal Of berk. Vol. 13* No.85.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : Penerbit ITB.
- Soebagio. 2002. *Kimia Analitik II*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sukadama, I. M. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar (Ficus Septic Burm F)*. Kelompok Studi Bahan Alam. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas UDAYANA. Bali. ISSN 1907-9850.
- Sukadana, I.M. 2009. Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.L). *Jurnal Kimia*. No 3. Vol 2 : 109- 116.
- Sumaiyah. 2015. Tumbuhan Terpilih Menurut Perspektif Islam dan Sains Kesehatan. *Disertasi*. Kuala Lumpur : Institut Pengajian Siswazah Universitas Malaysia.
- Sumaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya Dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi*. Malang. Universitas Brawijaya.
- Supardi dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Produk Pangan*. Bandung : Penerbit Alumnus.
- Susanto, D. S., dan Rega. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea Leprosula* Miq) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie. 11* (2).181-190
- Syahrurachaman, A. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Syamsuhidayat, S. S., J. R. Hutapea. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I Jilid 2*. Jakarta. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia.
- Taylor L. 2002. *Technical Data Report For Bitter Melon From Herbal Secrets of the Rainforest 2nd edition*. Sage Press. Austin.
- Tensiska, Masetio, dan Silvia, O.N.Y. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu.

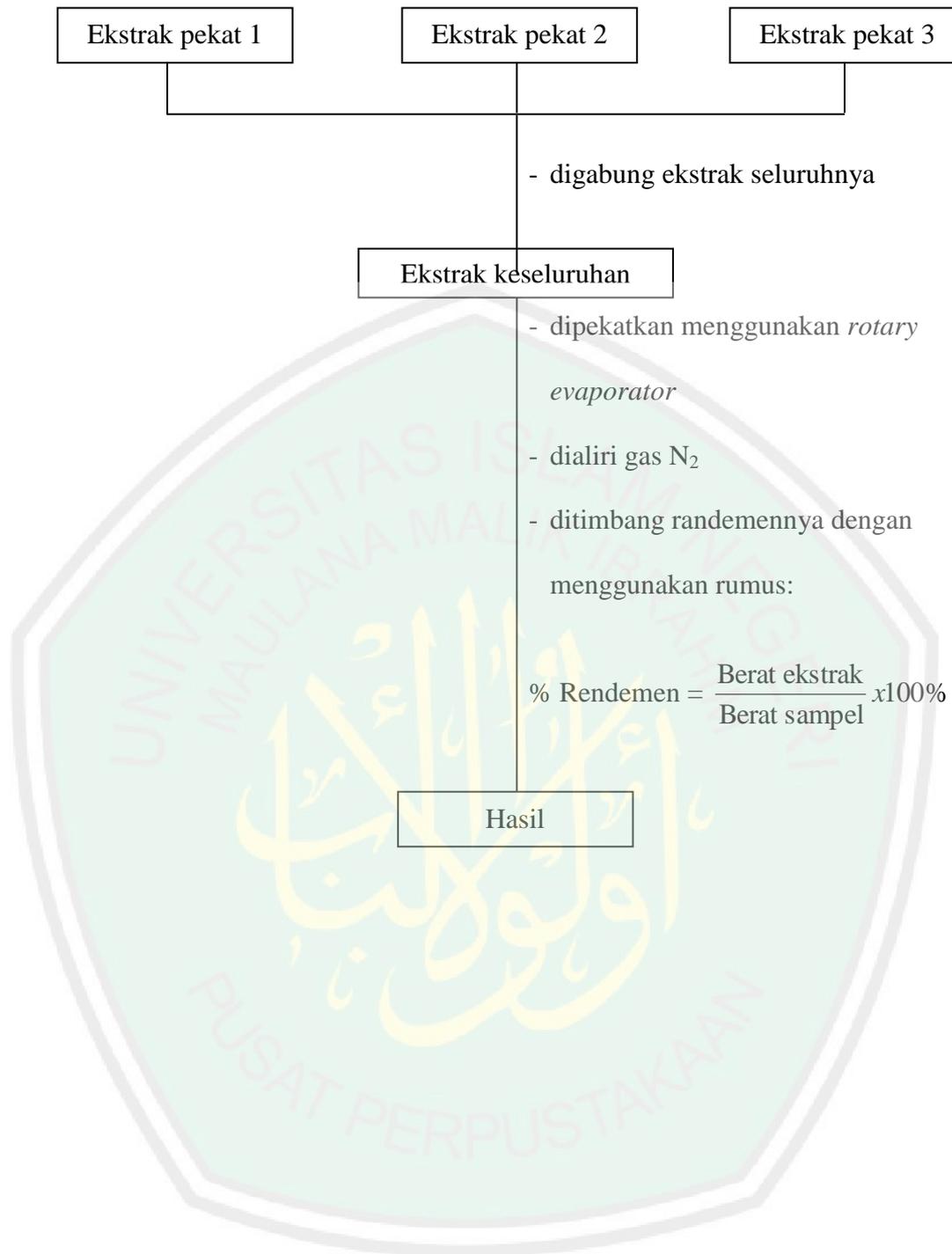
- Todar, K. 2004. *Bacillus cereus Food Poisoning*. Todar's Online Text Book Of Bacteriology.
- Utami, W. Wira., Aktsar, Roskiana, Ahmad., Malik. Abd. 2014 uji aktivitas larvasida ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.*, 141-145.
- Utami. L. P., Sudarmanto. G. I., Merta. I. W. 2016. *Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan pada Berbagai Konsentrasi Persan Daun Pare Secara In Vitro*.
- Volk dan Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jasad V*. Jakarta : Erlangga.
- Wattimena, JR. 1981. *Farmakodinami dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: UGM.
- Wibowo, T.C., dan Yuliani, R. 2015. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Multiresistensi Antibiotik Beserta Uji Bioautografinya. *NASKAH PUBLIKASI*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Yitnosumarto. 1993. *Percobaan Perancangan Analisa dan Interpretasi*. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Zahro, I.M. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak N-heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica linn.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS dan FTIR. *Jurnal Penelitian*. Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

LAMPIRAN**Lampiran 1 : Rancangan Penelitian**

Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Metode Maserasi

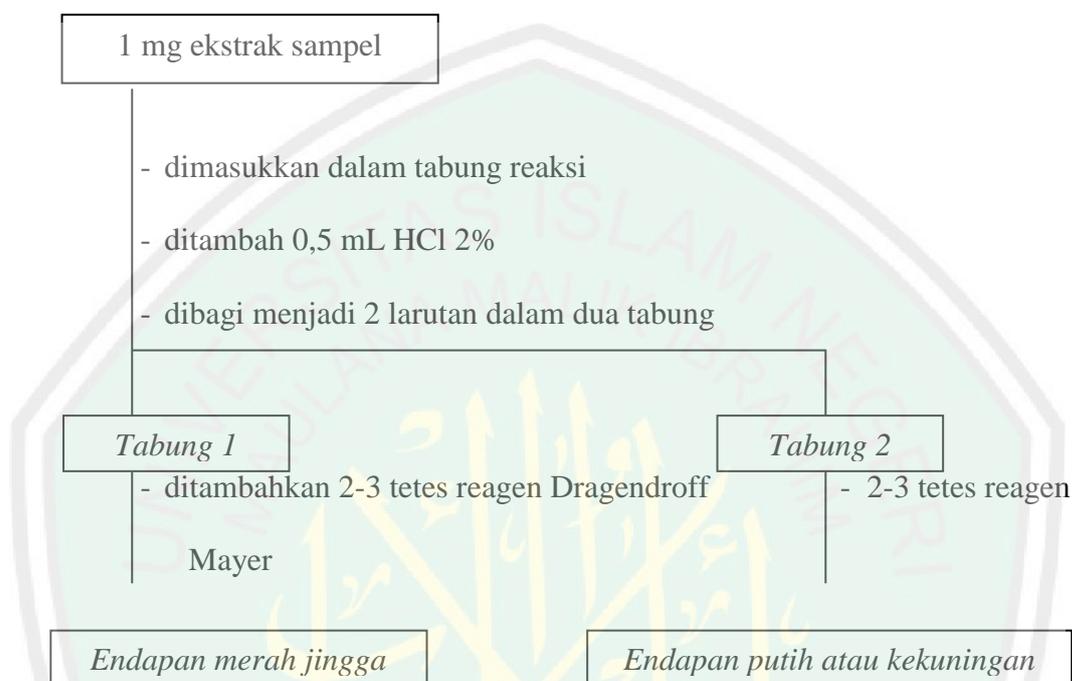




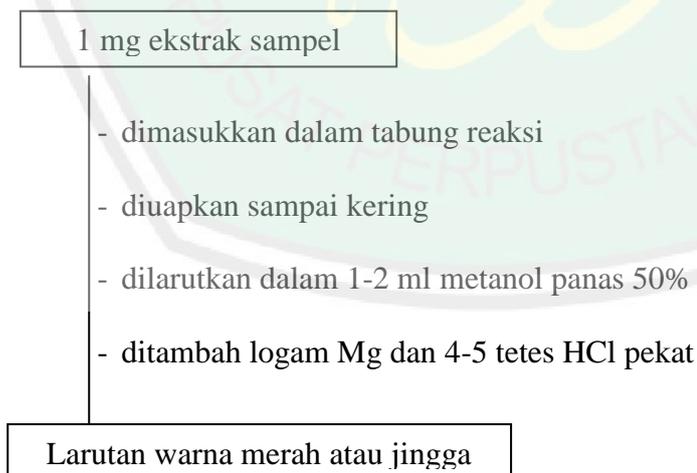
L.2.3 Analisa Fitokimia

Identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji steroid, uji terpenoid, dan uji tanin.

L.2.3.1 Uji Alkaloid



L.2.3.2 Uji Flavonoid



L.2.3.3 Uji Saponin

1 mg ekstrak sampel

- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambah air (1:1) sambil dikocok 1 menit
- ditambahkan HCl 1 N jika menimbulkan busa selama 10 menit

Timbul busa dengan ketinggian 1 – 3 cm

L.2.3.4 Uji Steroid dan Terpenoid

1 mg ekstrak sampel

- dimasukkan dalam dua tabung reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform dan ditambah dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat
- ditambah dengan 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi

cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut (triterpenoid), warna hijau kebiruan (steroid)

L.2.3.5 Uji Tanin

1 mg ekstrak sampel

- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambah 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%.

warna hijau kehitaman atau biru tua

L.2.4 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT

Ekstrak Etanol 96% Kunyit dan Pare

- Dipotong masing-masing plat dengan ukuran $1 \times 10 \text{ cm}^2$
- Ditotolkan sebanyak 5-10 totolan pada jarak $\pm 1 \text{ cm}$ dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler
- Dikeringkan
- Dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya yang telah terjenuhkan
- Dihentikan pengelusian ketika telah sampai garis batas atas
- Diperiksa noda permukaan plat di bawah sinar UV
- Disemprotkan dengan penampakan noda yakni masing-masing reagen yang sesuai
- Diamati masing-masing hasil nodanya

Hasil

L.2.6 Uji aktivitas antibakteri dengan metode Difusi cakram

L.2.6.1 Sterilisasi

Alat, Bahan dan Medium

- Dicuci bersih untuk alat
- Dikeringkan dan dibungkus dengan plastik tahan panas
- Disterilisasi didalam *autoclav* selama 20 menit dengan temperatur 121 °C dengan tekanan 1 atm
- Alat yang tidak tahan panans disterilkan dengan alkohol

Hasil

L.2.5.2 Pembuatan Media

Nutrien Broth 1 g

- Dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam gelas beker
- Dimasukkan dalam erlenmeyer dan dipanaskan sampai mendidih
- Erlenmenyer tersebut ditutup dengan kapas dan dirapatkan menggunakan plastik warp setelah pemanasan
- dibungkus dengan plastik tahan panas
- disterilisasi

Hasil

Nutrien Agar 2,3 g

- ditambahkan 100 mL akuades dan dimasukkan *stirrer*
- dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih
- dimasukkan pada 2 tabung reaksi sebanyak 5 mL
- ditutup Tabung reaksi tersebut dengan kapas dan dirapatkan dengan plastik warp
- dibungkus plastik tahan panas
- Disterilisasi

Hasil

L.2.5.3 Peremajaan Bakteri

Media NA

- Diambil Koloni Bakteri dari biakan murni, dilakukan secara aseptis dengan jarum ose
- Digoreskan pada media agar
- Ditutup tabung reaksi menggukan kapas dan dirapatkan dengan plastik warp

Hasil

L.2.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri (Andriani, 2013)

1 ose bakteri *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* hasil peremajaan

- Ditambahkan kedalam 10 mL Media cair (NB)
- Dishaker \pm 18 jam
- disterilisasi

Hasil

L.2.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media Padat (NA) dalam cawan petri

- Dimasukkan 1 mL larutan biakan aktif bakteri
- Dihomogenkan dengan cara di goyang (membentuk angka 8)
- Diletakkan Kertas cakram steril yang telah direndam dengan ekstrak etanol kunyit dan pare dengan variasi konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% selama 30 menit, diatas media.
- Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.
- Diukur Diameter meter zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen

L.3.1 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\begin{aligned}
 \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37\% \\
 \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\
 n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+) \\
 \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl} \times 10}{\text{BM HCl pekat}} \\
 &= \frac{37\% \times 11,90 \text{ g/mL}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\
 12,09 \text{ N} \times V_1 &= 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 8,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 16,5 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi ± 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.2 Pembuatan Metanol 50%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99,8\% \times V_1 &= 50\% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatan adalah diambil larutan methanol 99,8% sebanyak 5 mL didalam lemari asam menggunakan pipet volume 5 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan NaHCO₃ 2N

$$\begin{aligned} M &= 2 \text{ M} \\ BJ &= 84 \text{ g/mol} \\ V &= 50 \text{ mL} \\ \text{Normalitas NaHCO}_3 &= n \times \text{Molaritas NaHCO}_3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M &= \frac{\text{gr}}{BJ} \times \frac{1000}{V} \\ 2 \text{ M} &= \frac{\text{gr}}{84 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{50 \text{ mL}} \\ &= \frac{168}{20} = 8,4 \text{ gram} \end{aligned}$$

Cara pembuatan adalah ditimbang NaHCO₃ sebanyak 6,4 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades. Selanjutnya dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan dihomogenkan.

L.3.4 Pembuatan HCl 2%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,54 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatan adalah dipipet larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,54 mL menggunakan pipet volume 1 mL dan pengambilannya dilakukan didalam lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.5 Pembuatan FeCl_3 1 %

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{g terlarut}}{\text{g terlarut} + \text{g pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{g terlarut} + \text{g pelarut} = \frac{\text{g terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ g} + \text{g pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1\%} \times 100\%$$

$$\text{g pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatan adalah ditimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 gram menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan.

L.3.6 Pembuatan Reagen Dragendorf

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatan adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3$ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 gram KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan 10 mL aquades ke dalam beaker glass untuk melarutkan serbuk dengan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 1996).

L.3.7 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl₂ 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatan adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl₂ 1,358 gram dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gram dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam beaker glass 50 mL. Kemudian ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan disertai pengadukan. Selanjutnya larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Kemudian diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Wagner, 1996).

L.3.8 Pembuatan Reagen Liebermann-Buchard

Asam sulfat pekat	= 5 mL
Anhidrida asetat	= 5 mL
Etanol absolut	= 50 mL

Cara pembuatan adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan dilemari asam. Kemudian larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Selanjutnya diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah berisi asam sulfat. Kemudian diambil larutan etanol absolute 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida asetat. Setelah itu ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 1996).

L.3.9 Pembuatan Larutan Variasi Konsentrasi Ekstrak

L.3.9 Pembuatan Perbandingan Ekstrak

Perbandingan 1 : 1 (Kunyit : Pare) sebanyak 20 mg

$\frac{1}{2} \times 20 = 10$ jadi untuk perbandingan 1 : 1 ekstrak kunyit sebanyak 10 mg dan ekstrak pare sebanyak 10 mg.

Perbandingan 1 : 2 (Kunyit : Pare) sebanyak 20 mg

$\frac{1}{3} \times 20 = 13$ jadi untuk perbandingan 1 : 2 (Kunyit : Pare) ekstrak kunyit sebanyak 13 mg

$\frac{1}{3} \times 20 = 7$ jadi untuk perbandingan 1 : 2 (Kunyit : Pare) ekstrak pare sebanyak 7 mg.

Perbandingan 2 : 1 (Kunyit : Pare) sebanyak 20 mg

$\frac{1}{3} \times 20 = 13$ jadi untuk perbandingan 2 : 1 (Kunyit : Pare) ekstrak kunyit sebanyak 13 mg

$\frac{1}{3} \times 20 = 7$ jadi untuk perbandingan 2 : 1 (Kunyit : Pare) ekstrak pare sebanyak 7 mg.

L.3.10 Pembuatan Larutan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Komposisi sampel 1 : 1 (10 : 10 mg/ml) dalam 5 ml pelarut

$$\left[\frac{10 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{? \text{ mg}}{5 \text{ ml}} \right] = 50 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Untuk } 10 \text{ mg/ml} \longrightarrow \frac{50 \text{ mg} + 50 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 10 \text{ mg/ml}$$

1. M 5 %

$$\frac{5}{100} \times 10 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} = 0,5 \text{ mg/ml}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \text{ mg/ml} \times V1 = 0,5 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{2,5 \text{ ml}}{10} = 0.25 \text{ ml}$$

2. M 25 %

$$\frac{25}{100} \times 10 \frac{mg}{ml} = 2.5 \text{ mg/ml}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \text{ mg/ml} \times V1 = 2.5 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{12.5 \text{ ml}}{10} = 1.25 \text{ ml}$$

3. M 35 %

$$\frac{35}{100} \times 10 \frac{mg}{ml} = 3.5 \text{ mg/ml}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \text{ mg/ml} \times V1 = 3.5 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{17.5 \text{ ml}}{10} = 1.75 \text{ ml}$$

4. M 50%

$$\frac{50}{100} \times 10 \frac{mg}{ml} = 5 \text{ mg/ml}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \text{ mg/ml} \times V1 = 5 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{25 \text{ ml}}{10} = 2.5 \text{ ml}$$

5. M 65 %

$$\frac{65}{100} \times 10 \frac{mg}{ml} = 6.5 \text{ mg/ml}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$10 \text{ mg/ml} \times V1 = 6.5 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{32.5 \text{ ml}}{10} = 3.25 \text{ ml}$$

L.4 Data Hasil pengamatan

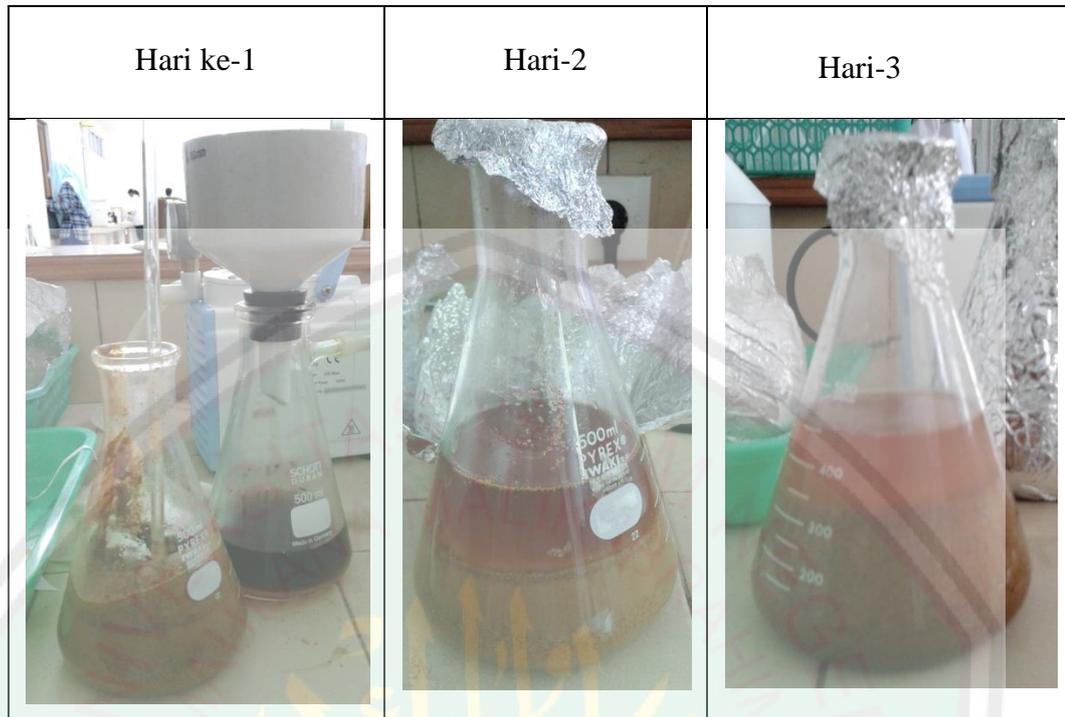
L.4.1 Hasil Zona Hambat Terhadap *Ecerecia colli*

Ekstrak Konsentrasi	Kunyit			Pare			Pare:Kunyit (1:1)			Pare:Kunyit (1:2)			Pare:Kunyit (2:1)		
	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃
5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.4	4.3	4.4	3.4	3.6	2
25%	3.5	3.3	3.4	2.3	1.8	2	3	2.6	3.4	4.8	4.4	5.2	3.7	4	3.5
35%	4.4	3.8	4	4	4	4	4	4.6	4.5	5.9	5.9	5.9	5.4	5.5	5.4
50%	6.3	6.3	6.1	4.8	4.6	4.9	6	6.1	6.6	7.7	7.5	7	7.2	6.8	7
65%	8.1	8	8	7.4	7.7	7.5	8	7.4	8	8.5	9	9.1	7.9	7.9	7.8

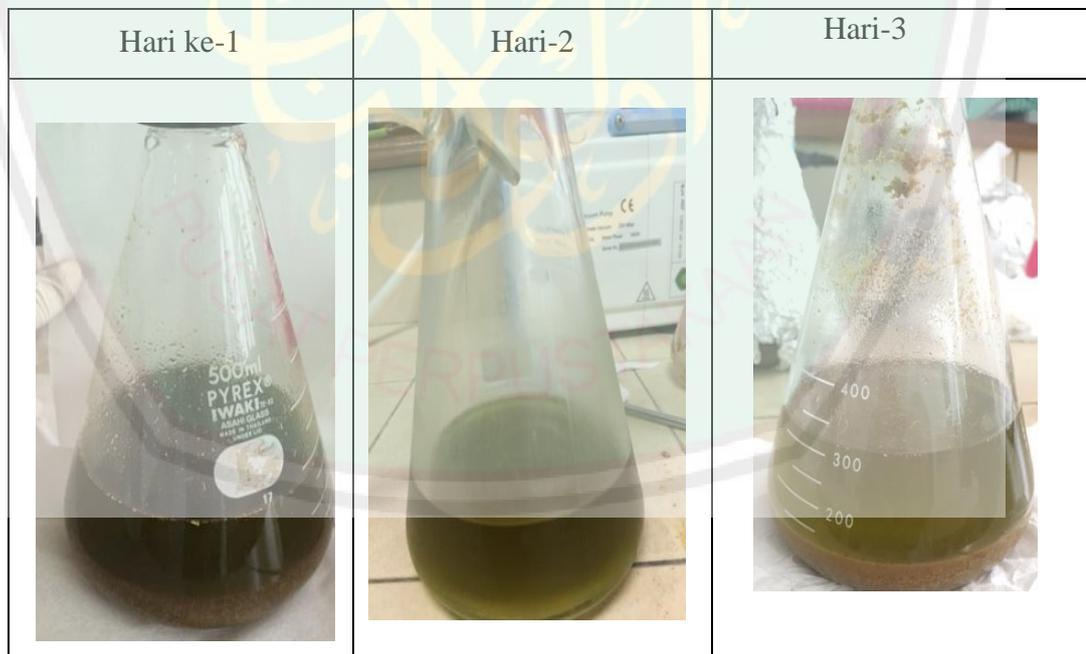
L.4.2 Hasil Zona Hambat Terhadap *Stihapylococuccus aureus*

Ekstrak Konsentrasi	Kunyit			Pare			Pare:Kunyit (1:1)			Pare:Kunyit (1:2)			Pare:Kunyit (2:1)		
	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃	U ₁	U ₂	U ₃
5%	-	-	-	-	-	-	2.3	2.1	2	3.5	3.4	3.2	2	2.1	2
25%	4.3	3.9	4	3	2.8	3.2	4.3	5.4	5.4	5	5	5.3	5	4.9	5.1
35%	5	5	5.1	5	5	5.3	6	5.9	6.1	6.1	6.2	6	6	6.5	5.5
50%	7	7	7.2	6	6.2	6.1	8	8.2	8.3	9	9.1	8.9	8.9	8.5	8.7
65%	9	9	9.3	7.8	8	8.4	10	10.1	10.4	12	12.4	12.3	11	10.4	10.6

Lampiran 5. Hasil maserasi
L.5.1 Kunyit



L.5.2 Pare

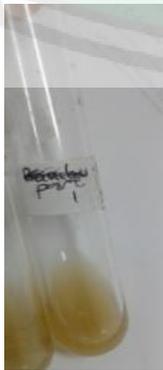


Lampiran 6 Hasil Uji Fitokimia

L.6.1 Alkaloid

a. Dragendrof

Sebelum penambahan reagen

Sebelum penambahan reagen			
A P;K (2:1) ; B p:K (1:2)	A (Pare) ; b (Kunyit)	p:K (1:1)	
	 a b		
Setelah penambahan Reagen Dragendrof			
A P;K (2:1) ; B P:K (1:2)	P:K (1:1)	Kunyit	Pare
			
Sesudah penambahan reagen mayer			
P:K (1:1)	a (Pare); b (Kunyit)	a. P:K (2:1) b. P:K (1:2)	
	 a b	 a b	

L.6.2 Flavonoid

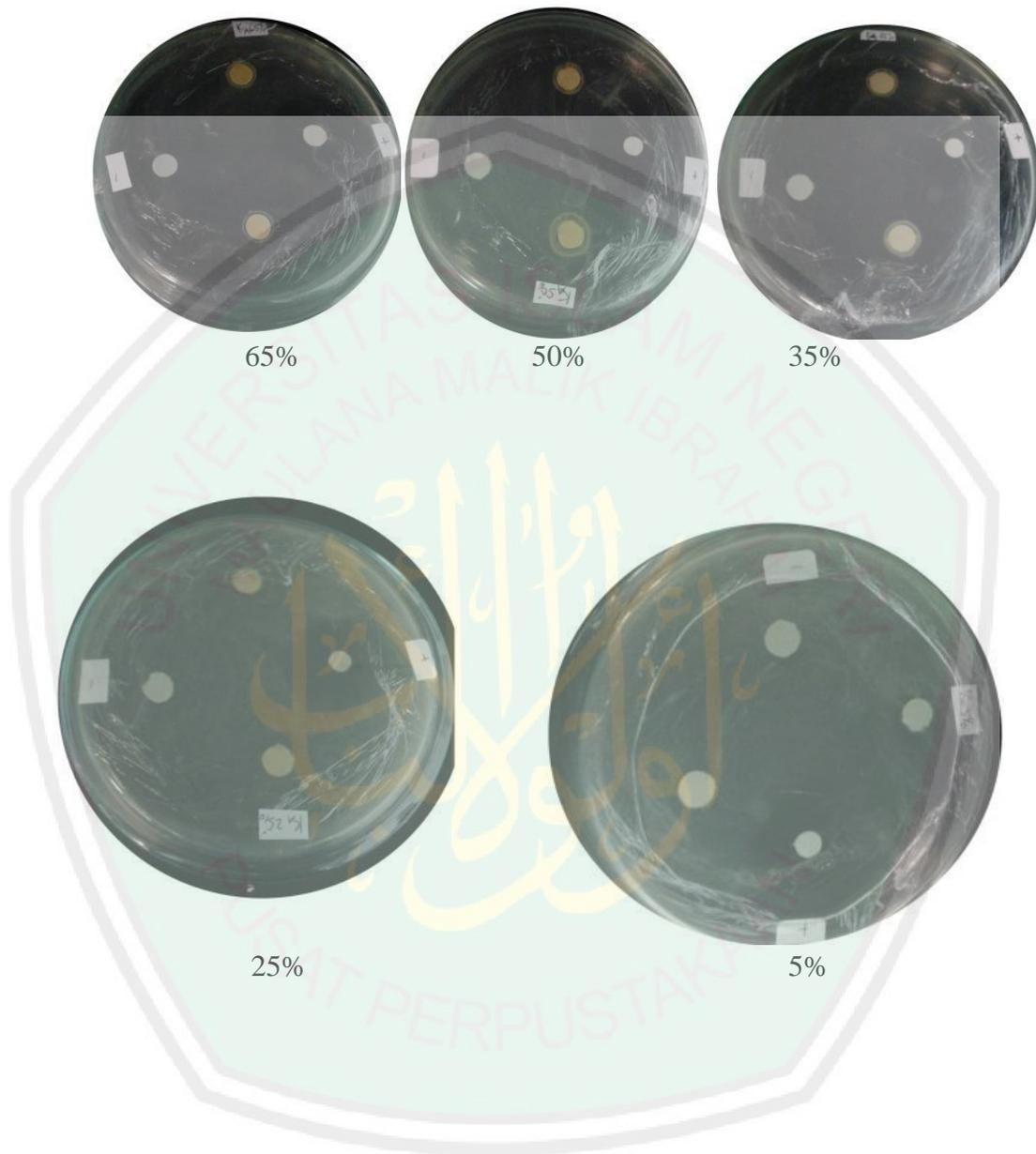
K : P (1:1)	K:P (2:1)	K:P (1:2)
		
Kunyit	Pare	
		

L.6.3 Saponin

K:P (1 : 1)	K: P (2:1)	K:P (1:2)
		
Pare	Kunyit	
		

L.6.4 Triterpenoid

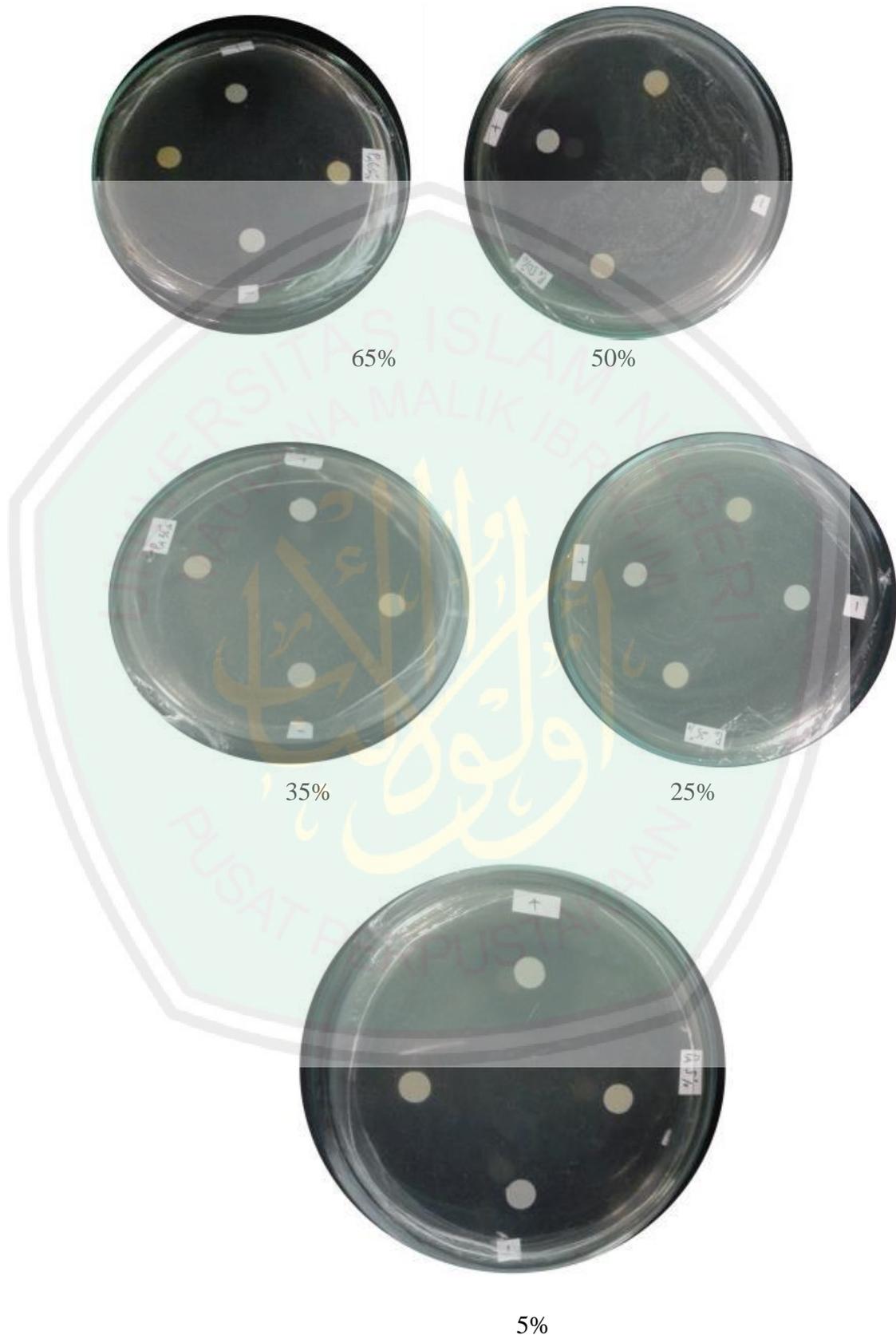
Kunyit	Pare	Pare:Kunyit (1:1)
		
Pare:Kunyit ((1:2)	Pare:Kunyit (2:1)	
		

Lampiran. 7 Uji Aktivitas Antibakteri**L.7.1 Uji antibakteri ekstrak kombinasi Kunyit terhadap *S. aureus***

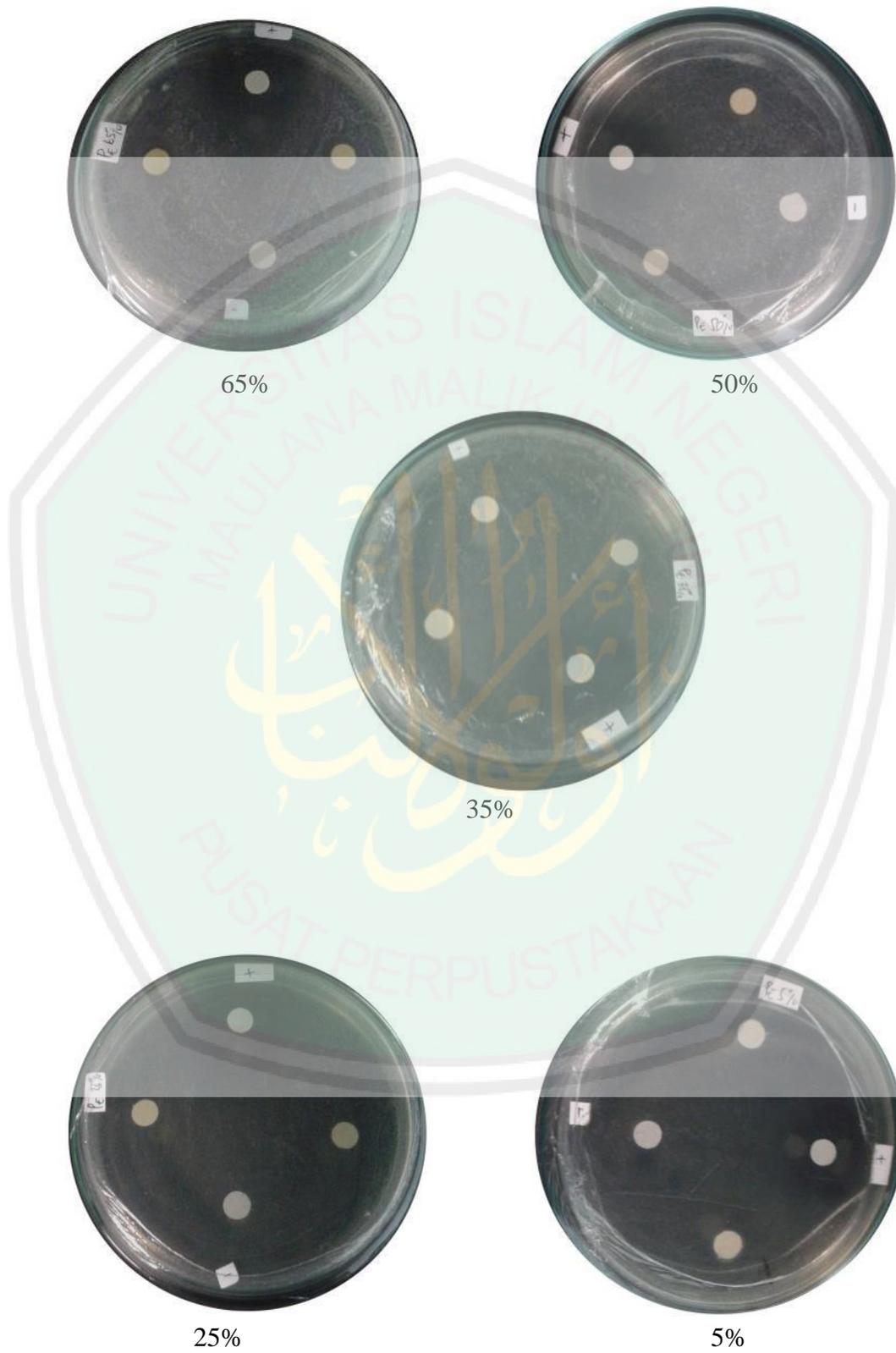
L.7.2 Uji antibakteri ekstrak kombinasi kunyit terhadap *E.coli*



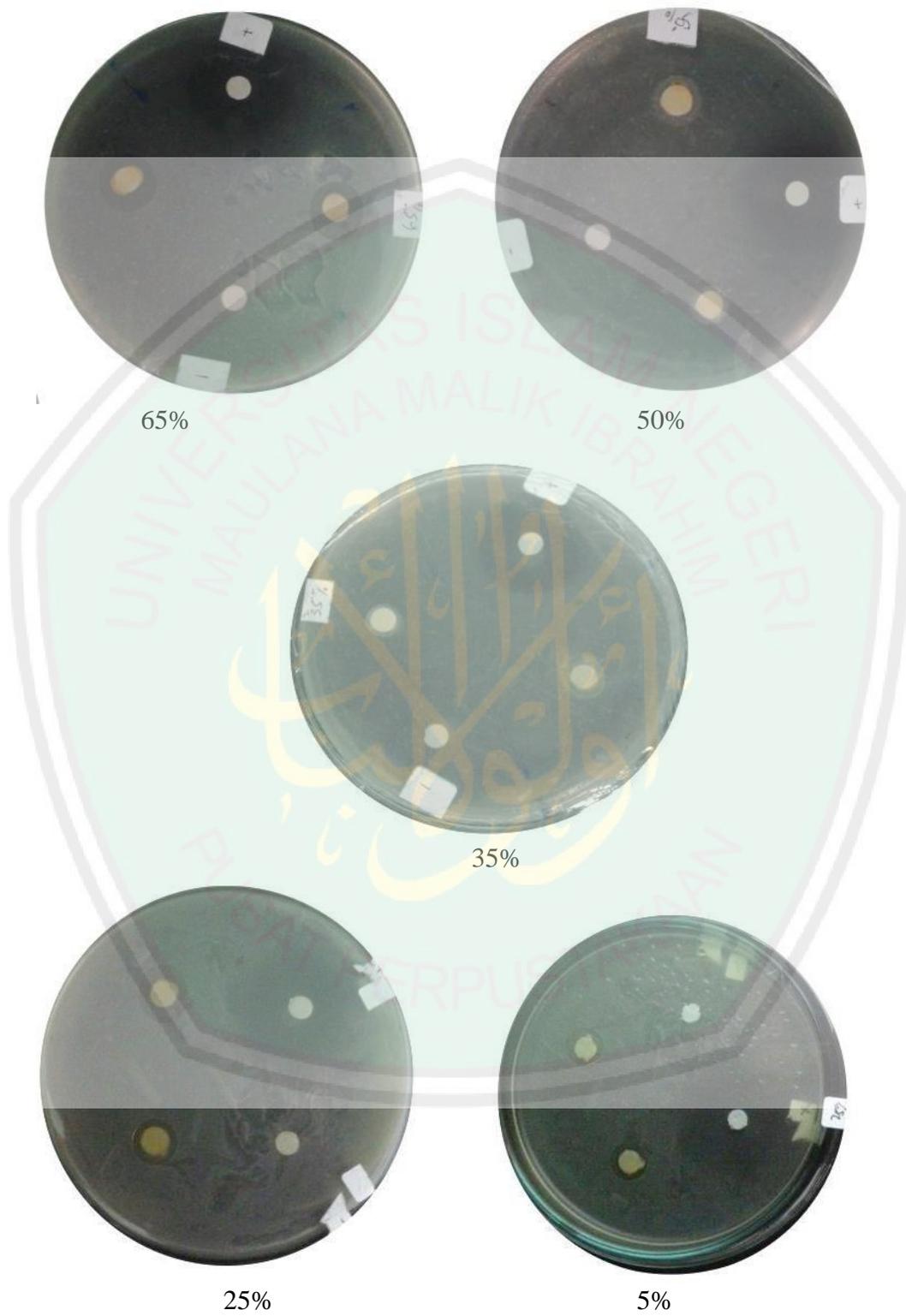
L.7.3 Uji antibakteri ekstrak kombinasi Pare terhadap *S. Aureus*



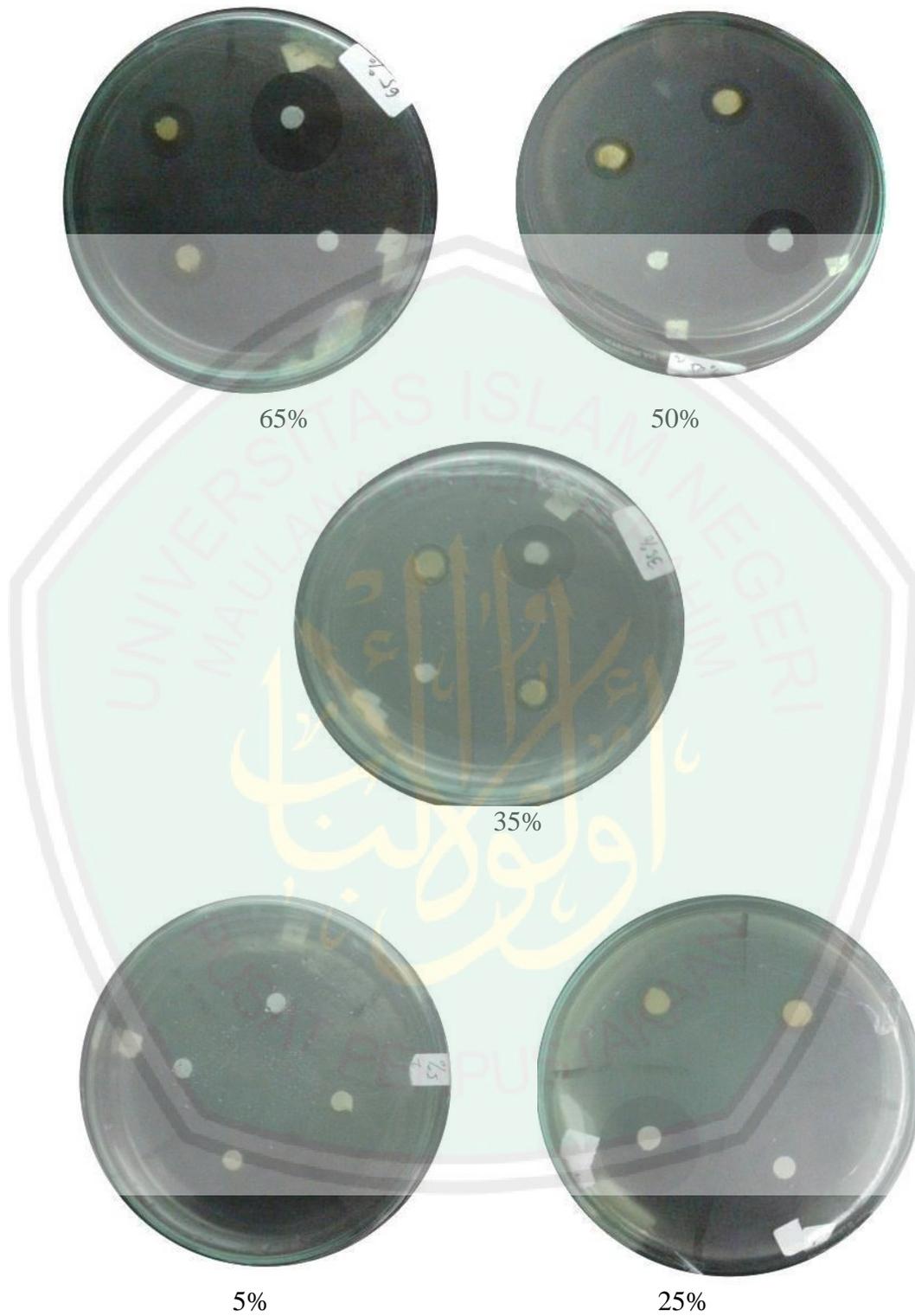
L.7.4 Uji antibakteri ekstrak kombinasi Pare terhadap *e. coli*



L.7.4 Uji antibakteri ekstrak kombinasi Pare : kunyit (1:2) terhadap *S. aureus*



L.7.5 Uji antibakteri ekstrak kombinasi Pare : kunyit (1:2) terhadap *e.coli*



Lampiran 8. Hasil Analisis SPSS Metode Two Way ANOVA
L.8.1 Hasil Two Way Anova E.coli

Uji Homogenitas Variasi

Dependent variabel Zona hambat

F	df1	df2	Sig.
4.935	24	50	.014

Uji Anova

Source	Type III SUM of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	472.831*	24	19.701	278.186	.000
Intercept	1724.162	1	1724.162	2.417E4	.000
Konsentrasi	385.003	4	96.251	1.349E3	.000
Ekstrak	63.965	4	15.991	224.175	.000
Konsentrasi*Ekstrak	23.863	16	1.491	20.908	.000
Error	3.567	50	.071		
Total	2200.560	75			
Cprrected Total	476.398	74			

Uji Post Hoc

Konsentrasi

Multiple Comparisons

zonahambat
Tukey HSD

(I) Kons entra si	(J) Kons entra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	25%	-1.9200'	.09752	.000	-2.1960	-1.6440
	35%	-3.3200'	.09752	.000	-3.5960	-3.0440
	50%	-4.8133'	.09752	.000	-5.0893	-4.5374
	65%	-6.5533'	.09752	.000	-6.8293	-6.2774
25%	5%	1.9200'	.09752	.000	1.6440	2.1960
	35%	-1.4000'	.09752	.000	-1.6760	-1.1240
	50%	-2.8933'	.09752	.000	-3.1693	-2.6174
	65%	-4.6333'	.09752	.000	-4.9093	-4.3574
35%	5%	3.3200'	.09752	.000	3.0440	3.5960
	25%	1.4000'	.09752	.000	1.1240	1.6760
	50%	-1.4933'	.09752	.000	-1.7693	-1.2174
	65%	-3.2333'	.09752	.000	-3.5093	-2.9574
50%	5%	4.8133'	.09752	.000	4.5374	5.0893
	25%	2.8933'	.09752	.000	2.6174	3.1693
	35%	1.4933'	.09752	.000	1.2174	1.7693
	65%	-1.7400'	.09752	.000	-2.0160	-1.4640
65%	5%	6.5533'	.09752	.000	6.2774	6.8293
	25%	4.6333'	.09752	.000	4.3574	4.9093
	35%	3.2333'	.09752	.000	2.9574	3.5093
	50%	1.7400'	.09752	.000	1.4640	2.0160

Homogeneous Subsets

zonahambat

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
5%	15	1.4733				
25%	15		3.3933			
35%	15			4.7933		
50%	15				6.2867	
65%	15					8.0267
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

ekstrak

Multiple Comparisons

zonahambat
Tukey HSD

(I) ekstrak	(J) ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kunyit	pare	.6733'	.09752	.000	.3974	.9493
	P:K=1:1	.0667	.09752	.959	-.2093	.3426
	P:K=1:2	-1.9200'	.09752	.000	-2.1960	-1.6440
	P:K=2:1	-1.0600'	.09752	.000	-1.3360	-.7840
pare	Kunyit	-.6733'	.09752	.000	-.9493	-.3974
	P:K=1:1	-.6067'	.09752	.000	-.8826	-.3307
	P:K=1:2	-2.5933'	.09752	.000	-2.8693	-2.3174
	P:K=2:1	-1.7333'	.09752	.000	-2.0093	-1.4574
P:K=1:1	Kunyit	-.0667	.09752	.959	-.3426	.2093
	pare	.6067'	.09752	.000	.3307	.8826
	P:K=1:2	-1.9867'	.09752	.000	-2.2626	-1.7107
	P:K=2:1	-1.1267'	.09752	.000	-1.4026	-.8507
P:K=1:2	Kunyit	1.9200'	.09752	.000	1.6440	2.1960
	pare	2.5933'	.09752	.000	2.3174	2.8693
	P:K=1:1	1.9867'	.09752	.000	1.7107	2.2626
	P:K=2:1	.8600'	.09752	.000	.5840	1.1360
P:K=2:1	Kunyit	1.0600'	.09752	.000	.7840	1.3360
	pare	1.7333'	.09752	.000	1.4574	2.0093
	P:K=1:1	1.1267'	.09752	.000	.8507	1.4026
	P:K=1:2	-.8600'	.09752	.000	-1.1360	-.5840

Homogeneous Subsets

zonahambat

Tukey HSD

ekstrak	N	Subset			
		1	2	3	4
pare	15	3.6733			
P:K=1:1	15		4.2800		
Kunyit	15		4.3467		
P:K=2:1	15			5.4067	
P:K=1:2	15				6.2667
Sig.		1.000	.959	1.000	1.000

L.8.2 Hasil Two Way Anova *S. aureus*

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: zonahambat

F	df1	df2	Sig.
4.935	24	50	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Konsentrasi + ekstrak + Konsentrasi * ekstrak

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: zonahambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	472.831 ^a	24	19.701	276.186	.000
Intercept	1724.162	1	1724.162	2.417E4	.000
Konsentrasi	385.003	4	96.251	1.349E3	.000
ekstrak	63.965	4	15.991	224.175	.000
Konsentrasi * ekstrak	23.863	16	1.491	20.908	.000
Error	3.567	50	.071		
Total	2200.560	75			
Corrected Total	476.398	74			

a. R Squared = ,993 (Adjusted R Squared = ,989)

Post Hoc Tests

Konsentrasi

Multiple Comparisons

zonahambat
Tukey HSD

(I) Konsentra si	(J) Konsentra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	25%	-1.9200'	.09752	.000	-2.1960	-1.6440
	35%	-3.3200'	.09752	.000	-3.5960	-3.0440
	50%	-4.8133'	.09752	.000	-5.0893	-4.5374
	65%	-6.5533'	.09752	.000	-6.8293	-6.2774
25%	5%	1.9200'	.09752	.000	1.6440	2.1960
	35%	-1.4000'	.09752	.000	-1.6760	-1.1240
	50%	-2.8933'	.09752	.000	-3.1693	-2.6174
	65%	-4.6333'	.09752	.000	-4.9093	-4.3574
35%	5%	3.3200'	.09752	.000	3.0440	3.5960
	25%	1.4000'	.09752	.000	1.1240	1.6760
	50%	-1.4933'	.09752	.000	-1.7693	-1.2174
	65%	-3.2333'	.09752	.000	-3.5093	-2.9574
50%	5%	4.8133'	.09752	.000	4.5374	5.0893
	25%	2.8933'	.09752	.000	2.6174	3.1693
	35%	1.4933'	.09752	.000	1.2174	1.7693
	65%	-1.7400'	.09752	.000	-2.0160	-1.4640
65%	5%	6.5533'	.09752	.000	6.2774	6.8293
	25%	4.6333'	.09752	.000	4.3574	4.9093
	35%	3.2333'	.09752	.000	2.9574	3.5093
	50%	1.7400'	.09752	.000	1.4640	2.0160

3. Konsentrasi * ekstrak

Dependent Variable: zonahambat

Konsentrasi	ekstrak	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
5%	Kunyit	4.44E-15	.154	-.310	.310
	pare	4.99E-15	.154	-.310	.310
	P:K=1:1	4.62E-15	.154	-.310	.310
	P:K=1:2	4.367	.154	4.057	4.676
	P:K=2:1	3.000	.154	2.690	3.310
25%	Kunyit	3.400	.154	3.090	3.710
	pare	2.033	.154	1.724	2.343
	P:K=1:1	3.000	.154	2.690	3.310
	P:K=1:2	4.800	.154	4.490	5.110
	P:K=2:1	3.733	.154	3.424	4.043
35%	Kunyit	4.067	.154	3.757	4.376
	pare	4.000	.154	3.690	4.310
	P:K=1:1	4.567	.154	4.257	4.876
	P:K=1:2	5.900	.154	5.590	6.210
	P:K=2:1	5.433	.154	5.124	5.743
50%	Kunyit	6.233	.154	5.924	6.543
	pare	4.767	.154	4.457	5.076
	P:K=1:1	6.033	.154	5.724	6.343
	P:K=1:2	7.400	.154	7.090	7.710
	P:K=2:1	7.000	.154	6.690	7.310
65%	Kunyit	8.033	.154	7.724	8.343
	pare	7.567	.154	7.257	7.876
	P:K=1:1	7.800	.154	7.490	8.110
	P:K=1:2	8.867	.154	8.557	9.176
	P:K=2:1	7.867	.154	7.557	8.176

Homogeneous Subsets

zonahambat

Tukey HSD

Konsentrasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
5%	15	1.4733				
25%	15		3.3933			
35%	15			4.7933		
50%	15				6.2867	
65%	15					8.0267
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,071.

Homogeneous Subsets

zonahambat

Tukey HSD

ekstrak	N	Subset			
		1	2	3	4
pare	15	4.4533			
Kunyit	15		5.0667		
P:K=1:1	15			6.3000	
P:K=2:1	15			6.4800	
P:K=1:2	15				7.1600
Sig.		1.000	1.000	.205	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,051.



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : Ugwuatan Hasanah
NIM : 13630089
Judul Skripsi : Uji Aktivitas antibakteri Kombinasi ekstrak Etanol 96% Kunyit dan Pare terhadap Bakteri E.Coli dan S.aureus
Pembimbing Utama : Alimul Jannah S.Si. M.Pi
Pembimbing Agama : Hafidatul Hasanah M.Si
Konsultan :

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
1-		Judul		
		Metode		
		BAB III		
		BAB I		
		BAB II		
		Data hasil zona hambatan		
		BAB IV (Ekstraksi + Uji fitokimia)		
		Uji Aktivitas Antibakteri		
		SPSS + BAB V		
		B Abstrak		
		Konsul Ayat & Hadist		
		Integrasi BAB I II		
		Integrasi BAB I II		
		Integrasi BAB IV		
		Integrasi BAB IV		
		Ace. Konjungsi		
		BAB III		
		BAB I		
		BAB II		
		BAB IV		

