

**UJI SKRINING FITOKIMIA DAN ANTIMIKROBA EKSTRAK
DAUN HANDEULEUM (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
MIKROBA PATOGEN**

SKRIPSI

**Oleh :
CHAIRUNISA UMMANAH
13.870.0001**



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2017**

**UJI SKRINING FITOKIMIA DAN ANTIMIKROBA EKSTRAK
DAUN HANDEULEUM (*Graptophyllum pictum* L. Griff.)
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
MIKROBA PATOGEN**

SKRIPSI

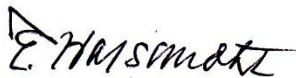
**Oleh :
CHAIRUNISA UMMANAH
13.870.0001**

Hasil Penelitian Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Sarjana Di Fakultas Biologi
Universitas Medan Area

**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2017**

Judul Skripsi : Uji Skrining Fitokimia Dan Antimikroba Ekstrak Daun
Handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) Dalam
Menghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen
Nama : Chairunisa Ummanah
NPM : 13.870.0001
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh :




Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc.
Pembimbing I



Rosliana Lubis, S.Si, M.Si.
Pembimbing II




Dr. Mifta Sudibyo, M.Si.
Dekan Fakultas Biologi UMA

SURAT PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam tulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah ditulis sumbernya secara jelas sesuai norma, kaidah dan etika penulis ilmiah. Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya apabila kemudian hari ditemukan plagiat dalam skripsi ini.



Medan,

Charunisa Ummanah
NIM : 13.870.0001

ABSTRAK

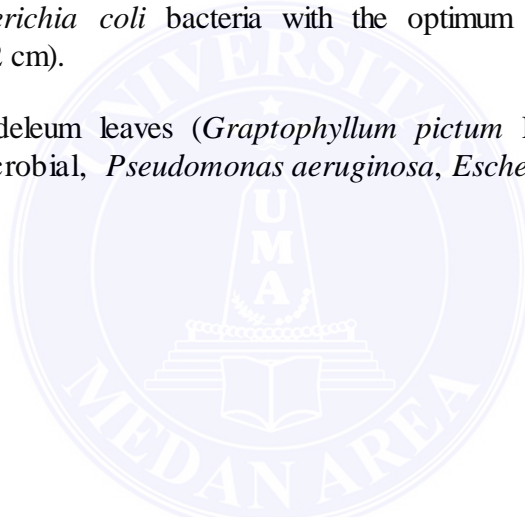
Telah dilakukan uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etil asetat dan n-heksan pada daun handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini, hasil menunjukkan etil asetat pada daun handeuleum mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tannin, dan saponin sedangkan n-heksan pada daun handeuleum mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin. Tahap selanjutnya dilanjutkan dengan melakukan uji antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*, serta menentukan konsentrasi optimum ekstrak daun handeuleum yang dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Ekstraksi daun handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) dilakukan dengan metode maserasi yang menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan. Analisis antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas oleh Kirby dan Bauer. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan C0, C1, C2, C3 dan C4 masing-masing dengan lima pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun handeuleum berpotensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi optimum berturut-turut adalah C3 (1,82 cm) dan C4 (2,06 cm) sedangkan bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi optimum berturut-turut adalah C3 (1,99 cm) dan C4 (2,12 cm).

Kata kunci : Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.), Skrining fitokimia, Antimikroba, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Phytochemical screening has been carried out to extract ethyl acetate and n-hexane in handeleum leaves (*Graptophyllum pictum* L. Griff.). This research aimed to determine secondary metabolites. Based on this research, the result showed ethyl acetate on handeleum leaves contained alkaloids, flavonoids, triterpenoids, tannins, and saponins, meanwhile n-hexane contained alkaloids, flavonoids, and saponins. The steps continued by doing anti-microbial toward *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, also determining optimum extract of hendeuleum leaves which inhibited the growth of both of bacteria. The extract of Hendeuleum leaves (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) was done by maceration method, that use solvent of ethyl acetate and n-hexane. The antimicrobial test has been done by using disc diffusion method by test Kirby and Bauer. This research used Completely Random Design (CRD) with treatment of C0, C1, C2, C3, and C4 that repeat five times in each treatment. The result showed that handeleum leaves extract had potency as antimicrobial toward *Pseudomonas aeruginosa* bacteria with the optimum concentration C3 (1,82 cm) and C4 (2,06 cm) meanwhile *Escherichia coli* bacteria with the optimum concentration C3 (1,99 cm) and C4 (2,12 cm).

Keywords: Hendeuleum leaves (*Graptophyllum pictum* L. Griff.), Phytochemical screening, antimicrobial, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.



RIWAYAT HIDUP

Chairunisa Ummanah, dilahirkan di Medan pada tanggal 12 Juni 1996 dan merupakan anak pertama dari empat bersaudara, anak dari Ayahanda Azwar Anas dan Ibunda Suriyah.

Pendidikan formal yang di tempuh hingga saat ini adalah:

1. Memasuki TK Swasta 'Aisyiyah Bustanul Athfal pada tahun 2000 dan lulus pada tahun 2001,
2. Memasuki Sekolah Dasar (SD) Swasta Al-Washliyah pada tahun 2001 dan lulus pada tahun 2007,
3. Memasuki Sekolah Menengah Pertama (SMP) Swasta Kemala Bhayangkari 1 Medan pada tahun 2007 dan lulus pada tahun 2010,
4. Memasuki Sekolah Menengah Kejuruan Farmasi (SMKF) Swasta Pharmaca Medan pada tahun 2010 dan lulus pada tahun 2013
5. Memasuki perguruan tinggi di Fakultas Biologi Universitas Medan Area pada tahun 2013,
6. Mengambil Konsentrasi Biologi Industri di Fakultas Biologi Universitas Medan Area pada tahun 2016,
7. Aktif di Pemerintahan Mahasiswa Fakultas Biologi Universitas Medan Area sebagai Administrasi dan Kesekretariatan periode 2015-2016,
8. Melaksanakan penelitian Uji Skrining Fitokimia Dan Antimikroba Ekstrak Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum L. Griff.*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen pada tahun 2017.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karuniaNya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian ini adalah Senyawa Metabolit Sekunder dengan judul Uji Skrining Fitokimia Dan Antimikroba Ekstrak Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Ir. E. Harso Kardhinata, M.Sc. selaku Ketua Komisi Pembimbing dan Roslana Lubis, S.Si, M.Si. selaku Anggota Komisi Pembimbing serta Denny Akbar Tanjung, S.Si, M.Si. selaku Sekretaris yang telah banyak memberikan saran. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada Ayah, Ibu, serta seluruh keluarga atas segala doa dan perhatiannya.

Semoga skripsi ini bermanfaat.

Medan, Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
SURAT PERNYATAAN	i
RIWAYAT HIDUP	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Tumbuhan obat	3
2.2. Skrining Fitokimia	6
2.3. Proses Ekstraksi	8
2.4. Aktivitas Antimikroba	11
2.5. Antibiotik	19
III. METODE PENELITIAN	23
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	23
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	23
3.3. Metoda Penelitian	23
3.4. Prosedur Penelitian	24
3.5. Analisis Data	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1. Hasil	29
4.2. Pembahasan	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1. Kesimpulan	38
5.2. Saran ..	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan <i>Handeuleum</i>	4
Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri	13
Gambar 3. Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Gambar 4. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	18
Gambar 5. Diameter Z.H. Ekstrak Terhadap Dua Mikroba	33



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Ciri-ciri dan Fase pertumbuhan bakteri	12
Tabel 2. Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun handeuleum	29
Tabel 3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Handeuleum	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Morfologi Bahan Penelitian	43
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	44
Lampiran 3. Hasil Rata-Rata Zona Hambat Pengaruh dari Konsentrasi Ekstrak Daun Handeuleum	48
Lampiran 4. Analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilanjut Uji <i>Duncan Multiple Range Test</i> (DMRT)	49
Lampiran 5. Skema Penelitian	50



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia adalah Negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah, terutama keanekaragaman tumbuhannya, di Indonesia terdapat berbagai jenis tumbuhan obat, lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat tersebar di seluruh wilayah negara ini dan baru sekitar 300 jenis yang sudah dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan secara tradisional. Bahan obat yang berasal dari tanaman merupakan sumber dari obat–obatan tradisional baru yang potensial. Penggunaan tanaman sebagai bahan obat tradisional memerlukan penelitian ilmiah untuk mengetahui kebenaran khasiatnya agar tidak diragukan dan dapat dipertanggungjawabkan. Hal ini akan lebih mendorong masyarakat untuk menggunakan tanaman atau tumbuhan sebagai bahan baku obat (Atikah, 2013).

Tumbuhan handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) merupakan tumbuhan yang di tanam kebanyakan hanya sebagai tanaman hias bahkan ada yang menganggap sebagai tanaman liar, jadi tanaman ini tumbuh tidak dimanfaatkan bahkan membuang tanaman ini.

Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol daun handeuleum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* yang menyebabkan penyakit diare dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* (Riza 2010; Sitompul 2011).

Berdasarkan uraian diatas yang menunjukkan pengaruh daun handeuleum sebagai antimikroba, karena daun handeuleum memiliki senyawa metabolit sekunder yang cukup kuat untuk dijadikan sebagai bahan obat. Maka pada

penelitian ini menggunakan senyawa pada ekstrak daun handeuleum untuk mengetahui efek antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dari *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

1.2.Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah Bagaimana mengekstrak sampel ekstrak daun handeuleum dengan menggunakan pelarut etilasetat dan n-heksan, dan analisa skrining fitokimia serta analisa uji aktivitas antimikroba dari sampel ekstrak daun handeuleum tersebut?

1.3.Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah melakukan mengekstrak sampel ekstrak daun handeuleum dengan menggunakan pelarut etilasetat dan n-heksan, dan analisa skrining fitokimia serta analisa uji aktivitas antimikroba dari sampel ekstrak daun handeuleum tersebut.

1.4.Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai sumber informasi ilmiah tentang pemanfaatan sampel ekstrak daun handeuleum sebagai bahan alami antimikroba.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Obat

Tumbuhan obat merupakan spesies tumbuhan yang diketahui mempunyai khasiat obat, yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu : (1) Tumbuhan obat tradisional, yaitu spesies tumbuhan yang diketahui atau dipercayai oleh masyarakat mempunyai khasiat obat dan telah digunakan sebagai bahan baku obat tradisional, (2) Tumbuhan obat modern, yaitu spesies tumbuhan yang secara ilmiah telah dibuktikan mengandung senyawa/bahan bioaktif yang berkhasiat obat dan penggunaannya dapat dipertanggung jawabkan secara medis, dan (3) Tumbuhan potensial, yaitu spesies tumbuhan yang mengandung senyawa/bahan bioaktif yang berkhasiat obat, tetapi belum dibuktikan secara ilmiah medis atau penggunaannya sebagai bahan obat tradisional sulit ditelusuri (Zuhud *et al.* 1994). Jenis-jenis tumbuhan yang berkhasiat obat, sebanyak 1.845 jenis yang tersebar diberbagai formasi hutan di Indonesia. Lebih kurang 30.000 sampai 40.000 jenis tumbuhan tersebar di Aceh sampai Papua, dari dataran rendah hinggadataran tinggi, dari daerah tropik hingga daerah sejuk, bahkan hingga tumbuhan dan kekayaan laut dapat dimanfaatkan sebagai obat (Wijayakusuma, 2000).

Tanaman obat adalah tanaman yang memiliki khasiat obat dan digunakan sebagai obat dalam penyembuhan maupun pencegahan penyakit. Pengertian berkhasiat obat adalah mengandung zat aktif yang berfungsi mengobati penyakit tertentu atau jika tidak mengandung zat aktif tertentu tapi mengandung efek resultan / sinergi dari berbagai zat yang berfungsi mengobati. Salah satu tumbuhan obat yang dimanfaatkan oleh masyarakat adalah Tumbuhan daun

handeuleum. Tumbuhan ini dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai obat antidiuretic, wasir, sembelit, penyembuh luka, pemasakan bisul, memar, pelancar haid (Dalimartha, 1999), antiinflamasi, dan antidiare (Sumarny, 1993).



Gambar 1. Tumbuhan Handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) (sumber Koleksi 20160906_073207 dan 20160906_073342)

Deskripsi Tumbuhan Handeuleum

Tanaman handeuleum (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) asalnya dari Irian dan Polynesia, dapat ditemukan dari dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.250 mdpl. Perdu atau pohon kecil, dengan tinggi 1,5-3 m, batang berkayu. Kulit dan daun berlendir dan baunya kurang enak. Cabang bersudut tumpul, berbentuk galah dan beruas rapat. Daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berhadapan bersilang, bulat telur sampai lanset, ujung dan pangkal runcing, tapi bergelombang, pertulangan menyirip, panjang 8-20 cm, lebar 3-13 cm, permukaan atas warnanya ungu mengilap.

Perbungaan majemuk, keluar diujung batang, tersusun dalam rangkaian berupa tandan yang panjangnya 3-12 cm, warnanya merah keunguan. Buahnya buah kotak, bentuknya lonjong, warnanya ungu kecoklatan. Biji kadang-kadang 2,

bentuknya bulat, warnanya putih. Tumbuhan handeuleum sering ditemukan tumbuh liar di pedesaan atau ditanam sebagai tanaman hias dan tanaman pagar. Tumbuh baik pada tempat-tempat terbuka yang terkena sinar matahari, dengan iklim kering atau lembab. Ada tiga varietas, yaitu berdaun ungu, berdaun hijau dan belang-belang putih. Yang digunakan sebagai obat adalah varietas berdaun ungu yang dinamakan *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. var *luridosanguineum* Sims. Tumbuhan ini berbunga sepanjang tahun, namun di Jawa jarang sekali menghasilkan buah. Perbanyak dengan stek batang (Dalimartha, 1999).

Kandungan Kimia Tumbuhan Handeuleum diantaranya alkaloid adalah bahan organik yang mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem heterosiklik. Sementara flavanoid berfungsi untuk memproduksi pigmen kuning, merah, dan biru pada tanaman dan melindungi dari serangga dan mikroba. Saponin yang merupakan surfaktan bersifat antifungi, antibakteri, dan menurunkan kolesterol darah. Tanin merupakan senyawa polifenol dan digunakan sebagai antidiare, homostatik, dan antiinflamasi. Selain itu tanin juga mengontrol masalah lambung serta wasir. Triterpenoid dan steroid saponin termasuk dalam kelompok metabolit sekunder yang toksik terhadap serangga, bakteri, dan cendawan. Daun tumbuhan ini mengandung alkaloida yang tidak beracun, glikosida, steroida, fenol, polifenol, tannin, saponin, klorofil dan lendir. Batang daun tumbuhan handeuleum mengandung kalsium, kalium, natrium, magnesium, oksalat, asam formik, minyak atsiri dan lemak (Dalimartha, 1999).

Manfaat Daun tumbuhan handeuleum berkhasiat sebagai peluruh kencing (diuretik), mempercepat pemasakan bisul, pelembut kulit (emoliens), antidiare

(Sumarny, 1993). Sedangkan bunganya berkhasiat sebagai pelancar haid (Dalimartha, 1999).

Menurut Hutapea, 1993 bahwa dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan handeuleum diklasifikasikan sebagai berikut;

Sinomin : *Graptophyllum hortense*. Nees., Kingdom : Plantae, Divisi : Spermatophyta, Kelas : Dicotyledonae, Ordo : Tubiflorae, Famili : Acanthaceae, Genus : *Graptophyllum*, Spesies : *Graptophyllum pictum* L. Griff., Nama umum : Wungu.

2.2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia atau penapisan kimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan. Metode yang digunakan dalam skrining fitokimia memiliki persyaratan yaitu metodenya sederhana dan cepat, peralatan yang digunakan sedikit mungkin, selektif dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa tertentu, dan dapat memberikan informasi tambahan mengenai keberadaan senyawa tertentu dalam kelompok senyawa yang diteliti.

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun dan ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan.

Misalnya kuinin, morfin dan stiknin. Alkaloida dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Alkaloida

umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Lenny, 2006).

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpana. Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi imunologi, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antijamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik dan efek hypokholestrol.

Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam misalnya terasa manis, adanya pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi dan dapat menyebabkan hemolisis. Dalam pemakaiannya saponin bisa dipakai untuk banyak keperluan, misalnya dipakai untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian, kosmetik, membuat obat-obatan dan dipakai sebagai obat tradisional (Rustaman *et al.*, 2000)

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik. Senyawa fenol dapat mengikat protein. Keberadaan flavonoid pada daun tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Secara biologis flavonoid memainkan peranan penting dalam kaitan penyerbukan tanaman oleh serangga. Sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit sehingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu (Redha, 2010).

Flavonoid merupakan pigmen tumbuhan dengan warna kuning, kuning jeruk dan merah dapat ditemukn pada buah, sayuran, kacang, biji, batang, bunga, herba, rempah-rempah serta produk pangan dan obat dari tumbuhan seperti minyak zaitun, teh, coklat, anggur merah dan obat herbal. Senyawa ini berperan

penting dalam menentukan warna, rasa, bau dan kualitas nutrisi makanan. Bagi tumbuhan, senyawa flavonoid berperan dalam pertahanan diri terhadap hama, interaksi dengan mikrobia, dormansi biji, pelindung terhadap radiasi sinar UV, molekul sinyal pada berbagai jalur transduksi, serta molekul sinyal pada polinasi dan fertilisasi jantan (Mulyaningsih, 2014).

Tanin tersebar luas dalam tumbuhan berpengbuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin memiliki sifat antara lain larut dalam air atau alkohol karena tanin banyak mengandung fenol yang memiliki gugus OH, dapat mengikat logam berat serta adanya zat yang bersifat antirayap dan jamur (Rustaman *ea al.*, 2000).

2.3. Proses Ekstraksi

Ekstrak adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Ekstraksi kandungan kimia pada tumbuhan dilakukan dengan tujuan menarik zat-zat kimia yang terdapat dalam simplisia yaitu bahan alami yang terdapat pada tumbuhan.

Ekstrak ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Tumbuhan pandan wangi mengandung beberapa zat aktif yang khasiatnya bergantung pada jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daunnya (Aisyah, 2015).

Menurut Mukhriani, 2014 bahwa pembuatan ekstrak khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan tahapannya adalah sebagai berikut :

- (1) Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, batang, bunga dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan,
- (2) Pemilihan pelarut, ini digunakan untuk memisahkan zat aktif. Pelarut yang dipilih secara selektif tergantung pada zat aktif yang diharapkan,
- (3) Pemisahan dan pemurnian, merupakan pemisahan zat aktif yang diharapkan sehingga didapatkan ekstrak murni,
- (4) Pengeringan ekstrak, ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan massa kering keruh,
- (5) Rendemen ialah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

Adapun jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut :

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana (Istiqomah, 2013).

Metode ini dilakukan dengan memasukan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi,

pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Namun disisi lain, metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan untuk mengekstraksi disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Ibtisam, 2008).

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

c. Soxhlet

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Istiqomah, 2013). Keuntungan dari ekstraksi ini adalah proses ekstraksinya yang kontinu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu.

Kerugian ekstraksi ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus - menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

d. Refluks dan Destilasi Uap

Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat ditampung dalam wadah yang terkandung dalam kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

2.4. Aktivitas Antimikroba

Metode pengujian antimikroba suatu zat, metode yang sering digunakan diantaranya metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan *disch* yang kedalamnya dimasukkan antimikroba dalam gelas tertentu dan ditempatkan dalam media padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri indikator setelah diinkubasi akan terjadi daerah jenuh disekitar sumuran atau *disch* dan diameter hambatan merupakan ukuran kekuatan hambatan dari substansi antimikroba terhadap bakteri yang digunakan.

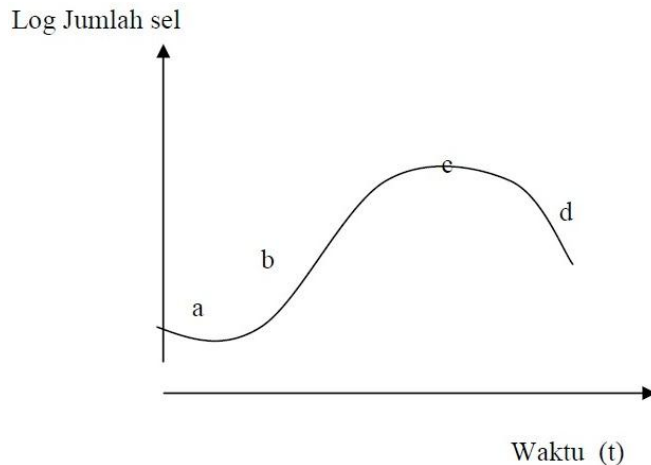
Lebarnya zona yang terbentuk, yang juga ditentukan oleh konsentrasi senyawa efektif yang digunakan merupakan dasar pengujian kuantitatif, hal ini mengidentifikasi bahan senyawa tersebut bias bebas berdifusi ke seluruh medium (Rochani, 2009).

Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase dalam pertumbuhan bakteri telah dikenal oleh ahli mikrobiologi. Ada empat (4) fase pertumbuhan bakteri ketika ditumbuhkan pada kultur yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*exponential phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*).

Tabel 1. Ciri-ciri dan Fase pertumbuhan bakteri (Sumber Brock & Madigan 1991)

Fase Pertumbuhan	Ciri-ciri
fase adaptasi (<i>lag phase</i>)	Setelah inokulasi, terjadi peningkatan ukuran sel, mulai pada waktu sel tidak atau sedikit mengalami pembelahan. Fase ini, ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Fase lag merupakan suatu periode penyesuaian yang sangat penting untuk penambahan metabolit pada kelompok sel, menuju tingkat yang setaraf dengan sintesis sel maksimum.
fase perbanyakan (<i>exponential phase</i>)	Pada fase eksponensial atau logaritmik, sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Selama fase ini, masa dan volume sel meningkat oleh faktor yang sama dalam arti rata-rata komposisi sel dan konsentrasi relatif metabolit tetap konstan. Selama periode ini pertumbuhan seimbang, kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami. Sel membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat intrinsik bakteri dan kondisi lingkungan. Terdapat keragaman kecepatan pertumbuhan berbagai mikroorganisme.
fase statis (<i>stationer phase</i>)	Pada saat digunakan kondisi biakan rutin, akumulasi produk limbah, kekurangan nutrisi, perubahan pH, dan faktor lain yang tidak diketahui akan mendesak dan mengganggu biakan, mengakibatkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Selama fase ini, jumlah sel yang hidup tetap konstan untuk periode yang berbeda, bergantung pada bakteri, tetapi akhirnya menuju periode penurunan populasi. Dalam beberapa kasus, sel yang terdapat dalam suatu biakan yang populasi selnya tidak tumbuh dapat memanjang, membengkak secara abnormal, atau mengalami penyimpangan, suatu manifestasi pertumbuhan yang tidak seimbang.
fase kematian (<i>death phase</i>)	Pada saat medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya, Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri: a.fase lag; b.fase eksponensial; c.fase stasioner dan d.fase kematian populasi (sumber Brock & Madigan, 1991)

Kegunaan dari pengujian antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat bermacam-macam metode pengujian antimikroba, antara lain : (Pratiwi, 2008)

1. Metode Difusi

Metode difusi terbagi menjadi lima, yaitu *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer), *ETest*, *ditch-plate technique*, *gradient-plate technique*, dan *cup-plate technique*. Metode yang umum digunakan ialah metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer). Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada medium agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada medium agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan medium agar.

2. Metode Dilusi

Metode dilusi terbagi menjadi dua yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat.

a. Metode dilusi cair, Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) dari bahan antibakteri uji terhadap bakteri uji. Caranya dengan mengencerkan bahan

antibakteri uji pada medium cair sampai diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan bakteri uji.

- b. Metode difusi padat, Metode ini sama dengan metode difusi cair, tetapi menggunakan media padat. Kelebihannya pada metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat untuk menguji beberapa bakteri lain.

Seorang ilmuwan dari perancis menyatakan bahwa metode difusi agar dari prosedur Kirby-Bauer, sering digunakan untuk mengetahui resistensi bakteri. Prinsip dari metode ini adalah penghambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme, yaitu zona hambatan akan terlihat sebagai daerah jernih di sekitar cakram kertas yang mengandung zat antibakteri. Diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambatan yang terbentuk bakteri tersebut semakin resistensi (Chambers, 2004).

Pada umumnya metode yang dipergunakan dalam uji resistensi bakteri adalah metode Difusi Agar yaitu dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh ekstrak yang diketahui dari daerah di sekitar kertas cakram (paper disk) yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Zona hambatan pertumbuhan inilah yang menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan anti bakteri (Ermilla, 2006).

Zona Hambat merupakan tempat dimana bakteri terhamabat pertumbuhannya akibat antibakteri atau antimikroba. Zona hambat adalah daerah untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar oleh antibiotik. Contohnya: tetracycline, erytromycin, dan streptomycin. Tetracycline

merupakan antibiotik yang memiliki spektrum yang luas sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara luas (Novillia, 2008).

Salah satu metode yang dipakai adalah metode difusi yang terdiri beberapa cara diantaranya yaitu :

1. Metode *disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar.
2. Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.
3. *Ditch-plate technique* Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

4. *Cup-Plate Technique* metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.
5. *Gradient-Plate Technique* Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoretis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dihitung di atasnya (Ermilla, 2006).

Mikroba Patogen

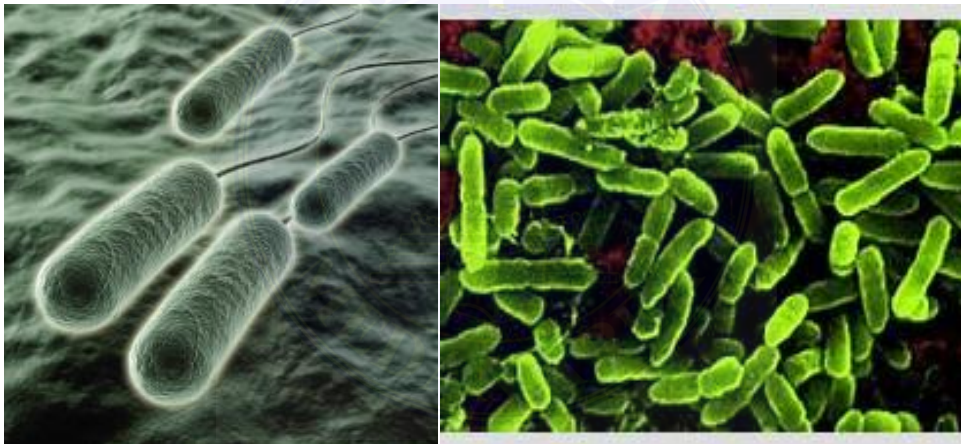
Mikroba merupakan suatu kelompok mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan menggunakan mata telanjang, sehingga diperlukan alat bantu untuk melihatnya seperti mikroskop, lup dan lain-lain. Patogenitas merupakan kemampuan organisme untuk menimbulkan penyakit (Pelczar and Chan, 1988). Jadi, mikroba patogen merupakan mikroba yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit pada manusia. Mikroba patogen pada manusia diantaranya adalah *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Bakteri dan mikroorganisme menyesuaikan diri dengan lingkungan, termasuk manusia dan binatang, dimana mikroorganisme secara normal bertempat tinggal dan hidup. Dalam bekerja, mikroorganisme meningkatkan kemampuan untuk bertahan dan meningkatkan kemungkinan penyebaran. Dengan menghasilkan infeksi asimtomatik atau penyakit ringan, dan tanpa menyebabkan kematian inang, mikroorganisme yang secara normal hidup dalam tubuh manusia kemungkinan menyebar dari satu orang ke orang lain (Jawetz *et al.*, 2001).

Diantara mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal. Oleh karena itu, *P.aeruginosa* disebut pathogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat juga tinggal pada manusia yang normal dan berlaku sebagai saprofit pada usus normal dan pada kulit manusia (Boel *et al.*, 2004).



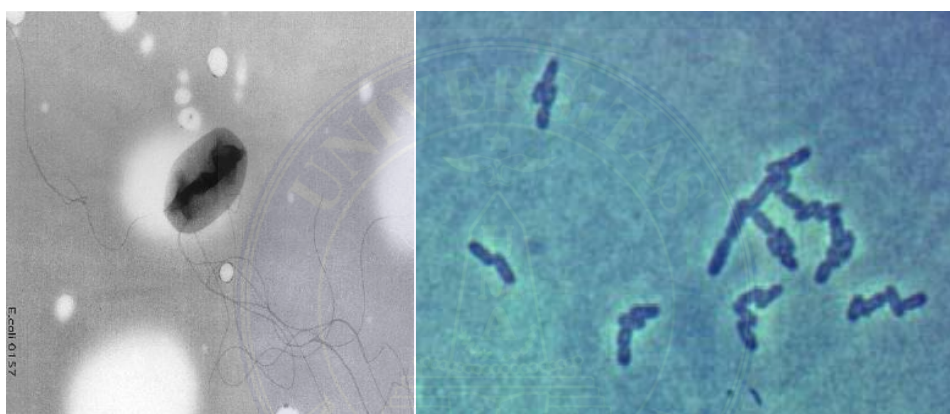
Gambar 3. Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* (sumber bioquell.com)

Menurut (Mayasari, 2006) bahwa berdasarkan taksonominya *P.aeruginosa* diklasifikasikan sebagai berikut; Kingdom : Bacteria, Phylum : Proteobacteria, Class : Gamma Proteobacteria, Order : Pseudomonadales, Family : Pseudomonadaceae, Genus : Pseudomonas, Species : *Pseudomonas aeruginosa*. Morfologi bakteri *P.aeruginosa* antara lain berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,6x2 μ m. Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai yang pendek. *P.aeruginosa* termasuk bakteri gram

negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (sheat) dan mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P.aeruginosa* adalah 42°C.

Escherichia coli

Escherichia coli merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, bertindak sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas diseluruh dunia.



Gambar 4. Morfologi *Escherichia coli* (sumber Todar 2008)

Menurut (Tenailon *et al.*, 2010) bahwa berdasarkan taksonominya *E.coli* diklasifikasikan sebagai berikut; Kingdom : Bacteria, Divisio : Proteobacteria, Kelas : Gamma Proteobacteria, Ordo : Enterobacteriales, Famili : Enterobacteriaceae, Genus : *Esherichia*, Spesies : *Esherichia coli*.

Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* yaitu *Escherichia coli* diisolasi pertama kali oleh Theodore Escherich pada tahun 1885 dari tinja seorang bayi (Merchant and Parker, 1961). *E.coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4-0,7 µm dan bersifat anaerob fakultatif. *E.coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Smith-Keary, 1988). Pada umumnya

bakteri memerlukan kelembaban yang cukup tinggi sekitar 85% (Madigan and Martinko, 2005).

Escherichia coli merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang suhu pertumbuhan optimumnya 15-45°C dan dapat hidup pada pH 5,5-8. *Escherichia coli* akan tumbuh secara optimal pada suhu 27°C. Menurut penelitian yang dilakukan *Escherichia coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45°C, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi. Bakteri *Escherichia coli* yang menyebabkan diare sangat sering ditemukan di seluruh dunia.

2.5. Antibiotik

Antibiotik atau dikenal juga sebagai obat anti bakteri merupakan obat yang digunakan untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Alexander Fleming pada tahun 1927 menemukan antibiotika yang pertama yaitu penisilin. Pada tahun 1940, antibiotika dapat dikatakan merubah dunia pengobatan serta mengurangi angka kesakitan & kematian yang disebabkan oleh penyakit infeksi secara dramatis (Ganiswarna, 1995).

Pengertian dari antibiotika pada awalnya merujuk pada senyawa yang dihasilkan oleh jamur atau mikroorganisme yang dapat membunuh bakteri penyebab penyakit pada hewan & manusia. Saat ini beberapa jenis antibiotika merupakan senyawa sintetis (tidak dihasilkan dari mikroorganisme) tetapi juga dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Secara teknis, zat yang dapat membunuh bakteri baik berupa senyawa sintetis atau alami disebut dengan zat antimikroba, akan tetapi banyak orang yang menyebutnya dengan antibiotika. Antibiotika mempunyai manfaat yang sangat banyak,

penggunaan antibiotika secara berlebihan juga dapat memicu terjadinya resistensi antibiotika (Wasitaningrum, 2009).

Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman-kuman sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Para peneliti diseluruh dunia memperoleh banyak zat lain dengan khasiat antibiotik namun berhubung dengan adanya sifat toksis bagi manusia, hanya sebagian kecil saja yang dapat digunakan sebagai obat diantaranya adalah streptomycin vial injeksi, Tetrasiklin kapsul, Kanamicin kapsul, Erytromicin kapsul, Colistin tablet, Cefadroxil tablet dan Rifampisin kapsul (Djide, 2003).

Kegiatan antibiotika untuk pertama kalinya ditemukan oleh sarjana Inggris dr. Alexander Flemming pada tahun 1928 (penisilin). Penemuan ini baru dikembangkan dan dipergunakan dalam terapi di tahun 1941 oleh dr. Florey (Oxford) yang kemudian banyak zat lain dengan khasiat antibiotik diisolir oleh penyelidik-penyelidik di seluruh dunia, akan tetapi berhubung dengan sifat toksisnya hanya beberapa saja yang dapat digunakan sebagai obat (Djide, 2003).

Antibiotik digunakan untuk membasmi mikroba penyebab terjadinya infeksi. Gejala infeksi terjadi akibat gangguan langsung oleh mikroba dan berbagai zat toksik yang dihasilkan mikroba. Pada dasarnya suatu infeksi dapat ditangani oleh sistem pertahanan tubuh, namun adakalanya sistem ini perlu ditunjang oleh penggunaan antibiotik. Antibiotik yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif (Ganiswarna, 1995).

Jenis-jenis Antibiotik

Menurut Misra (2012) antibiotik dapat digolongkan menjadi beberapa macam dan fungsi yang berbeda-beda, diantaranya :

1. Penisilin

Penisilin digunakan secara luas untuk mengobati infeksi tertentu seperti infeksi kulit, radang tenggorokan, infeksi dada dan infeksi saluran kemih. Beberapa jenis penisilin banyak digunakan meliputi: Antibiotik Amoxicillin dan Flukloksasilin. Sekitar 1 dari 15 orang akan mengalami reaksi alergi setelah menggunakan obat penisilin dan sejumlah kecil orang akan mengalami reaksi alergi antibiotik yang cukup parah (anafilaksis).

2. Antibiotik Sefalosporin

Obat Sefalosporin adalah anti biotik spektrum luas, yang berarti mereka efektif dalam mengobati berbagai jenis infeksi termasuk infeksi yang lebih serius, seperti: Septicemia - infeksi darah, Pneumonia, dan Meningitis - infeksi lapisan pelindung terluar dari otak dan sumsum tulang belakang. Contoh Sefalosporin meliputi: Obat Cefalexin dan Obat Cefixime.

3. Aminoglikosida

Aminoglikosida adalah jenis obat antibiotik yang digunakan secara luas diresepkan sampai ditemukan bahwa Aminoglikosida dapat menyebabkan kerusakan baik pendengaran maupun ginjal.

Karena itu, Aminoglikosida cenderung sekarang digunakan hanya untuk mengobati penyakit yang sangat serius seperti meningitis. Aminoglikosida memecah dengan cepat di dalam sistem pencernaan sehingga mereka harus diberikan melalui suntikan atau tetes.

4. Obat tetrasiklin

Tetrasiklin adalah jenis lain dari obat antibiotik spektrum luas yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi. Tetrasiklin umumnya juga merupakan salah satu obat antibiotik untuk jerawat yang digunakan untuk mengobati jerawat yang parah dan kondisi yang disebut rosacea, yang menyebabkan kemerahan pada kulit dan bintik-bintik.

5. Makrolida

Manfaat antibiotik Makrolida adalah jenis antibiotik yang berguna dalam mengobati infeksi paru-paru dan dada. Makrolida juga bisa menjadi pengobatan alternatif yang berguna bagi orang-orang dengan alergi penisilin atau untuk mencegah bakteri yang kebal obat penisilin. Contoh golongan antibiotik makrolida termasuk: Eritromisin dan Spiramisin.

6. Fluoroquinolones

Fluoroquinolones adalah tipe terbaru dari antibiotik. Fluoroquinolones merupakan obat antibiotik spektrum luas yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam infeksi. Contoh fluoroquinolones adalah: Obat Ciprofloxacin dan Obat Norfloksasin.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Maret 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Teknologi Kimia Industri Medan dan Laboratorium Biologi Universitas Medan Area.

3.2. Bahan Dan Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri, beaker glass, spatula, gelas ukur, neraca analitik, pisau, serbet, korek api, saringan, mortar, tabung reaksi, waterbath, blankdisch, pinset, bunsen, kertas label, kamera. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun handeuleum yang diperoleh dari pekarangan milik warga dan taman di daerah Tanjung Rejo kecamatan Medan Sunggal. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest, amoxicillin, etil asetat ($C_4H_8O_2$) (teknis), H_2SO_4 (pekat), asam asetat (CH_3COOH) (pekat), asam klorida (HCl), n-heksana (C_6H_{14}) (teknis), Ferri triklorida ($FeCl_3$), iodium (I), serbuk magnesium (Mg). Media uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Natrium Agar (NA) dan Mueller Hinton Agar (MHA). Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari subkultur di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara.

3.3. Metoda Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif. Konsentrasi ekstrak lima perlakuan dengan cara mengekstrak daun handeuleum yang digunakan adalah 30%, 45%, 60%, 75% dan

antibiotik pembanding Amoxicillin 500 mg dengan ulangan sebanyak lima kali, bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh masing-masing konsentrasi ekstrak.

3.4. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini yang akan dilakukan antara lain penyediaan pereaksi, preparasi sampel, ekstraksi senyawa aktif daun handeuleum, uji skrining fitokimia dan uji antimikroba.

Penyediaan Pereaksi

Pereaksi-pereaksi yang digunakan dalam penelitian ini antara lain HCl 2N, FeCl₃ 1%, Wagner dan *Lieberman-Burchad*.

1. Larutan HCl 2N

Sebanyak 16,7 ml HCl 2N dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan ditambah dengan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan.

2. Larutan FeCl₃ 1%

Sebanyak 1 gram FeCl₃ dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan ditambah dengan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3. Pereaksi Wagner

Sebanyak 2 gram KI dimasukkan kedalam labu takar 100 ml dan ditambah dengan aquadest dan diaduk hingga KI larut kemudian ditambah 1,27 gram Iodine (I₂) dan ditambah aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan.

4. Pereaksi *Lieberman-Burchad*

Sebanyak 20 ml asam asetat dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml kemudian ditambah 10 ml H₂SO₄ (p.a) kemudian dilarutkan dengan 50 ml kloroform.

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun handeuleum yang segar. Daun handeuleum segar dibersihkan dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan menggunakan cahaya matahari dengan kadar air mencapai 10%. Sampel daun handeuleum kemudian dihaluskan, lalu disaring menggunakan saringan berukuran 40 mesh dan ditimbang sebanyak 200 gram.

Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Handeuleum

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etilasetat dan n-hexane terhadap 200 gram simplisia daun handeuleum dalam 600 mL pelarut etilasetat dan n-hexane selama 3x24 jam dan penggantian pelarut setiap 24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan corong *Buchner*, kemudian ekstrak dipisahkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 70°C untuk menguapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak pekat etilasetat dan n-hexane daun handeuleum, selanjutnya kedua ekstrak tersebut diuji skrining fitokimia.

Uji Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder dari daun handeuleum, maka dilakukan skrining fitokimia yang terdiri atas alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi spesifik untuk senyawa-senyawa tersebut.

1. Uji Senyawa Flavonoid

Pada uji senyawa flavonoid yaitu 1 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg 0,1 dan 1 ml HCl (p.a) dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol dikocok dan diamati yang terjadi perubahan

warna merah/ungu, kuning/jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

2. Uji Senyawa Alkaloid

Pada uji senyawa alkaloid yaitu 1 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL HCl 0,2N kemudian dipanaskan selama 10 menit pada suhu 100°C selanjutnya didinginkan dan disaring. Lalu ditambahkan 2 tetes larutan iodium kedalam 0,5mL filtrate, jika terdapat kekeruhan hingga terbentuk endapan coklat muda/merah.

3. Uji Senyawa Tanin

Uji senyawa tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl₃ 10%. Munculnya endapan hitam, biru, kuning/hijau mengindikasikan positif senyawa tanin.

4. Uji Senyawa Saponin

Pada uji senyawa saponin dilakukan dengan menggunakan aquadest dalam tabung reaksi lalu dikocok kuat selama 30 detik dan terbentuk busa permanen lebih dari 10 menit dengan penambahan 2 tetes HCl 2 N, maka menunjukkan uji positif untuk saponin.

5. Uji Senyawa Steroid

Uji senyawa terpenoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi H₂SO₄ (pekat) 1 tetes lalu ditambahkan asam asetat (pekat) 1 tetes. Munculnya endapan biru/hijau mengindikasikan positif senyawa steroid.

Pembuatan Suspensi Uji

Pembuatan suspensi uji yaitu dengan mengambil koloni murni *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah dikultur murni pada media *Nutrient*

Agar (NA). Masing-masing satu ose bakteri biakan di suspensi didalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml aquadest dengan tingkat kekeruhan 10^8 CFU.

Uji Antimikroba

Untuk uji aktivitas antimikroba, ekstrak daun handeuleum dengan cara membuat larutan dengan konsentrasi 30%, 45%, 60%, 75%, dan amoxicillin dengan dimetilsulfuoksida (DMSO) dan untuk pengenceran digunakan aquadest steril. Bakteri diambil dengan cutten bath steril kemudian diusapkan dengan merata pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah dituang pada cawan petri, dengan menggunakan 4 blankdisc pada setiap petri dan masing-masing telah direndam dengan ekstrak sesuai konsentrasi, dengan cara menekan blankdisc yang sudah mengandung ekstrak daun handeueum agar menempel dengan baik.

Cawan yang telah diberi blankdisc dan telah dibagi empat berdasarkan konsentrasi diinkubasi pada suhu 37°c selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya zona jernih di sekitar ekstrak daun handeuleum. Hal itu menunjukkan bahwa ekstrak daun handeuleum berpotensi sebagai bahan antimikroba. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan jangka sorong menurut metode *Kirby-baurier of Susceptibility Test* (Cappucino *et al.*, 1999).

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian adalah diameter zona hambat masing-masing konsentrasi ekstrak daun handeuleum terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan lima ulangan.

Data yang diukur adalah diameter zona hambat yang dimulai dari titik pusat hingga daerah terluar yang tidak ditumbuhi bakteri.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk masing-masing jenis bakteri yang terdiri dari 5 (lima) perlakuan konsentrasi ekstrak daun handeuleum yaitu :

C₀ = kontrol (Amoxicillin 500 mg)

C₁ = konsentrasi 30%

C₂ = konsentrasi 45%

C₃ = konsentrasi 60%

C₄ = konsentrasi 75%

Perlakuan diulang sebanyak 5 kali

Data hasil penelitian dianalisis dengan sidik ragam dengan model linier sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

$i = 1,2,3,4,5$

Dimana:

Y_{ij} : zona jernih (mm) pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ : nilai tengah (nilai rata-rata umum)

α_i : pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} : pengaruh galat terhadap perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

Data hasil penelitian yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji beda rataaan berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan Test (DMRT) pada taraf 5%.

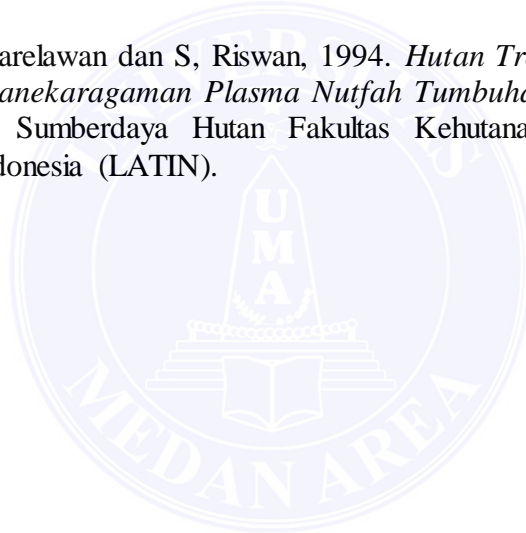
DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, 2015, Daya Hambat Ekstrak Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin.
- Anonim, 2016 *Pseudomonas aeruginosa*, www.bioquell.com diunduh: 1.39pm 12/5/2016.
- Atikah, Nur. 2013. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. UIN Syarif Hidayatul Jakarta.
- Boel, Trelia, 2004, *Pseudomonas aeruginosa*, <http://library.usu.ac.id>
- Brock, T.D. and Madigan, M.T., 1991. *Biology of microorganisms* (6th ed.) Prentice hall. Eaglewood cliffs, New Jersey. USA. Pp. 771-775.
- Cappucino, J.G dan Natalia, S. 1999. Mikrobiologi. *A Laboratory Manual 4 Fd Addison-Wesley Publishing Company*.
- Chambers, H. F. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. 8th ed. Salemba Medika, Jakarta.
- Charyadie, F.L., Adi, S., Sari, R.P. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana*, Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hang Tuah. Surabaya. *Jurnal* Vol 8 No 1.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 1. Cetakan 1. Jakarta: Trubus Agriwidya. Hlm. 140.
- Davis, W. W. dan Stout, T. R. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. *Applied Microbiology*. 22 (4): 659-665.
- Djide, M.N, 2003. *Mikrobiologi Farmasi*, Jurusan Farmasi Unhas, Makassar.
- Dewi, M.K., Ratnasari, E, Trimulyono,G. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. Jurusan Biologi Universitas Negri Surabaya. *Jurnal* Vol.3 No 1.
- Ermilla. 2006. *Uji Resistensi Bakteri*. Angkasa, Jakarta.
- Ganiswarna, S.G, 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah Dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Hutapea, J. R. 1993. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II). Jakarta: Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ibtisam, 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Perkolasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Istiqomah. 2014. Pebandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, dan E.A Adelberg. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I. Salemba Medika. Jakarta.
- Kaur, S.P., R. Rao., and S. Nanda. 2011. Amoxicillin: A Broad Spectrum Antibiotic. *International J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* Vol. 3, Issue 3:33-37.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Departemen kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Madigan M.T. dan Martinko J.M., 2005. *Brock Biology of Microorganisms* 11th ed., Prentice Hall, New Jersey.
- Mayasari, Evita, 2006, *Pseudomonas aeruginosa; Karakteristik, Infeksi, dan Penanganan*, [http:// library.usu.ac.id](http://library.usu.ac.id)
- Mukhriani. 2014. Ekstrasi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Fakultas Ilmu Kesehatan. UIN Alaudin Makassar. *Jurnal Kesehatan*. Vol 7 No 2/2014.
- Mulyaningsih S. 2014. Analisis pemanfaatan daun binahong (*Androdera cordifolia, Steenis.*) sebagai antimikroba. *Jurnal Dikbio*.
- Merchant, I, A., and Parker R. A., 1961., *Veterinary Bacterial and Virology*, 6th Edition, Iowa, Iowa State University Press.
- Nuraina, 2015. Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia benthami* Pierre Dengan Metode Dilusi. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.

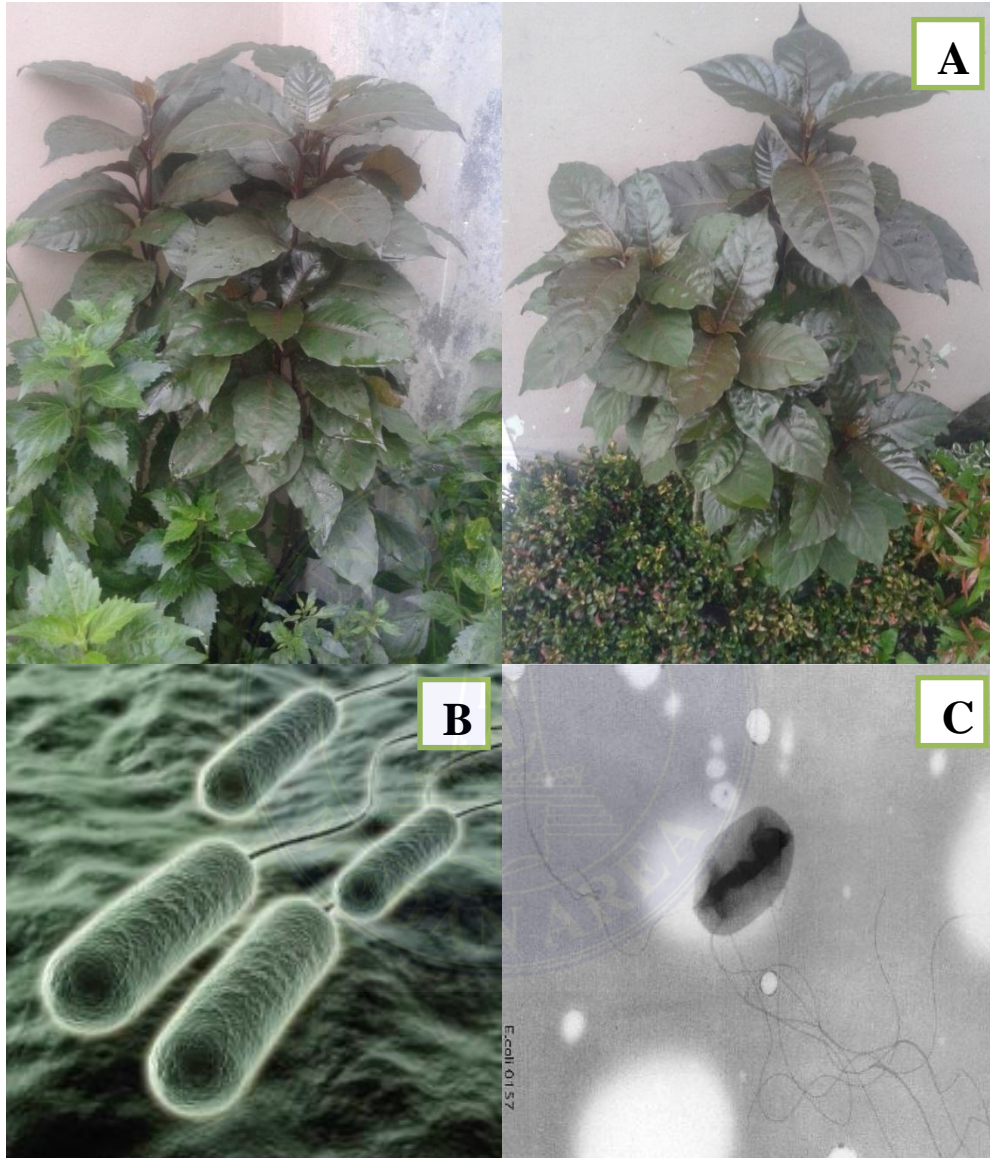
- Nuraini, A.D., 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Taratai (*Nymphaea pubescens* Willd). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. ITB. Bogor.
- Novilia, 2008. *Artikel Ilmiah Penelitian Mikroba dan Uji Resistensi*. Gramedi, Jakarta.
- Pelczar M. J. dan E. C. S. Chan., 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2. Terjemahan Ratna Sri Hadioetomo, *et al*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pelczar, M.J., dan E.C.S. Chan. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 2. Terjemahan: R.S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo, dan S.L. Angka. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Prescott, L.M. 2005. *Microbiology*. 6th-Ed. McGraw-Hill, New York.
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Riza N. F, 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rustaman, Abdurahman, M., Hidayat, A.T. 2000. Analisis Fitokimia Tumbuhan di Kawasan Gunung Simpng Sebagai Penelaahan Keanekaragaman Hayati. Lembaga Penelitian. Universitas Padjadjaran.
- Redha, A. 2010. Flavonoid; Struktur, Sifat Antioksidan dan Peranannya Dalam Sistematis Biologis. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak.
- Rochani, N, 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenora Steenis) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya. Fakultas Farmasi. UMS Surakarta.
- Schlegel, H.G., and K. Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Terjemahan : R.M. Tedjo dan Baskoro. Penerbit UGM Press, Yogyakarta.
- Sitompul, E. dan Nainggolan, M., 2011. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Kandungan Kimia Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) *Prosiding Seminar Nasional Biologi* Hal: 263-268.
- Smith-Keary, P. F., 1988. *Genetic Elements in Escherichia coli*. Macmillan Molecular Biology Series. London. 1-9.
- Sumarny R. Evaluasi efek anti-inflamasi beberapa jamu antirematik yang beredar di pasaran. *Laporan hasil penelitian*, Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 1993.

- Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Us national library of medicine, national institutes of health*.
- Todar, K. 2008. *Pathogenic Escherisia coli. Todar's Online Textbook of Bacteriology*. www.Textbookofbacteriology.net
- Wahyuni, L.R. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kubis (*Brassica oleracea* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Wahyuningtyas, E. Pengaruh Ekstrak *Graptophyllum pictum* terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada plat gigi tiruan resin akrilik. *Indonesian Journal of Dentistry* 2008; 15 (3):187-191.
- Wijayakusuma, M. H, 2000. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*. Jakarta : Prestaso Insan Indonesia.
- Zuhud, EAM, Ekarelawan dan S, Riswan, 1994. *Hutan Tropika Indonesia sebagai sumber Keanekaragaman Plasma Nutfah Tumbuhan Obat*. Bogor : Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan Fakultas Kehutanan IPB Lembaga Alam Tropika Indonesia (LATIN).



LAMPIRAN

Lampiran 1. Morfologi Bahan Penelitian



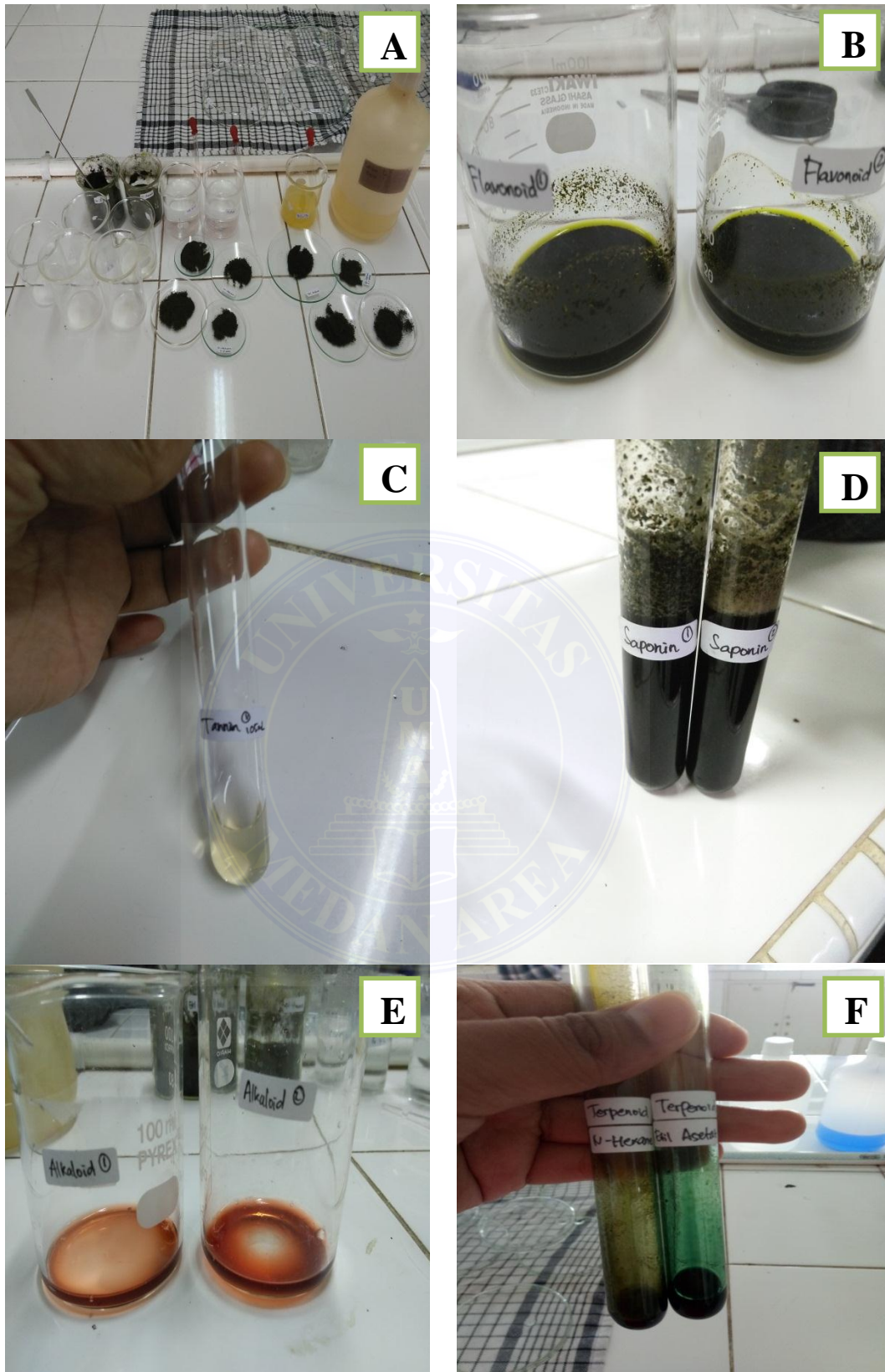
(sumber bioquell.com)

Gambar 1. Morfologi Bahan Penelitian : A. Tumbuhan handeuleum;
B. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*; C. Bakteri *Escherichia coli*

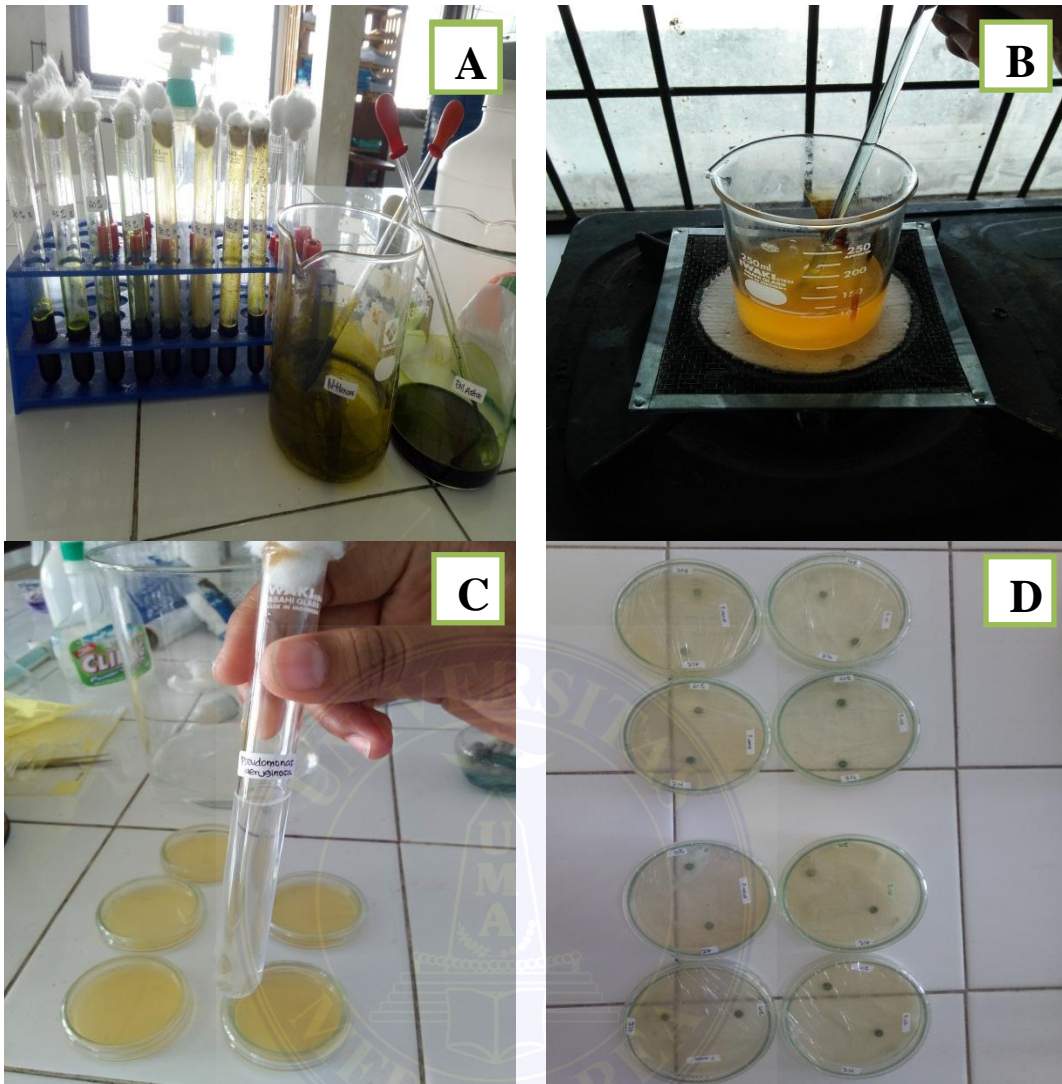
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



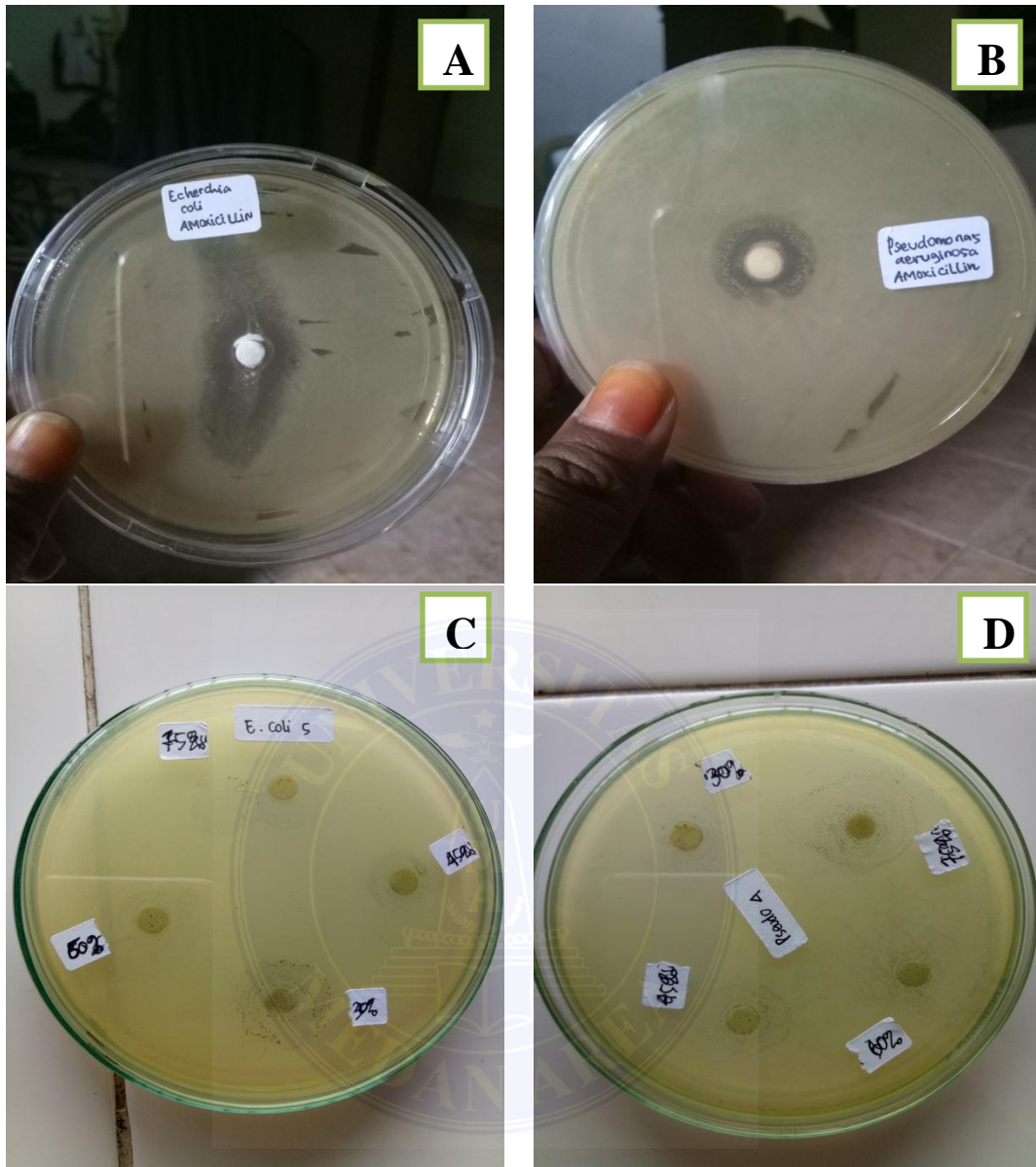
Gambar 2. Preparasi Sampel: A. Pengambilan Tumbuhan Handeuleum; B. Simplisia Daun Handeuleum; C. Serbuk Daun Handeuleum Metode sampel ; D. Ekstraksi Metode Maserasi; E. Pemekatan Sederhana; F. Ekstrak Pekat Daun Handeuleum



Gambar 3. Uji Skrining Fitokimia: A. Bahan Pengujian Skrining Fitokimia; B. Flavonoid (+) Kedua Pelarut; C. Tannin (+) Etil asetat; D. Saponin (+) Kedua Pelarut; E. Alkaloid (+) Kedua Pelarut; F. Triterpenoid (+) Etil asetat



Gambar 4. Komponen dalam Pengujian Antimikroba : A. Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Etil asetat; B. Pemasakan Media MHA; C. Pengenceran Bakteri 10^8 CFU; D. Tempat Pengujian Antimikroba dengan Metode Difusi



Gambar 5. Hasil Diameter Zona Hambat : A. Zona Hambat dengan Amoxicilin pada Bakteri *Escherichia coli*; B. Zona Hambat dengan Amoxicillin pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*; C. Zona Hambat dengan Ekstrak Daun Handeuleum pada Bakteri *Escherichia coli*; D. Zona Hambat dengan Ekstrak Daun Handeueum pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Lampiran 3. Hasil Rata-Rata Zona Hambat Pengaruh dari Konsentrasi Ekstrak Daun Handeuleum

a. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun handeuleum terhadap zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Ulangan	Perbedaan konsentrasi ekstrak etilasetat daun handeuleum dalam menghambat pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
	Amoxicillin (C ₀)	30% (C ₁)	45% (C ₂)	60% (C ₃)	75% (C ₄)
1	1,0	1,3	1,55	1,7	1,8
2	1,0	1,55	1,9	2,2	2,45
3	1,0	1,2	1,35	1,6	1,8
4	1,0	1,15	1,3	1,65	1,95
5	1,0	1,2	1,7	1,95	2,3
Rata-rata	1,0 d	1,28 cd	1,56 bc	1,82 ab	2,06 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan $\alpha = 0,05$.

b. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun handeuleum terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli*

Ulangan	Perbedaan konsentrasi ekstrak etilasetat daun handeuleum dalam menghambat pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>				
	Amoxicillin (C ₀)	30% (C ₁)	45% (C ₂)	60% (C ₃)	75% (C ₄)
1	2,0	1,55	1,65	2,0	2,25
2	2,0	1,7	1,75	1,95	2,0
3	2,0	1,3	1,6	2,1	2,2
4	2,0	1,1	1,55	2,0	2,05
5	2,0	1,15	1,45	1,9	2,1
Rata-rata	2,0 a	1,36 c	1,6 b	1,99 a	2,12 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan $\alpha = 0,05$.

Lampiran 4. Analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilanjut Uji Duncan Multiple Range Test (DMRT)

- a. ANOVA (Analisis of variance) ekstrak daun handeuleum terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

SK	DB	JK	KT	F hitung	P
Perlakuan	4	3.5416	0.8854	18.445833	.0000 ***
Galat	20	0.96	0.048		
Total	24	4.5016			

Keterangan: *** : Signifikan
NS : Non Signifikan

- b. ANOVA (Analisis of variance) ekstrak daun handeuleum terhadap bakteri *Escherichia coli*

SK	DB	JK	KT	F hitung	P
Perlakuan	4	2.0556	0.5139	26.905759	.0000 ***
Galat	20	0.382	0.0191		
Total	24	2.4376			

Keterangan: *** : Signifikan
NS : Non Signifikan

- c. Uji Lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) ekstrak daun handeuleum terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Urutan	Perlakuan	Rata-rata Zona Hambat
1	C4	2,06 a
2	C3	1,82 ab
3	C2	1,56 bc
4	C1	1,28 cd
5	C0	1,00 d

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan $\alpha = 0,05$.

- d. Uji Lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test) ekstrak daun handeuleum terhadap bakteri *Escherichia coli*

Urutan	Perlakuan	Rata-rata Zona Hambat
1	C4	2,12 a
2	C0	2,00 a
3	C3	1,99 a
4	C2	1,60 b
5	C1	1,00 c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan $\alpha = 0,05$.

Lampiran 5. Skema Penelitian

