

**UJI AKTIVITAS ANTI MIKROBA DAN TOKSISITAS  
EKSTRAK METANOL DAUN TUMBUHAN PATOK-PATOK  
*Argostemma subbrassum* L.**

**SKRIPSI  
OLEH**

**DESY EKA DAMAYANTI  
NIM. 02.870.0003**



**FAKULTAS BIOLOGI  
UNIVERSITAS MEDAN AREA  
MEDAN  
2006**

**UNIVERSITAS MEDAN AREA**

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 10/6/24

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

**UJI AKTIVITAS ANTI MIKROBA DAN TOKSISITAS  
EKSTRAK METANOL DAUN TUMBUHAN PATOK-PATOK  
*Argostemma subbrassum* L.**

**SKRIPSI**

**OLEH**

**NAMA : DESY EKA DAMAYANTI  
NIM : 02.870.0003**

Diajukan sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memenuhi Gelar Sarjana  
Biologi Pada Fakultas Biologi Universitas Medan Area

**DISETUJUI OLEH KOMISI PEMBIMBING**

**PEMBIMBING I**

**Dr. Dwi Suryanto, M.Sc**

**PEMBIMBING II**

**Drs. Tata Bintara Kelana, M.Si**



**Diketahui Oleh  
Dekan Fakultas Biologi**

**Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc**

**Tanggal Lulus : 23 Agustus 2006**

**UNIVERSITAS MEDAN AREA**

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 10/6/24

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah

3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area  
Access From (repository.uma.ac.id)10/6/24

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis panjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas Rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul ” Uji **Aktivitas dan Toksisitas Ekstrak Metanol Daun *Argostemma subbrassum L.***”

Penelitian ini merupakan syarat untuk melakukan penelitian yang rencananya akan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi MIPA USU, Medan.

Pada kesempatan ini penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis dalam penyelesaian usulan penelitian ini terutama:

1. Bapak Dr. Dwi Suryanto M.Sc selaku pembimbing I dan Bapak Drs. Tata Bintara Kelana, M.Si selaku pembimbing II dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak dan Ibu dosen beserta staf Fakultas Biologi Universitas Medan Area.
3. Kepada orang tua penulis yang telah banyak memberi bantuan moril dan materil, serta adik-adik penulis Ari, Dodi
4. Kepada teman-teman terbaik penulis Kak Ida, kak Nona, kak Yuni, pak rahman, Osni, mas Adi, Yuni.
5. Kepada semua pihak yang telah banyak membantu guna penyelesaian penelitian ini.

Dalam penulisan skripsi ini penulis menyadari masih banyak kekurangan, oleh sebab itu penulis mengharapkan sumbang saran dan kritik yang sifatnya membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Medan, April 2006

Penulis

Desy Eka Damayanti.



## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL DAN GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Identifikasi Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	2
1.5. Hipotesis.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional di Indonesia.....	4
2.2. Kandungan senyawa kimia tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat.....	5
2.3. Isolasi Senyawa.....	6
2.4. Metode Pengujian "Brine Shrimp".....	8
2.5. Morfologi Daun <i>Tumbuhan Argostema subcrassum</i> L.....	8
2.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
2.6.2 <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.6.3 <i>Candida albicans</i> .....	10
<b>BAB III BAHAN DAN METODA.....</b>	<b>12</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
3.2. Bahan dan Alat.....	12
3.3. Prosedur Penelitian.....	12
3.3.1. Pengambilan Sampel Tumbuhan.....	13
3.3.2. Uji Pendahuluan.....	13
3.3.2.1. Alkaloid.....	13
3.3.2.2. Fenolik.....	13
3.3.2.3. Flavonoid.....	14
3.3.2.4. Saponin.....	14
3.3.2.5. Kumarin.....	14
3.3.3. Pengeringan Sampel Tumbuhan.....	14
3.3.4. Maserasi.....	15
3.3.5. Ekstraksi Tumbuhan Obat.....	15
3.3.6. Penyiapan Mac Farland 0,5 Standar.....	16
3.3.7. Penyiapan Biakan Uji.....	16
3.3.8. Uji Efektivitas Antimikroba.....	16
3.3.9. Uji Toksisitas Brine Shrimp terhadap <i>Artemia salina</i> .....	17

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1.Uji Fotokimia Kandungan Senyawa Kimia Daun <i>Argotemma subcrassum L</i> .....	18
4.2.Uji Toksisitas “Brine Shrimp” terhadap <i>Artemia salina</i> .....	19
4.3.Uji Ekstrak Metanol Daun <i>Argotemma subcrassum L</i> terhadap Aktivitas Bakteri dan Jamur <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> dan Jamur <i>Candida albicans</i> .....	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	24
5.1. Kesimpulan .....	24
5.2. Saran .....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26



## DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

Tabel 1. Hasil Uji Fotokimia Ekstrak daun <i>Argotemma subcrassum</i> L .....	19
Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas “Brine Shrimp” terhadap <i>Artemia salina</i> ...	20
Gambar 1. Diameter Zona Hambat (mm) ekstrak <i>Argotemma subcrassum</i> L terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i> .....	22



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Gambar Tumbuhan *Argotemma subcrassum L*
- Lampiran 2. Aktifitas Ekstrak Metanol Daun *Argotemma subcrassum L* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E.coli*
- Lampiran 3. Aktifitas Ekstrak Metanol Daun *Argotemma subcrassum L* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *S.aureus*
- Lampiran 4. Skema isolasi ekstrak metanol dari tumbuhan *Argotemma subcrassum L*
- Lampiran 5. Skema Uji "Brine Shimp"





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Indonesia termasuk salah satu negara di Asia yang kaya tumbuhan-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan ini merupakan salah satu sumber bahan obat tradisional yang telah digunakan sejak dahulu kala secara turun temurun oleh masyarakat (Masfria, 1997). Sebagai Obat biasanya bagian tumbuhan dapat langsung digunakan dalam keadaan segar dalam bentuk ekstrak tumbuhan (Asmino, 1995).

Masyarakat yang tinggal di sekitar kawasan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser (TNGI). Sumatera Utara yang banyak didominasi oleh suku karo, telah mengenal dan sekaligus memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat. Tumbuhan tersebut antara lain *Argostemma subcrassum* L., (patok-patok) yang digunakan sebagai obat batuk (Mumpuni, 2004). Inventarisasi yang sistematis, survey etnobotani dan fitokimia dari tumbuhan sumatera sudah dimulai sejak dua dekade yang lalu. Hal ini disertai dengan studi kimia khususnya mengenai metabolit.

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat oleh masyarakat hanya berdasarkan pengalaman yang diteruskan secara turun temurun dan belum didasari atas pembuktian ilmiah baik efektifitas maupun keamanannya sehingga tidak memenuhi kriteria untuk dapat menerima dan digunakan dalam pelayanan kesehatan. Agar peranan tumbuhan khususnya tumbuhan yang berkhasiat obat dapat terus di

tingkatkan dan dipertanggungjawabkan secara medis, maka perlu digali lebih mendalam melalui penelitian terhadap mikroorganisme penyebab penyakit (Heming *et al.*, 1994). Salah satu dapat dilakukan dengan melihat pengaruh ekstrak tumbuhan yang berkhasiat obat dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur yang menyebabkan penyakit pada manusia.

## 1.2. Identifikasi Masalah

Apakah ekstrak metanol tumbuhan *Argostemma subcrassum* L, (Patok-patok) memiliki daya antimikroba dalam menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dan jamur *Candida albicans* penyebab penyakit dan memiliki toksisitas tinggi.

## 1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antimikroba dan ekstrak metanol daun *Argostemma subcrassum* L, (Patok-patok) menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*). Serta mengetahui toksisitas ekstrak metanol daun *Argostemma subcrassum* L. (Patok-patok) melalui uji brine shrimps.

## 1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan sebagai bahan informasi bahwa ekstrak daun *Argostemma subcrassum* L, berkhasiat dalam menghambat pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) dan jamur (*Candida albicans*) serta toksisitasnya terhadap *Artemia salina*.

## 1.5. Hipotesis

Ekstrak daun *Argostemma subcrassum* L., menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*) dan memiliki toksisitas yang tinggi terhadap larva undang *Artemia salina*.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional di Indonesia**

Indonesia adalah negara yang sangat kaya flora dan fauna. Kekayaan alam Indonesia menjadi salah satu yang terbesar di dunia. Diantara kekayaan flora (tumbuh-tumbuhan) tersebut banyak diantaranya masuk- kategori tanaman obat. Tanaman ini sudah dimanfaatkan sejak berabad-abad lalu (Suprpto, 2005). Sebanyak 30.000 jenis tumbuhan yang ada di Indonesia, hanya sebanyak 400 jenis tumbuhan telah dimanfaatkan masyarakat (Mursito, 2002 dalam Wahyuni 2005).

Masyarakat umumnya menggunakan tumbuhan sebagai obat secara langsung mengambil dalam keadaan segar atau dikeringkan (Siswanto, 2004). Penggunaan tumbuhan dalam keadaan segar harus sesegera mungkin. Hal tersebut bertujuan agar tumbuhan tetap dalam kondisi baik dan belum ditumbuhi oleh mikroba. Proses pengeringan dilakukan jika akan digunakan dalam jangka waktu yang lama (Mursito, 2002 dalam Wahyuni. 2005).

Ramuan obat tradisional adalah media pengobatan ilmiah dengan memakai tumbuhan sebagai bahan dasar. Ilmu pengobatan ini tetap mengikuti kepada tradisi kuno. Itulah sebabnya obat-obatan atau ramuan dari tumbuhan dan tanaman disebut sebagai "obat tradisional" disebut obat karena ramuan tradisional tersebut dari jenis tumbuhan atau tanaman dan diyakini dapat menyembuhkan atau mengobati suatu penyakit (Dianaxati. *et. al.*, 2001). Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat disebabkan adanya kandungan zat-zat khusus pada bagian dari

tumbuhan tersebut seperti alkaloida, flavonoida, Terpenoida dan lain sebagainya yang memberi pengaruh fisiologi tertentu terhadap tubuh manusia (Polunin, 1990)

## **2.2. Kandungan Senyawa Kimia Tumbuhan Yang Bermanfaat. Sebagai Obat**

Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan merupakan hasil dari proses biosintesis yang dilakukan tumbuhan tersebut dan memiliki banyak kegunaan antara lain sebagai obat (Mursito, 2002 dalam Wahyuni 2005). Kandungan kimia terbesar yang bisa dilihat pada tanaman berupa senyawa organik seperti alkaloida, steroid, asam lemak dan asam amino lainnya. Beberapa tanaman juga mengakumulasi elemen anorganik yang kebanyakan diambil dari dalam tanah dan ini juga kemungkinan mempunyai pengaruh terhadap hewan ataupun manusia (Zuhud & Haryanto. 1994).

Alkaloida merupakan senyawa nitrogen hasil metabolit sekunder tumbuh-tumbuhan yang bersifat racun, biasanya terdapat dalam bentuk garam. Senyawa ini banyak memberikan manfaat terhadap aktivitas fisiologi manusia sehingga digunakan sebagai obat-obatan (Chairul, 2003). Alkaloida juga merupakan kelompok hidrosiklik kimia yang mengandung hidrogen Simpson & Molly, (1995) dalam Nani (2005). Pada umumnya alkaloid terdapat pada sebagian besar tumbuhan berbunga, antara lain dari famili Liliaceae, Solanaceae (Sastroamidjojo, 1996 dalam Wahyuni, 2005).

Steroida merupakan kelompok terbesar dari turunan senyawa kimia yang ada pada tumbuhan obat. Steroida adalah senyawa kimia yang, kompleks dan inenipunyai empat cincin karbon yang biasa disebut dengan *.Steroid back bone* (Simpson & Molly, 1995 dalam Nani. 2005). Klasifikasi steroid berdasarkan

aktivitas fisiologisnya dapat dikelompokkan menjadi sterol, asam-asam empedu dan hormon seks (Manitto, 1981 *dalam* Kelana- 2003).

Terpenoida kebanyakan terdapat bebas dalam jaringan tumbuhan dan tidak terikat dengan senyawa-senyawa lain. Senyawa ini berada dalam tumbuhan dan dapat terikat dengan protein (Sastrohamidjojo, 11996). Umumnya senyawa terpenoida berbau harum, contohnya seperti pada tumbuhan konifer, eukaliptus, dan buah jeruk. Selain itu terpenoida mudah diisolasi dengan cara destilasi dari daun, batang dan bunga dan kemudian dikenal dengan nama minyak essensial atau disebut juga minyak atsiri (Sastrohamidjojo, 1996 *dalam* Wahyuni 2005).

### 2.3. Isolasi Senyawa

Ekstraksi merupakan suatu metode yang sering digunakan untuk memisahkan komponen atau senyawa tumbuhan yang tidak diketahui yang selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi kandungannya (Lutomy & Rahmayati, 2000 *dalam* Wahyuni, 2005). Pekerjaan ekstraksi ini harus memperhatikan sifat-sifat fisik dan kimia dari senyawa aktif tumbuhan yang akan diekstraksi agar pemisahan yang dilakukan lebih sempurna (Mursit, 2003). Metode ini juga sangat cocok untuk mengambil bahan yang kurang stabil dan dapat rusak oleh panas uap air. Untuk skala besar dan komersial, metode ini juga dapat diterapkan dan bahan pelarutnya tidak terbuang percuma karena dapat digunakan berulang kali. Jenis-jenis bahan pelarut yang banyak dipakai antara lain aseton, eter, butana dan alkohol (Lutomy & Rahmayati, 2000 *dalam* Nani, 2005).

Ekstraksi dengan corong pisah dilakukan untuk mengekstraksi senyawa organik yang terlarut dalam suatu pelarut dengan pelarut lain- Antara kedua

pelarut tersebut tidak saling melarutkan, sehingga akan terbentuk dua lapisan. Senyawa organik yang diinginkan akan tertarik kepada yang pelarut yang ditambahkan. Dalam proses pengekstraksian jumlah volume yang sama dari suatu pelarut lebih baik dilakukan berulang kali daripada satu kali saja. Dengan pengulangan didapat hasil yang sempurna (Kelana, 2004).

Maserasi merupakan teknik pengekstraksian yang paling klasik. Contoh yang dihaluskan direndam dalam pelarut organik selama beberapa waktu, kemudian disaring dan hasilnya dapat berupa filtrate. Proses maserasi dilakukan tanpa pemasangan atau dengan pemasangan (Kelana, 2004).

Menurut Ghuenther (1987) dalam Wahyuni (2005), dalam proses ekstraksi senyawa kimia tumbuhan, umumnya ada beberapa faktor yang menentukan pelarut agar dapat digunakan. antara lain:

1. Dapat melarutkan semua zat yang terkandung pada tumbuhan dengan, cepat dan sempurna dan sedikit mungkin melarutkan bahan seperti: lilin, pigmen, atau dengan perkataan lain pelarut harus bersifat selektif.
2. Mempunyai titik didih yang cukup rendah, agar petarut mudah diuapkan tanpa menggunakan, suhu tinggi, namun titik didih pelarut tidak boleh terlalu rendah karena, hal ini akan mengakibatkan hilangnya sebagian pelarut akibat penguapan air panas.
3. Pelarut harus bersifat selektif sehingga, tidak beraksi dengan komponen tumbuhan yang akan diekstraksi tersebut.
4. Pelarut harus mempunyai titik didih yang seragam, dan jika diuapkan tidak akan tertinggal ditumbuhan yang diekstraksi tersebut.

5. Harga pelarut harus serendah mungkin.

## 2.4. Metode Pengujian "Brine Shirimp"

Pengujian pendahuluan mengenai aktivitas biologi dapat dilakukan dengan metode "Brine Shirimp". Pengujian ini merupakan uji pendahuluan yang biasa dilakukan untuk menguji zat anti kanker. (Collagate & Molyreux), 1993).

## 2.5. Morfologi Daun Tumbuhan *Argostemma Subcrassum*

*Argostemma subcrassum* L memiliki nama daerah patok-patok merupakan tumbuhan herba, memiliki ciri-ciri: daun tersusun berhadapan, dengan bagian atas lebih besar daripada bagian bawah, bangun daun meruncing, tepi daun bergerigi/seratus, permukaan bawah daun berambut talus, memiliki stipula., bunga infloresens (Mumpuni, 2004).

Tumbuhan *Argostemma subcrassum* L. dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Rubiales  
Family : Rubiaceae  
Genus : *Argostemma*  
Spesies : *subcrassum*L.

## 2.6. Karakteristik Bakteri dan Jamur

### 2.6.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 1  $\mu$ m. Bakteri ini merupakan agen penyebab infeksi pada manusia.



Bakteri patogen ini sering terdapat pada kulit atau membran mukosa manusia, bersifat oportunistik, yang selalu berbentuk- kumpulan anggur, dan karakteristik ini yang mendasari nama bakteri ini (staphyle) (Jensen & Donald,1985).

*Staphylococcus* bersifat anaerob, meskipun dapat tumbuh dengan baik pada kondisi aerob. Suhu optimumnya pertumbuhan adalah 35-37<sup>0</sup>C. *Staphylococcus* umumnya resisten terhadap pemanasan atau desinfektan dibandingkan bentuk vegetatif kebanyakan bakteri patogen (Freeman, 1979).

Meskipun *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi semua jaringan tubuh, umumnya mereka menginfeksi permukaan jaringan. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab timbulnya bisul, karbunkulus, dan infeksi pada pembedahan.

Secara karakteristik infeksi ini berbentuk abses, terdapat luka dengan rongga atau lubang dari jaringan yang rusak yang berisi nanah infeksi yang lebih serius dapat berupa infeksi saluran urin. Selain itu bakteri merupakan penyebab utama infeksi nosokomial di rumah sakit (Jensen & Donald, 1985)

#### 2.6.2. *Escherkhia coli*

*Escherkhia coli* Merupakan kelompok terbesar jumlahnya dalam famili Enterobactericeae. Bakteri ini berbentuk batang, gram negatif, aerobik dan fakultatif anaerobik yang memfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C. Bakteri ini kebanyakan hidup pada saluran usus manusia dan hewan (Pelczhu & Chan, 1988).

*Escherichia coli* adalah anggota flora usus normal dan sebagian lagi kadang-kadang dapat ditemukan dalam jumlah kecil sebagai bagian dari flora normal saluran pernapasan bagian atas saluran genital. Selain itu, *Escherichia coli*

juga merupakan penyebab penyakit yang paling lazim dari infeksi saluran kemih yang banyak menginfeksi pada 90% wanita muda. Adapun gejala dan tanda-tanda dari infeksi akibat bakteri ini antara lain sering kencing, serta nyeri pinggang pada infeksi saluran kemih bagian atas (Jawetz, *et al.*, 1996)

### 2.6.3. *Candida albicans*

*Candida albicans* tergolong ragi, berbentuk lonjong, bertunas menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan maupun jaringan dan eksudat. *C. albicans* tergolong flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, saluran pencernaan dan genitalia wanita, di tempat-tempat ini *C. albicans* dapat menjadi dominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologi. Kadang-kadang *C. albicans* dapat menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau sistem imun tertekan. Selain itu *C. albicans* juga dapat menimbulkan infeksi pada mata dan organ-organ lain bila dimasukkan secara intervena, endokarditis, dsb. (Jawetz, *et al.*, 1996). Bila *C. albicans* dibiakan pada Malt agar., membentuk koloni kekuningan dan licin (Lay, 1994).

## BAB III BAHAN DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA USU. Dari bulan Agustus 2005 sampai bulan Februari 2006. Sampel yang digunakan yaitu daun *Argostemma subcrassum* L. yang dikoleksi dari Hutan Taman Nasional Gunung Leuser (TNGL) Tangkahan Kabupaten Langkat Sumatera Utara.

### 3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang diperlukan adalah daun tumbuhan *Argostemma subcrassum* L, metanol, herksan, etil asetat, asam sulfat, air suling, pereaksi Mayer, asetat anhidrida, asam klorida, NaOH, logam magnesium, besi (III) klorida, iodium, DMSO (dimetil Sulfoksida), pereaksi Dragendorff, plat kromatografi lapis tipis kiesel GF<sub>254</sub>, media MHA (Muellerb Hinton Agar) dan media PADA (Potato Dextrosa Agar). natrium klorida 0,9%, kertas cakram, biakan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, air laut dan *Artemia salina*.

Peralatan yang digunakan berupa: alat-alat gelas, pipet mikro, alat destilasi, alat rotary evaporator, oven, lampu UV GL-54, timbangan analitik, kertas saring, bejana kromatografi lapis tipis, petridisk, autoklaf, inkubator, lampu spiritus, jarum ose, kapas, dan hot plate, vorteks, pinset, jangka sorong, lemari aseptik, bejana penetasan, acurator, dan lampu hijau.

### 3.3. Prosedur penelitian

#### 3.3.1. Pengambilan Sampel Tumbuhan

Sampel tumbuhan berupa daun yang digunakan untuk penelitian ini berasal dari spesies *subcrassum* L yang dikoleksi dari Hutan Taman Nasional Gunung Lauser (TNGL) Tangkahan Kabupaten Langkat Sumatera Utara. Sampel daun segar kemudian dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Sebelum daun diproses terlebih dahulu dilakukan perendaman agar sampel daun tetap segar.

#### 3.3.2. Uji Pendahuluan

Pemeriksaan metabolik sekunder dilakukan untuk menguji keberadaan alkaloida, flavonoida, steroida, kumarin, saponin, dan senyawa fenolik.

##### 3.3.2.1. Alkaloida

Keberadaan alkaloida dalam daun dideteksi dengan pereaksi Mayer. Sekitar 4/g contoh tumbuhan dipotong-potong dan dihaluskan dengan sedikit pasir dan 4 ml kloroform. Hasil gerusan ditambahkan kloroform-amoniak 0,05 N ( $\pm$  5 ml) sambil digerus beberapa saat. Ekstrak kloroform-amoniak disaring dengan kapas dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan asam sulfat 2 N (10-20 tetes). Tabung dikocok perlahan dengan cara membalik tabung reaksi dan dibiarkan sejenak. Lapisan asam dipipet ke dalam dua tabung reaksi dan di uji dengan pereaksi Mayer. Senyawa alkaloida dapat dilihat dengan terbentuk endapan (Culvenor & Fitzgerald, 1963).

### 3.3.2.2. Fenolik

Pemeriksaan adanya senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan besi (III) klorida. Warna biru atau biru Unggu Mengindikasikan adanya senyawa ini (Harbone, 1987).

### 3.3.2.3. Flavonoida

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara mendidihkan potongan daun segar dengan api. Air rebusan diambil selagi masih panas, kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan HCl sebanyak 0,5 volume air (],in beberapa butir serbuk magnesium. Munculnya warna orange sampai merah mengindikasikan adanya flavonoida (Harbone, 1987).

### 3-3.2.4. Saponin

Perneriksaan saponin dilakukan menggunakan air rebusan contoh dalam tabung reaksi yang dikocok kuat beberapa saat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa permanen kurang lebih 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan satu tetes asam klorida (Harbone, 1987).

### 3.3.2.5. Kumarin

Pemeriksaan kumarin memakai plat kromatografi tipis Noda contoh yang ditotolkan dan dielusl pelarut organik diamati fluorensensinya di bawah lainpu UV 365 nm. Noda diolesi larutan NaOH 10% dalam metanol, kemudian diamati kembali dengan lampu UV 365 nm. Adanya kumarin ditandai fluorensi biru terang (Kelana, 2004).

### 3.3.2.6. Steroida

Pemeriksaan steroida dilakukan dengan pereaksi Lieberman Buchard dengan cara menambahkan anhidrida asetat kurang lebih 3 tetes kedalam salah satu plat tetes dan lubang yang lain ditambahkan asam sulfat pekat 2 tetes sebagai pembanding Pada bagian yang ditambahkan asam asetat anhidrida diaduk perlahan beberapa saat sampai kering kemudian ditambahkan asam sulfat dan amati pewarnaan yang timbul. Pewarnaan merah atau merah ungu memberikan indikasi positif triterpenoid sementara pewarnaan hijau atau hijau biru memberikan indikasi positif steroid. Hasil pengujian terhadap sampel menunjukkan hasil negatif steroid (Harbone, 1987)

### 3-3.3. Pengeringan Sampel Tumbuhan

Sampel daun satu persatu dicuci bersih. Sampel daun yang telah dicuci bersih kemudian dipotong-potong kecil-kecil agar nantinya mudah untuk dikeringkan. Setelah sampel daun tadi siap dipotong-potong, dilakukan pengeringan dengan cara dikering anginkan pada suhu kamar selama 24 jam.

### 3.3.4. Maserasi

Sampel sebanyak 500 daun tumbuhan *Argostemma subcrassum* L, yang telah dikeringkan dihaluskan, ditimbang dan dimaserasi dalam 800 ml metanol selama 5 hari., kemudian dilakukan penyaringan, filtrat dipisahkan dan ampasnya direndam kembali dengan metanol yang baru, berulang selama 5 kali sampai warna filtrat bening.

### 3.3.5. Ekstraksi Tumbuhan Obat

Maserat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan rotavapor yang dibantu dengan alat vakum guna memisahkan pelarut (metanol) dengan zat yang terlarut (ekstrak) sampai diperoleh ekstrak kering. Masing-masing ekstrak kering dari sampel ditimbang untuk, nantinya dilarutkan dengan menggunakan dimetil sulfoksida (DMSO).

Pengujian antibakteri larutan ekstrak metanol daun *Argostemma subcrassum* L. dengan pelarut DMSO dibuat pengenceran dari tiap-tiap larutan sample masing-masing dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm.

### 3.3.6. Penyediaan Mac Farland 0,5 Standard

M Farland 0,5 standard yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang tersedia di laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas MIPA USU, Medan.

### 3.3.7. Penyiapan Biakan Uji

Biakan-biakan bakteri uji yang digunakan (*EScherIchia coli*, *Staphylococcus aureus*) dalam penelitian ini adalah biakan kultur yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas MIPA USU, Medan. Biakan jamur yang dipakal adalah *Candida albicans* yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU, Medan.

### 3.3.8. Uji Efektivitas Antimikroba

Ekstrak metanol daun *Argostemma subcrassum* L, (patok-patok) masing-masing dibuat konsentrasi sebanyak 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm, pelarut

yang digunakan adalah dimetil sulfoksida (DMSO) suspensi uji berumur satu hari yang ditanam pada media broth setelah proses pengenceran sampai diperoleh Jumlah sel  $10^8$ , diusapkan pada media padat dengan menggunakan kapas lidi steril secara merata pada permukaan media ke dalam. Petri lalu dibiarkan selama beberapa saat ( 15 menit). Sebanyak 5 buah cakram masing-masing ditetesi dengan ekstrak metanol daun *Argostemma subcrassum* L. sebanyak 10  $\mu$ l, kemudian Cakram yang telah berisi ekstrak tersebut diletakan pada suspensi sebaran biakan dengan menggunakan pinset steril sambil ditekan sedikit pada permukaan media usapan agar menempel dengan baik, Cawan diinkubasi pada suhu  $17^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Dilakukan dengan melihat adanya zona bening di sekitar cakram yang berisi ekstrak sampel tanaman. Keberadaan zona bening yang terlihat di sekitar ekstrak tanaman menunjukkan bahan tanaman tersebut berpotensi sebagai bahan antimikroba. Diameter zona hambatan yang terbentuk setelah ekstrak berdifusi dapat diukur dengan metode Kirby-Bauer of susceptibility testing dalam satuan rnm (Cappucino & Sherman. 1999).

### 3.3.9. Uji Toksisitas Brine Shrimp Terhadap *Artemia salina*

Kista *Anemia salina* ditempatkan/ditetaskan dalam bejana yang sudah diisi air laut. Bejana terbagi atas dua bagian yang saling berhubungan, dengan bagian terang dan bagian gelap. Bejana dilengkapi dengan alat aerasi. Kista dimasukkan ke dalam bagian yang gelap dan dibiarkan menetas. Setelah 48 Jam hewan uji siap untuk digunakan.

Larutan induk ekstrak daun untuk setiap uji dibuat dengan melarutkan 20 mg sampel dalam 2 ml metanol. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet.



Larutan induk sebanyak 500  $\mu$ l, sedangkan larutan uji 100 ppm dan 10 ppm dibuat dengan dengan memipet 50  $\mu$ l dan 5  $\mu$ l dari larutan induk. Masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam vial, vial larutan uji selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator sampai larutan uji kering. Masing-masing konsentrasi dibuat ulangan sebanyak 3 kali (3 vial) dan 1 vial untuk kontrol. Ke dalam setiap vial ditambahkan dimetil sulfoksida sebanyak 50  $\mu$ l dan ditambahkan air laut kurang lebih 2 ml. Sebanyak 10 ekor larva udang dimasukkan ke dalam vial dan volumenya dicukupkan sampai 5 ml dengan air laut. Kematian anak udang diamati setelah 24 jam. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program Flnney untuk menentukan L.C<sub>50</sub>.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun *Argotemma subcrassum* L dapat disimpulkan:

1. Senyawa kimia dalam ekstrak metanol daun *A. subcrassum* L mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun *Argotemma subcrassum* L semakin tinggi pula hambatan yang ditimbulkannya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli*.
3. Pada konsentrasi 10 ppm hambatan pertumbuhan yang ditimbulkan ekstrak metanol daun *Argotemma subcrassum* L lebih tinggi pada bakteri *S. aureus*, namun pada konsentrasi 100 ppm dan 1000 ppm hambatan pertumbuhan lebih tinggi pada bakteri *E.coli*.
4. Uji toksisitas ekstrak metanol daun *Argotemma subcrassum* L terhadap *Artemia salina* diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar 1564,8  $\mu\text{g/ml}$ , sehingga dinyatakan tidak aktif dalam menghambat pertumbuhan larva *Artemia salina* karena nilai  $LC_{50}$  berada di atas 1000  $\mu\text{g/ml}$ .
5. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun *Argotemma subcrassum* L melalui uji fotokimia adalah Steroida dan Saponin, sedangkan senyawa Fenolik, Flavonoid dan Alkaloid tidak ada.

## 5.2. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui interaksi antara senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *Argotemma subcrassum* L dengan senyawa pada jamur *C. albicans* sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Asmino, 1995. **Pengalaman Pribadi dengan pengobatan Alternatif.** Universitas Airlangga, Surabaya Hlm 4-5.
- Cappucino J G & S Natalia 1996 **Microbiologi : A. Laboratory Manual 4** Ed Addison-Wesley Publising Company Hlm 254-255.
- Chairul, 2003 **Identifikasi Secara Cepat Bahan Bioaktif Pada Tumbuhan di Lapangan,** Berita 131ologi 6: Hlm 621-622.
- Dianawati, A. Irawan, E.S. Miharja K, Gus yadi, L. Agus K. A.G.T.K ., U.T., Dipo, A.M., Luluk. N., Maman. Karno. P.S.. Dachlan, P., S., Udin, J. M., Ujang, Yana T., & Satro, Y., 2001 **Ramuan Tradisional** Cetakan Cetakan ke-dua. PT.Agro Media Pustaka Jakarta, buku 1-2
- Guether, E, 1987. **Minyak Atsiri,** Jilid 1. UI Press, Jakarta Hlm 244; 392-393.
- Harbone, J. B, 1987. **Metode Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan.** Edisi Kedua ITB Press, Bandung Hlm 5-7.
- Hembing, W K, D. Setiawan, S. Agustinus Y Thomas dan W Bambang 1994 **Tanaman Obat Berkhasiat di Indonesia.** Edisi Kedua, Jakarta. Hlm 11.
- Jewetz, E, M. Joseph dan A. Edward, 1995 **Mikrobiologi Kedokteran,** diterjemahkan oleh Edi N. Maulany. Penerbit Buku Kedokteran EfC, Jakarta. Hlm. 194 – 234.
- Jansen, M M & N.W. Donald, 1985.**Introduction to Medical Microbiology,** Prentice Hall. Englewood, New Jersey. Hlm 202 - 209.
- Kelana, T B. 2004. Uji Antimikroba Fraksi Etil Asetat Daun Ficus Delfideus Jack – Skripsi, Universitas Medan Area, Medan.
- Lutomy & Y. Rahmayanti, 2000. **Produksi danl Perdagangan: Minyak Atsiri** Penebaran Swadaya, Jakarta. Hlm 46-47.
- Manitto, P.,1981. **Biosintesis Produk Aiami.** Penerjemah Koenssoermardiyah, Cetakan Pertama Penerbit IKIP Semarang-Press, Semarang.
- Mumpuni, M. 2004 **Inventarisasi Tumbuhan Obat di kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat,** Skripsi jurusan F.MIPA Universitas Sumatera Utara., Medan.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 10/6/24

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber

2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah

3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area  
Access From (repository.uma.ac.id)10/6/24

- Mursito, B, 2002. **Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Jantung**, Penebaran Swadaya, Jakarta. Hlm 37, 95-96
- Masfira, 1997. **Efek Berbagai Sediaan Daun *Andong* Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae***. Media Farmasi Volume 5 USU, Medan. Hlm 187.
- Nani, N. 2005. **Pengujian Ekstrak Metanol Daun *Psychotria stipulacea*, Wall, *Randia longiflora lam*, dan *Sapindaceae* sp. Terhadap bakteri dan Jamur penyebab Penyakit** . Skripsi S-1 FMIPA USU Medan.
- Pelczhar. M J & F.C.S. Chan. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Jilid 2, Universitas Indonesia, Jakarta Hlm 873.
- Pullonin, N., 1990. Pengantar Geografi Tambahan Diterjemahkan oleh Bambang Tjitrosoepomo. UGM- Press. Yogyakarta
- Simpson. B.B., dan Molly C., 1995 Economic Botani palnt in our World. Jhon Willey & Sons . USA
- Suprpto, A. 2005 Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pengembangan Agribisnis. Departemen Pertanian R.I. Jakarta.
- Wahyuni, I 2005. Uji Ekstrak Metanol Daun Piper Sarmentosum Roxb. Ex Hunter dan Costus Speciosus (Koen) J E Smith dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri dan Jamur Patogen USU Medan.
- Zuhud, E A M & Haryanto, 1994. Pelestarian Pemanfaatan Keanekaragaman Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia, Kerjasama Jurusan Konservasi Sumber Daya Alam Hutan Fakultas Kehutanan IPB dan Lembaga Alam Tropika Indonesia (LATIN). Bogor.