

**UJI AKTIVITAS DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAN FRAKSINASI HERBA SIRIH CINA (*Peperomia
pellucida* L. Kunth) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



Oleh :

ANISA YUSTIKKA PUTRI

171.21.0003

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN BORNEO CENDEKIA MEDIKA

PANGKALAN BUN

TAHUN 2021

**UJI AKTIVITAS DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAN FRAKSINASI HERBA SIRIH CINA (*Peperomia
pellucida* L. Kunth) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Diajukan kepada Program Studi S1 Farmasi
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika
untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi



Oleh :

ANISA YUSTIKKA PUTRI

171.21.0003

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN BORNEO CENDEKIA MEDIKA
PANGKALAN BUN**

TAHUN 2021

PERSETUJUAN PENGUJI

**PANITIA SIDANG SKRIPSI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
BORNEO CENDEKIA MEDIKA
PANGKALAN BUN**

Pangkalan Bun, 21 Januari 2022

Komisi Penguji,

Joseph Billi, M. Farm

Penguji Anggota 1

Apt.Harun Efendi.,M.Farm

Penguji Anggota 2

Dr.Ir. Luluk Sulistiyono.,M.Si

Penguji Utama

PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap *Staphylococcus aureus*.
Nama Mahasiswa : Anisa Yustikka Putri
Nomor Induk Mahasiswa : 171210003
Program Studi : S1 Farmasi

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Joseph Billi.,M.Farm
NIDN.

Apt.Harun Efendi.,M.Farm
NIK. 01.19.52

Mengetahui,

Ketua STIKes BCM

Kepala Program Studi

Dr. Ir. Luluk Sulistiyono., M.Si

Yogie Irawan, S.Farm., M.Farm
NIK. 01.18.32

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Anisa Yustikka Putri
NIM : 171210003
Tempat, Tanggal Lahir : Pangkalanbun, 12 Maret 1999
Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul : “Uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap *Staphylococcus aureus*” adalah bukan skripsi orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila tidak benar saya bersedia mendapatkan sanksi.

Pangkalan Bun, 21 Januari 2022

Yang Menyatakan

Anisa Yustikka Putri

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

"Barangsiapa yang menempuh jalan untuk menuntut ilmu,
Allah akan mudahkan baginya jalan menuju surga."

-HR Muslim-

Hidup di dunia ini hanya sebentar, maka arahkanlah segala keterbatasan pada tempat yang baik, yaitu keberhasilan yang diinginkan, yang membawa kebahagiaan serta keberkahan karena sukses tidak membutuhkan resep, semua ada dalam diri sendiri.

Habiskan stok gagal sekarang hingga yang tersisa nanti hanyalah keberhasilan. Man jadda wajada.

-Penulis-

Persembahan

Persembahan sederhana ini untuk ayah dan mama .

Atas segala kerja keras, nasihat dan do'a yang tak pernah henti kalian berikan kepadaku.

Terimakasih telah sabar menunggu.

Serta adek, keluarga terdekat dan teman-teman ku.

Yang tiada henti selalu memberi bantuan, dukungan, semangat dan do'a untukku, juga yang selalu mau direpotkan dalam proses penelitianku.

Dan kepada semua pihak yang bertanya :

"Kapan selesai kuliahnya?"

"Skripsinya udah sampai mana?"

"Kapan wisudanya, kok lama?" Dan lain sebagainya.

Kalianlah motivasiku untuk terus dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

RIWAYAT HIDUP

Anisa Yustikka Putri dilahirkan di Pangkalan Bun pada tanggal 12 Maret 1999. Anak sulung dari 2 bersaudara dari pasangan Kasnawi dan Suhartatik.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 3 Pasir Panjang Kecamatan Arut Selatan pada tahun 2011. Kemudian, pada tahun itu juga penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 2 Arut Selatan dan tamat pada tahun 2014. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 3 Pangkalan Bun dan tamat pada tahun 2017. Pada tahun 2017 pula, penulis lulus seleksi masuk Sekolah Tinggi Kesehatan melalui tes kesehatan dan tes tertulis, dan melanjutkan pendidikan di “BORNEO CENDEKIA MEDIKA” pada Program Studi S1 Farmasi dari empat pilihan program studi yang ada pada instansi STIKes Borneo Cendikia Medika Pangkalan Bun.

Demikian riwayat hidup ini dibuat dengan sebenarnya.

Pangkalan Bun, 21 Januari 2022

Penulis

Anisa Yustikka Putri

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim...

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji dan syukur senantiasa terpanjatkan kehadirat Allah *Subhanahu wa Ta'ala* yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini dengan baik. Shalawat beriring salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad *Shallallahu alaihi Wa Sallam* beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi yang berjudul “Uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap *Staphylococcus aureus*” ini disusun sebagai syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di STIKes Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.

Selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini, begitu banyak bantuan dari berbagai pihak yang telah meluangkan waktunya, membimbing, dan mendoakan yang terbaik kepada penulis . Maka, penulis menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Luluk Sulistiyono., M.Si selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun
2. Yogie Irawan, S. Farm., M. Farm selaku Kaprodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun.
3. Dr. Ir. Luluk Sulistiyono., M.Si selaku Penguji kompetensi yang telah memberi masukan dan saran serta bimbingan demi kesempurnaan skripsi ini dan bersedia meluangkan waktu dan selalu memotivasi sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
4. Joseph Billi, M. Farm selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, koreksi dan masukan selama berlangsungnya penelitian serta penyusunan skripsi.

5. Apt.Harun Efendi.,M.Farm selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, koreksi dan masukkan selama berlangsungnya penelitian serta penyusunan skripsi.
6. Bapak dan Ibu Dosen, Segenap staf, Laboran dan Karyawan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun yang telah memberikan bimbingan ilmu selama berlangsungnya kuliah serta telah memberikan kelancaran dalam pelaksanaan penelitian.
7. Kedua orang tua dan segenap keluarga tercinta yang senantiasa memberikan bantuan, do'a dan dorongan semangat hingga skripsi penelitian ini dapat diselesaikan.
8. Para teman-teman seperjuangan Fitriana Utami, Harcika Gayatri Sabtaulina, Siti Hayatun, Aulia Rahmi, Febby Febriana Lesta, Nurya Indah Lestari, Eprida Lianisanti, Alya Meitarisna Ardiana, dan Aldi Syadilarama yang telah memberikan bantuan berupa doa, tenaga, dukungan, masukan dan waktu dalam proses penyusunan skripsi.
9. Pada kakak tingkat yang telah memberikan banyak bantuan berupa masukan dan waktu dalam proses penyusunan skripsi.
10. Semua pihak yang banyak berperan dalam penyusunan skripsi ini dari awal hingga akhir penulisan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Sebagai ungkapan terimakasih, penulis hanya bisa mendo'akan dan Allah SWT. memberikan balasan yang terbaik atas segala bantuan dan dukungannya kepada penulis. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Maka dari itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca, semoga karya ini dapat bermanfaat dan digunakan sebagai landasan penelitian yang lebih lanjut.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL DALAM	i
PERSETUJUAN PENGUJI	ii
PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
RIWAYAT HIDUP	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR BAGAN.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRAK	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Umum Herba Sirih Cina	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	6
2.1.2 Deskripsi Tanaman	7
2.1.3 Kandungan dan Manfaat	7
2.2 Tinjauan Umum Bakteri.....	10
2.2.1 Definisi.....	10
2.2.2 Klasifikasi Bakteri	11
2.2.3 Bakteri Uji.....	13
2.3 Simplisia dan Metode Penyarian.....	17

2.3.1	Simplisia	17
2.3.2	Metode Penyarian	18
2.3.3	Cairan Penyari.....	22
2.3.3.1	Macam-Macam Cairan Penyari.....	22
2.3.3.2	Faktor-Faktor Pemilihan Cairan Penyari	24
2.4	Ekstraksi Dan Ekstrak	25
2.4.1	Ekstraksi.....	25
2.4.2	Metode Ekstraksi	25
2.4.3	Ekstrak	28
2.5	Skrining Fitokimia.....	28
2.6	Fraksinasi	29
2.7	Kromatografi Lapis Tipis (<i>Thin Layer Chromatography</i>)	30
2.8	Media Pertumbuhan Bakteri.....	32
2.8.1	Macam-Macam Media	33
2.9	Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	35
2.10	Konsentrasi Hambat Minimum	37
BAB III	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	39
3.1	Kerangka Konseptual.....	39
3.2	Hipotesis	41
BAB IV	METODE PENELITIAN	42
4.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	42
4.1.1	Waktu Penelitian.....	42
4.1.2	Tempat Penelitian	42
4.2	Desain Penelitian	42
4.3	Variabel Penelitian.....	43
4.3.1	Variabel Bebas	43
4.3.2	Variabel Terikat	43
4.3.4	Variabel Kontrol	43
4.4	Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling	43
4.4.1	Populasi.....	43
4.4.2	Sampel.....	43

4.4.3	Teknik Sampling.....	44
4.5	Alat dan Bahan	44
4.5.1	Alat.....	44
4.5.2	Bahan Penelitian	44
4.6	Definisi Operasional.....	45
4.7	Prosedur Penelitian.....	47
4.7.1	Pengumpulan dan Pengolahan Simplisia Herba Sirih Cina	47
4.7.2	Standarisasi Simplisia	47
4.7.3	Pembuatan Ekstrak dan Skrinning Fitokimia	50
4.7.4	Pembuatan Fraksi dan Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.....	52
4.7.5	Pengujian Efektivitas Antibakteri Fraksi-fraksi Hasil Pemisahan	55
4.8	Analisis Data.....	59
4.9	Skema Kerja.....	60
4.9.1	Alur Pembuatan Simplisia	60
4.9.2	Alur Pembuatan Ekstrak Etanol.....	61
4.9.3	Alur Fraksinasi.....	62
4.9.4	Alur Uji KLT Ekstrak dan Fraksinasi Hasil Pemisahan	63
4.9.5	Alur Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi..	64
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN	66
5.1	Determinasi Herba Sirih Cina.....	66
5.2	Pengumpulan Bahan dan pengolahan Simplisia.....	66
5.3	Ekstraksi Serbuk Simplisia Herba Sirih Cina	68
5.4	Hasil Standarisasi Simplisia	69
5.4.1	Standarisasi Spesifik	69
5.4.2	Standarisasi Non-Spesifik.....	72
5.5	Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Menggunakan Reagen	73
5.6	Fraksinasi Herba Sirih Cina.....	76
5.7	Hasil Skrinning Fitokimia dengan Kromatografi Lapis Tipis ...	78

5.8	Pewarnaan Gram Bakteri	92
5.9	Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi Herba Sirih Cina Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	93
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	100
6.1	Kesimpulan	100
6.2	Saran	100
	DAFTAR PUSTAKA	101
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1	Bagian Tanaman, Cara Pengumpulan, Kadar Air Simplisia.....	18
Tabel 2	Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri	36
Tabel 3	Definisi Operasional.....	45
Tabel 5.1	Hasil Pengumpulan dan Pengolahan Simplisia	67
Tabel 5.2	Hasil Susut Pengeringan Simplisia	68
Tabel 5.3	Hasil Rendemen Ekstrak Herba Sirih Cina	69
Tabel 5.4	Hasil Standarisasi Parameter Spesifik Simplisia Herba Sirih Cina.....	70
Tabel 5.5	Hasil Standarisasi Parameter Non-Spesifik Simplisia Herba Sirih Cina.....	72
Tabel 5.6	Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak dengan Metode Uji Reaksi	74
Tabel 5.7	Hasil Rendemen fraksi n-heksana, etil asetat dan air.....	77
Tabel 5.8	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air Herba Sirih Cina.....	79
Tabel 5.9	Hasil Diameter Zona Hambat Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	93
Tabel 5.10	Hasil Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina.....	96

DAFTAR BAGAN

Halaman

Bagan 3.1 Kerangka Konseptual	39
Bagan 4.9.1 Alur Pembuatan Simplisia	60
Bagan 4.9.2 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Sirih Sirih	61
Bagan 4.9.3 Alur Fraksinasi.....	62
Bagan 4.9.4 Alur Uji KLT Ekstrak dan Fraksinasi Hasil Pemisahan	63
Bagan 4.9.5 Alur Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi	64

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1	Tanaman Herba Sirih Cina	7
Gambar 2	Struktur Kimia Flavonoid	9
Gambar 3	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Gambar 5.1	Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	93

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Herba Sirih Cina (<i>Peperomia pellucida</i> L.Kunth).....	107
Lampiran 2.	Perhitungan Rendemen.....	109
Lampiran 3.	Perhitungan Standarisasi Simplisia	109
Lampiran 4.	Perhitungan Nilai Rf Hasil KLT.....	111
Lampiran 5.	Perhitungan Konsentrasi Ekstrak, Fraksinasi Herba Sirih Cina dan Kontrol Positif Clindamycin.....	111
Lampiran 6.	Rekap Zona Hambat Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	112
Lampiran 7.	Perhitungan efektivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina	113
Lampiran 8	Hasil Uji Statistika Efektivitas Herba Sirih Cina Hasil Uji Normalitas	114
Lampiran 9.	Gambar Proses Pembuatan Simplisia.....	116
Lampiran 10.	Gambar Standarisasi Simplisia.....	117
Lampiran 11.	Gambar Proses Ekstraksi.....	119
Lampiran 12.	Gambar Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina dengan Metode Uji Reaksi	120
Lampiran 13.	Gambar Fraksinasi Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina.....	121
Lampiran 14.	Gambar Skrinning Fitokimia Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Herba Sirih Cina.....	122
Lampiran 15.	Rekap Hasil Skrinning Fitokimia Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Herba Sirih Cina.....	123
Lampiran 16.	Gambar Uji Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	127

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND EFFECTIVENESS OF EXTRACTS AND FRACTIONATIONS OF SIRIH CINA HERB (*Peperomia pellucida* L. Kunth) AGAINST *Staphylococcus aureus*

Sirih cina is one of the plants traditionally used to treat skin diseases. It has potential as a medicinal plant because of the active compounds contained in it. The study aimed to test the antibacterial activity and effectiveness of ethanol extract and the fractionation of Sirih cina herbs in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium, a normal human microflora, frequently found in the upper respiratory tract and skin. Sirih cina is macerated using a 70% ethanol solvent and fractionated by liquid-liquid extraction method using n-hexane, ethyl acetate and water solvents. The concentrations used from each treatment are 25%, 50% and 75%. Using the paper disc diffusion method, each concentration was tested. Analysis of the data using the ANOVA test showed a significance value of $p < 0.05$, meaning that each treatment group contained antibacterial activity from the Sirih cina herb in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro. LSD test results showed no significantly different treatment of positive controls with a significance value of $p < 0.05$, meaning that no one had the growth-inhibiting power of *Staphylococcus aureus* than the antibiotic Clindamycin. The ethanol extract and fractionation of Sirih cina herb had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria. However, none had the power to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria more than the antibiotic Clindamycin.

Keywords: *Fraction, Sirih Cina Herb, Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSINASI HERBA SIRIH CINA (*Peperomia pellucida* L. Kunth) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Sirih cina merupakan salah satu tanaman tradisional digunakan untuk pengobatan penyakit kulit. Potensi sirih cina sebagai tanaman obat karena adanya kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* ialah bakteri gram positif yang merupakan mikroflora normal manusia, biasanya terdapat pada saluran pernapasan atas dan kulit. Sirih cina di maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan air. Konsentrasi yang digunakan dari masing-masing perlakuan ialah konsentrasi 25%, 50% dan 75% . Setiap konsentrasi tersebut dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi kertas cakram. Analisa data menggunakan uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$, bahwasanya setiap kelompok perlakuan terdapat aktivitas antibakteri dari herba sirih cina dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Hasil uji LSD menunjukkan bahwasanya tidak ada perlakuan yang berbeda signifikan terhadap kontrol positif dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ artinya tidak ada yang mempunyai kekuatan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* melebihi antibiotik Clindamycin. Ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak ada yang mempunyai kekuatan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* melebihi daya hambat antibiotik Clindamycin.

Kata kunci : Fraksi, Herba Sirih Cina, *Staphylococcus aureus*

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia ialah negara dengan iklim tropis dan bertanah subur dengan keanekaragaman hayati terbesar yang mempunyai >30.000 jenis tanaman tingkat tinggi, salah satunya tanaman obat-obatan. Banyak tanaman mempunyai khasiat sebagai obat yang digunakan sebagai bahan baku di industri farmasi, sampai saat ini ± 7000 spesies tanaman yang telah diketahui khasiatnya tetapi sebagian besar dari tanaman tersebut tidak dikenali (Saifuddin, *et al.*, 2011). Tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat merupakan tanaman yang mempunyai aktivitas biologis atau efek farmakologi untuk pengobatan (S. Atun, 2014).

Seiring berjalannya waktu, pengetahuan mengenai tumbuhan obat makin berkembang, saat ini sudah banyak digali manfaat dari tanaman obat. Hal ini karena adanya kekurangan yang ditimbulkan oleh penggunaan obat sintesis, seperti harganya mahal dan menimbulkan resistensi bakteri (Febriyanti, 2010). Untuk mendukung hal tersebut maka melalui penelitian-penelitian ilmiah dilakukan pengembangan obat tradisional secara modern agar dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk kebutuhan kesehatan masyarakat (Sarker SD, *et al.*, 2006).

Salah satu tanaman yang kurang dikenali tetapi ternyata berkhasiat yakni ketumpang air (*Peperomia pellucida*) yang dikenal dengan nama sirih cina atau daun suruhan. *Peperomia pellucida* mempunyai berbagai nama daerah antara lain tumpangan udara (Sumatera, Jakarta), saladaan (Sunda), suruhan (Jawa), gofu goroho (Ternate), cao hu jiao (China), ulasiman bato (Filipina) (A. Hariana, 2011). Secara tradisional tanaman ketumpang air digunakan sebagai obat gangguan pencernaan: disentri, diare, sakit perut; gangguan saluran pernapasan : asma, infeksi nasofaring, batuk; penyakit kulit: eksim, abses, jerawat, bisul, kudis, dermatitis, ruam, luka, bekas luka, dan kutil; penyakit lain: demam, kelumpuhan, epilepsi, kejang, masalah jantung, hipertensi, gangguan ginjal, asam urat, nyeri rematik, konjungtivitis, dan campak (Amarathunga & Kankanamge, 2017).

Berbagai penelitian telah dilakukan dan memperlihatkan bahwasanya tanaman ketumpang air mempunyai aktivitas antiinflamasi, antipiretik, analgesik, antijamur, antibakteri, hipoglikemik, antikanker, antimikroba, antiradang, antioksidan, dan antidermatogenik. Aktivitas antimikroba ini salah satunya ditunjukkan terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia coli* (Amarathunga & Kankanamge, 2017). Senyawa kimia yang terkandung dalam *Peperomia pellucida* antara lain alkaloid, kardenolid, tannin, saponin (R.U.Egwuche, 2011), karbohidrat, terpenoid, flavonoid dan steroid (Majumder P, 2011).

Staphylococcus aureus ialah bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif dengan diameter 0,5-1,0 μm , berbentuk bulat dimana koloni menyerupai buah anggur, tidak membentuk spora dan tidak motil. Bakteri ini merupakan mikroflora normal manusia, umumnya bisa ditemukan di saluran pernapasan atas dan kulit, hampir semua orang akan merasakan beberapa jenis infeksi *Staphylococcus aureus*, dengan gejala mulai dari keracunan makanan ataupun infeksi kulit ringan sampai infeksi berat yang mengancam jiwa (Jawetz *et al.*, 2014). Dari infeksi tersebut menyebabkan penggunaan antibiotik, tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri bisa menimbulkan bermacam permasalahan setelah bertahun-tahun penggunaan yakni bisa menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut (Roslizawaty, *et al.*, 2013).

Dalam sebuah studi berbasis komunitas di Singapura, jerawat ditemukan pada sekitar 88% remaja berusia 13-19 tahun. Dalam penelitian lain, 41% orang dewasa yang dirawat di National Skin Centre Singapura telah mengalami jerawat sejak masa remaja, meskipun sebagian besar mengalami jerawat pada orang dewasa (Hazel H.Oon *et al.*, 2019).

Dari penelitian Muttaqin EZ & Soleha TU (2012) didapatkan “pola resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik penisilin cenderung meningkat dari tahun ke tahun”. Oleh karenanya dibutuhkan pengembangan

penelitian dalam penemuan obat baru yang bersumber dari alam sebagai pencegahan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibakteri.

Hasil penelitian Siti Karomah (2019) memperlihatkan bahwasanya ekstrak herba sirih cina tidak mempunyai daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* tetapi hasil penelitian Eldo & Theopillus (2015) menunjukkan bahwasanya “ekstrak etanol herba sirih cina terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi yakni 25%, 50% dan 75% terdapat pengaruh kontak terhadap pertumbuhan bakteri dimana pada konsentrasi 25% ialah sebesar 5 mm = tidak memberikan respon hambat, 50% ialah sebesar 10 mm = respon hambat lemah dan 75% ialah sebesar 16 = respon hambat sedang”. “Aktivitas antibakteri herba sirih cina dikarenakan adanya kandungan senyawa kimia berupa tanin dan flavonoid” (Isna & Destik.,2019)

Dengan adanya senyawa kimia pada herba sirih cina yang dapat digunakan sebagai antimikroba dan minimnya pengetahuan masyarakat tentang manfaat dan khasiat *Peperomia pellucida*, maka berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% menggunakan metode difusi agar cakram disk .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- 1). Golongan senyawa apa saja yang tersari didalam ekstrak etanol dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) ?
- 2). Apakah ekstrak etanol dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) hasil pemisahan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*?
- 3). Manakah yang paling efektif antara ekstrak dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini ialah untuk:

- 1). Mengetahui golongan senyawa yang tersari dalam ekstrak etanol dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth).
- 2). Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) terhadap *Staphylococcus aureus*.
- 3). Mengetahui efektivitas yang paling baik dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* antara ekstrak dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth).

1.4 Manfaat Penelitian

Penulisan tugas akhir ini memberikan manfaat ke beberapa pihak, antara lain :

A. Manfaat Teoritis :

- 1) Bagi universitas dan keilmuan
 - Diharapkan dapat dijadikan referensi akademis khususnya program studi S1 Farmasi STIKes BCM Pangkalan Bun.
 - Sebagai sumber referensi bagi peneliti yang tertarik dalam penelitian mikrobiologi dalam konteks permasalahan yang berkaitan dengan aktivitas dan efektivitas antibakteri dari tanaman obat.
- 2) Bagi masyarakat dan industri
 - Meningkatkan manfaat sumber daya alam Indonesia khususnya herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth)

B. Manfaat praktis :

- 1) Bagi peneliti
 - Peneliti memperoleh informasi untuk memperluas wawasan, pengetahuan dan menerapkan teori uji aktivitas dan efektivitas antibakteri dari suatu tanaman sebagai alternatif obat tradisional.
- 2) Bagi universitas dan keilmuan
 - Menambah pengetahuan terkait penggunaan herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) sebagai antibakteri penyebab jerawat.
- 3) Bagi masyarakat dan industri

- Dapat digunakannya herba sirih cina sebagai alternatif obat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Membuka pembudidayaan herba sirih cina sebagai sumber obat alternatif dalam pengobatan modern.
- Dijadikan acuan bagi Industri obat di Indonesia, khususnya IOT dalam pengembangan sediaan obat baru yang lebih praktis dari tanaman herbal dan berefek tepat untuk masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Herba Sirih Cina (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth)

2.1.1. Klasifikasi Tanaman (Majumder Pulak *et al.*, 2011)

Nama Ilmiah	: <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Vascular plants)
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i> (Seed plants)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Flowering plants)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Dicotyledona)
Subkelas	: <i>Magnoliidae</i>
Ordo	: <i>Piperales</i>
Keluarga	: <i>Piperaceae</i>
Genus	: <i>Peperomia</i>
Spesies	: <i>Peperomia Pellucida</i>
Sinonim	: <i>Peperomia exigua</i> Miq.
Nama Simplisia:	<i>Peperomiae pellucidae simplicia</i>
Nama daerah	: Sasaladan (Sunda); range-range, sladanan, suruhan (Jawa); tumpangan air (Sumatera, Jakarta); gofu goroho (Ternate) , rumput ayam (Pasan Ratahan) (Dalimartha, 2006).
Nama asing	: Ulasiman bato (Filipina), cao hu jiao (Cina) (Hariana, 2015).

2.1.2. Deskripsi Tanaman



Gambar 1. Herba Sirih Cina (*Peperomia pellucida*)

(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Uraian deskripsi: Tanaman *Peperomia pellucida* berasal dari Amerika Tropis, banyak ditemukan di halaman rumah ataupun ditempat lembab serta berkembang secara liar. Tanaman semusim ini tumbuh tegak hingga ketinggian 20-40 cm; jika ketinggiannya bertambah, kadang-kadang bisa menggantung. Batang bundar dengan diameter 3-5 mm, dengan kadar air tinggi, bercabang, dan warnanya hijau pucat. Daunnya memiliki letak berseling dan tunggal bertangkai. Helaian daun lebar berbentuk serupa jantung, ujungnya meruncing, tulang melengkung, pangkal melekok, dan tepian rata dengan panjang 1-3 cm. Permukaan atas memiliki warna hijau pucat namun mengilap, sedangkan bagian bawahnya memiliki warna lebih muda. Bunga majemuk ialah sekelompok bunga berbentuk bulir dengan panjang berkisar 1-6 cm yang muncul dari ketiak daun atau ujung tangkai dengan warna hijau. Buah kecil bundar, berdiameter < 1 mm, memiliki warna hijau-kecokelatan, ujung meruncing tersusun seperti lada. Akar serabut dan tidak dalam (Dalimartha, 2006).

Budidaya: Dapat diperbanyak dengan biji

Sifat: Bersifat sejuk dan berasa pedas.

2.1.3. Kandungan dan Manfaat

Kandungan Kimia : Alkaloid, flavonoid, tanin, kalsium oksalat, triterpenoid, polifenol, saponin, lemak serta minyak atsiri

(Dalimartha, 2006). Senyawa kimia yang dikandung mempunyai mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri yakni:

a. Alkaloid

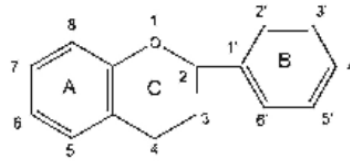
Alkaloid ialah senyawa organik metabolit sekunder yang dalam struktur molekulnya terdapat atom Nitrogen (struktur kimianya membentuk cincin heterosiklik), dan bersifat basa. C, H, N, dan O ialah unsur-unsur penyusun alkaloid. Alkaloid mempunyai atom Nitrogen pada struktur kimianya sehingga alkaloid bersifat alkali dan dapat membentuk kompleks yang tidak larut dengan logam-logam berat (Sumardjo, 2009).

“Alkaloid kebanyakan bersifat racun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa tanpa warna, sering kali bersifat optik aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar” (Sabirin, *et al.*, 1994 dalam Minarno, 2015).

“Alkaloid mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya ialah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dan pada akhirnya bakteri akan mati” (Retnowati, Bialangi dan Posang, 2011).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang menghasilkan pigmen warna beragam pada tanaman polifenol dengan kerangka C6-C3-C6. Flavonoid memiliki berbagai macam struktur, tetapi umumnya memiliki struktur dasar:



Gambar 2. Struktur Flavonoid

“Senyawa flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel bakteri. Mekanisme kerja senyawa ini dengan cara merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu dan protein tidak dapat berfungsi lagi, oleh sebab itu terjadi denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri” (Heni, Arreneuz dan Zaharah, 2015).

c. Saponin

Saponin ialah sekumpulan glikosida tumbuhan yang bisa larut dalam air dan bisa melekat pada triterpenoid (C30) atau steroid lipofilik (C27). “Asimetri hidrofobikhidrofilik artinya bahwasanya senyawa ini mempunyai kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun. Mereka akan membentuk busa dalam larutan berair, Bagian aglikon dari molekul saponin disebut genin atau sapogenin” (Hoffmann, 2003).

“Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sel, menyebabkan membran sel mengalami lisis akibatnya keluar bermacam komponen penting dari dalam sel bakteri yakni nukleotida, asam nukleat dan protein” (Kurniawan dan Aryana, 2015).

d. Tanin

“Tanin ialah senyawa polifenol (C6-C3-C6) yang dapat mengendapkan protein, membentuk kompleks dengan polisakarida,

terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam. Namun fenolat lain, seperti pirogalol dan resorsinol, juga mengikat dan mengendapkan protein. Selain itu, tidak semua polifenol mengendapkan protein atau membentuk kompleks dengan polisakarida” (Hoffmann, 2003).

“Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tannin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri menjadi lisis. Tanin juga mempunyai sifat dapat menginaktifkan adhesin sehinggabakteri tidak dapat melekat pada sel inang dan menginaktifkan enzim protease” (Sujatmiko, 2014).

e. Terpenoid

“Terpenoid merupakan komponen minyak terbang. Minyak ini terdapat dalam bunga, daun, dan akar berbagai jenis tanaman. Senyawa terpena dan turunannya juga terdapat di dalam kayu, misalnya dalam kayu kapur barus, dan kayu cendana atau dalam getah dammar pohon pinus” (Sumardjo, 2009).

Menurut Cowan (1999) “mekanisme antibakteri terpenoid yakni melalui membran sel dikarenakan sifat senyawa triterpenoid lebih lipofilik. Kerusakan pada membran sel terjadi ketika bahan kimia aktif antibakteri bergabung dengan bagian aktif membran atau ketika kandungan lipid dilarutkan dan permeabilitasnya meningkat. Peningkatan permeabilitas memungkinkan senyawa antibakteri memasuki sel kemudian senyawa tersebut melisiskan membran sel.”

2.2. Bakteri

2.2.1. Definisi

Menurut Kemenkes RI (2017) “Bakteri merupakan mikroba yang umumnya berbentuk 1-sel/sel tunggal/uniseluler, tidak mempunyai inti sel tetapi mempunyai peptidoglikan. Didalam sitoplasma terdapat DNA maupun RNA dan struktur intra sel yang diperlukan untuk

metabolisme, reproduksi secara aseksual melalui replikasi DNA dan pembelahan sel sederhana. Beberapa bakteri membentuk kapsul yang mengelilingi dinding sel sehingga bakteri tersebut lebih tahan terhadap serangan sistem imun pejamu. Bakteri bersifat aerob atau anaerob, seringkali bakteri mengeluarkan toksin yang secara spesifik merusak pejamu. Bakteri tidak mempunyai klorofil, berkembangbiak dengan pembelahan sel atau biner. Karena tidak mempunyai klorofil, bakteri hidup sebagai jasad yang saprofitik ataupun sebagai jasad yang parasitik. Tempat hidupnya tersebar di mana-mana, yakni di udara, di dalam tanah, didalam air, pada bahan-bahan, pada tanaman ataupun pada tubuh manusia atau hewan.”

Laboratorium sering mengklasifikasikan bakteri menjadi bakteri gram positif atau negatif. Bakteri gram positif melakukan eksotoksin yang membunuh sel-sel pejamu, dan memberi warna ungu pada warna standar laboratorium. Bakteri gram negatif mempunyai warna merah pada warna laboratorium yang kedua karena dinding selnya mengandung protein yang dapat merangsang respon peradangan (endotoksin), juga mengsekresi eksotoksin.

2.2.2. Klasifikasi Bakteri

Klasifikasi dalam buku bakteriologi oleh Boleng (2015) ialah “suatu istilah yang berkaitan dengan taksonomi. Taksonomi ialah ilmu mengenai klasifikasi atau penataan sistematik organisme ke dalam kelompok atau kategori yang disebut taksa (tunggal: takson). Sistem klasifikasi biologis didasarkan pada hierarki taksonomi atau kategori yang menempatkan spesies pada satu ujung dan dunia di ujung lainnya dalam urutan tertentu”. Urutan yang dimaksud ialah:

- Spesies: ialah sekumpulan organisme berkerabat dekat (untuk tujuan spesies bakteri) yang dalam sebagian besar ciri-cirinya tiap individu di dalam kelompok itu serupa.
- Genus: ialah sekumpulan spesies yang serupa

- Famili: ialah sekumpulan genus yang serupa
- Ordo: ialah sekumpulan famili yang sejenis
- Kelas: ialah sekumpulan ordo yang serupa
- Filum atau divisi : ialah sekumpulan kelas yang berkerabat

Penamaan bakteri terdiri dari nama jenis (genus), spesies dan galur (strain). Genus dan epitet spesies dicetak miring. Nama genus huruf pertamanya ditulis menggunakan huruf kapital; nama epitet spesies ditulis menggunakan huruf kecil. Nama spesies terkadang menunjukkan penemu, warna, ataupun sifatnya. Contohnya ialah, *Mycobacterium tuberculosis* (penyebab tuberculosis) (Boleng, 2015).

Kriteria klasifikasi bakteri sebagai berikut:

1. Sumber energi: fototropik, kemotropik, autotropik, dan heterotrofrik.
2. Kebutuhan gizi: sederhana, atau rumit.
3. Kemampuan untuk tumbuh dalam jaringan hidup: saprofit atau parasit.
4. Suhu pertumbuhan: psikrofilik, mesofilik, dan termofilik.
5. Kebutuhan oksigen: aerob atau anaerob.

Kriteria klasifikasi bakteri ada beberapa cara lain, yakni:

1. Klasifikasi biologis : Didasarkan pada sifat-sifat yang diamati, misalnya sifat-sifat fisiologis, imunologis, dan ekologis.
2. Klasifikasi morfologis : Bakteri dapat dibagi dalam 2 kelompok.
 - a. Kuman golongan tinggi, berupa filamen dan tumbuh dengan membuat cabang membentuk miselium; misalnya Actinomycetes. Organisme yang berbentuk miselium sejati diantara Actinomycetales, dibagi dalam dua kelompok :

- 1) Miselium vegetatif terpotong-potong menjadi fragmen-fragmen berbentuk basil atau kokus yang bersifat Gram negatif.
 - 2) Miselium vegetatif tidak terpotong-potong menjadi bentuk basil atau kokus.
- b. Bakteri lebih rendah atau bakteri sejati, terdiri dari satu seldan tidak pernah membuat miselium. Kelompok ini dibagi-bagi lagi berdasarkan bentuknya.
- 1) Kokus = berbentuk bulat
 - 2) Basil = berbentuk batang
 - 3) Vibrio = berbentuk koma
 - 4) Spirillum = berbentuk ulir tidak dapat membengkok
 - 5) Siproketa = berbentuk ulir langsing dapat membengkok

Kokus dapat terlihat susunannya sebagai berikut:

- Diplokokus: bidang pembelahannya hanya satu, misalnya *Pneumokokus*.
- Streptokokus: kokus yang tersusun dalam bentuk rantai, contohnya *Streptococcus hemolyticus*, *S. viridians*.
- Staphylokokus: kokus tersusun bergerombol, contohnya ialah *Staphylococcus aureus*, *S. albus*.
- Tetrakokus: kokus tersusun empat-empat, contohnya ialah *Micrococcus tetragen*.

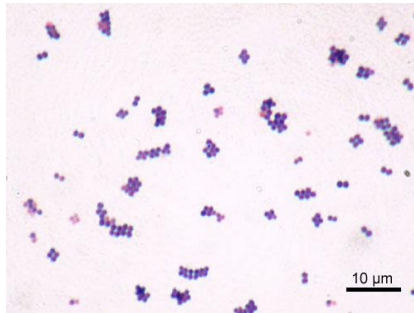
Kokus-kokus kemudian dibagi lagi menjadi kokus Gram positif atau Gram negatif (Boleng, 2015).

2.2.3. Bakteri Uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai klasifikasi berikut :

- Domain : *Bacteria*
- Kerajaan : *Eubacteria*
- Filum : *Firmicutes*
- Kelas : *Bacilli*

- Ordo : *Bacillales*
- Famili : *Staphylococcaceae*
- Genus : *Staphylococcus*
- Spesies : *Staphylococcus aureus* (Soedarto, 2015)



Gambar 3. *Staphylococcus aureus*

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_Gram.jpg)

Staphylococcus aureus, dalam bahasa Yunani “Staphyle” yang berarti “anggur” dan “coccus” artinya “bulat/bola”. “Aureus” yang berarti “emas/seperti” matahari karena termasuk spesies yang menghasilkan pigmen kuning. *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri gram positif bersifat anaerob fakultatif dengan diameter 0,5-1,0 μm, berbentuk bundar, koloni menyerupai buah anggur, tidak motil dan tidak membentuk spora. Bakteri ini tergolong mikroflora normal manusia yang ada di saluran pernapasan atas dan kulit (Jawetz *et al.*, 2014). Kontaminasi bakteri dapat menyebabkan penyakit infeksi, salah satunya karena bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat diasosiasikan dengan beberapa kondisi diantaranya pneumonia, jerawat, bisul, arthritis, dan meningitis. “*Staphylococcus aureus* juga menghasilkan katalase yakni enzim yang mengkonversi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , dan koagulase, enzim yang menyebabkan fibrin berkoagulasi dan mengumpal”.(Jawetz, *et al*, 2005).

2.2.3.1. Sifat Biakan

“*Staphylococcus aureus* tumbuh baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Koloni

akan tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur kamar (20°C - 25°C) koloni pada media padat akan berbentuk bulat, lembut dan mengkilat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan” (Jawetz, *et al.*, 2014).

2.2.3.2. Enzim & Toksin

Staphylococcus dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya untuk berkembang biak dan menyebar luas di jaringan dengan cara menghasilkan berbagai substansi seperti enzim dan toksin, serta beberapa zat yang diproduksi, antara lain:

a. Katalase

Merupakan enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase untuk membedakan *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*.

b. Koagulase dan Faktor Penggumpal

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, suatu protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Bakteri yang membentuk koagulase dianggap sebagai patogen invasif.

c. Enzim Lain

Enzim-enzim lain yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* antara lain ialah hialuronidase, atau faktor penyebar; stafilokinase menyebabkan fibrinolisis tetapi bekerja jauh lebih lambat daripada streptokinase; proteinase; lipase; dan b-laktamase.

d. Eksotoksin

Eksotoksin terdiri atas α -hemolisin, β -hemolisin, dan δ -hemolisin. α -hemolisin dapat menyebabkan nekrosis pada kulit manusia dan hewan. β -hemolisin dapat melisiskan sel darah merah domba dan sapi setelah inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dan

18 jam pada suhu 10°C. δ -hemolisin dapat melisis sel darah manusia dan kelinci.

e. Leukosidin

Leukosidin dapat merusak sel darah putih berbagai jenis hewan. Ada tiga tipe leukosidin, yakni sebagai berikut :

1. Toksin yang identik dengan α -hemolisin
2. Toksin yang identik dengan δ -hemolisin, bersifat termotabil, dan menyebabkan perubahan morfologi semua tipe sel darah putih, kecuali yang berasal dari domba.
3. Toksin yang hanya merusak sel darah putih manusia dan kelinci tanpa aktivitas hemolitik.

f. Toksin eksfoliatif

Toksin epidermolitik *Staphylococcus aureus* ini ialah dua protein berbeda. Toksin A epidermolitik merupakan suatu produk gen kromosom dan bersifat stabil-panas (tahan pendidihan selama 20 menit). Toksin B epidermolitik diperantarai oleh plasmid dan labil-panas. Kedua toksin ini dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis dan menjadi penyebab Staphylococcal Scalded Skin Syndrome, yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

g. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

h. Enterotoksin

Enterotoksin ialah enzim yang tahan panas dan suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz, *et al.*, 2014).

2.2.3.3. Patogenesis

Staphylococcus, terutama *Staphylococcus aureus* ditemukan dalam hidung pada 20-50% manusia. Kemampuan patogenik *Staphylococcus aureus* mempunyai kemampuan patogenik tertentu yang merupakan gabungan efek faktor ekstraselular dan racun serta sifat invasif strain tersebut. *Staphylococcus aureus* yang patogen dan invasif menghasilkan koagulase, pigmen kuning dan bersifat hemolitik. (Jawetz, *et al.*, 2014).

2.3. Simplisia dan Metode Penyarian

2.3.1. Simplisia

Dalam buku Materia Medika Indonesia “simplisia ialah bahan alamiah yang telah dikeringkan, digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain.” Simplisia dibagi menjadi simplisia pelikan (mineral), simplisia hewani dan simplisia nabati. Simplisia nabati terdiri dari tumbuhan lengkap, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang keluar secara spontan dari tumbuhan, atau dipisahkan dengan cara khusus dari selnya, ataupun komponen nabati lain yang telah dikeluarkan dengan cara khusus dari tumbuhan tetapi belum berbentuk senyawa kimia murni. “Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-anginkan, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°” (Kemenkes RI, 2017). “Simplisia hewani ialah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) ialah simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni” (Depkes RI, 1985).

2.3.2. Metode Penyarian

Pada umumnya tahap-tahap dalam pembuatan simplisia ialah sebagai berikut (Emilan,*et al.*,2011). :

1. Pengumpulan bahan baku

Pengumpulan bahan dapat berasal dari tanaman budidaya ataupun tanaman liar. Waktu panen yang tepat juga dapat memengaruhi khasiat bahan yang dikandung karena kandungan kimia tanaman tidak sama sepanjang waktu (Emilan,*et al.*,2011).

Kemampuan senyawa aktif dalam suatu simplisia tergantung pada :

1. Bagian tumbuhan yang digunakan
2. Umur dan bagian tanaman pada saat panen
3. Waktu panen
4. Lingkungan tempat tanaman hidup.

Tabel 1. Bagian Tanaman, Cara Pengumpulan, Kadar Air Simplisia

No.	Bagian Tanaman	Cara Pengumpulan	Kadar Air Simplisia
1.	Kulit Batang	Kupas batang dan cabang utama dengan panjang dan lebar tertentu; pengelupasan non-logam digunakan pada kulit kayu yang mengandung minyak astiri atau golongan senyawa fenol.	<10%
2.	Batang	Potong cabang dengan panjang dan diameter cabang yang ditentukan.	<10%
3.	Kayu	Potong kecil-kecil atau serut batang atau cabangnya setelah kulitnya dikupas.	<10%
4.	Daun	Tua atau muda (daerah pucuk), satu demi satu dipetik menggunakan tangan.	<5%
5.	Bunga	Dipetik menggunakan tangan baik kuncup, bunga mekar, daun bunga, ataupun mahkota bunga,	<5%
6.	Pucuk	Pucuk berbunga; dipetik menggunakan tangan (disertai bunga dan daun muda).	<8%
7.	Akar	Potong dari bawah permukaan tanah dengan ukuran yang ditentukan.	<10%
8.	Rimpang	Mencabut, membersihkan dari akar, memotong melintang dengan ketebalan tertentu.	<8%
9.	Buah	Dipetik menggunakan tangan, baik buah masak maupun hampir masak;	<8%

10.	Biji	Memetik buah; kulit buah dikupas dengan tangan, penggilas, atau pisau, kumpulkan biji dan dibersihkan	<10%
11.	Kulit Buah	Kulit buah dikumpulkan dan dibersihkan layaknya biji.	<8%
12.	Bulbus	Mencabut tanaman, memisahkan bulbus dari akar dan daun dengan memotongnya, lalu dibersihkan.	

(Depkes RI, 1985)

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memilah bahan asing, kotoran, atau elemen tumbuhan lainnya yang ikut terbawa dari bahan simplisia. Bahan utama simplisia yang digunakan haruslah bahan yang bersih artinya tidak tercampur dengan rumput, kerikil, tanah, akar, daun, batang yang telah rusak atau zat pengotor baik itu serangga atau lainnya (Emilan,*et al.*,2011).

3. Pencucian

Pencucian dilakukan guna membuang pengotoran lainnya yang menempel di bahan simplisia. Pencucian dilakukan menggunakan air mengalir dan waktu yang singkat dengan tujuan guna membuang pengotor maupun mikroba, namun tidak menghilangkan zat khasiat simplisia (Rivai,*et al.*, 2014).

4. Perajangan

Sejumlah jenis bahan simplisia perlu dirubah ke bentuk lain guna mengecilkan ukuran dan meluaskan permukaan simplisia untuk memudahkan proses ekstraksi. Perajangan bahan baku simplisia dilakukan agar memudahkan proses mengeringkan, mengepak, menggiling, penyimpanan, pengolahan juga memperbaiki penampilan fisik dan memenuhi standar kualitas (Rivai *et al.*, 2014) .

Tumbuhan yang baru diambil sebaiknya tidak langsung dilakukan perajangan namun dilakukan penjemuran dahulu dengan sinar matahari selama satu hari dalam keadaan utuh untuk mengurangi kontak warna akibat reaksi antara logam

pisau dan bahan. Selama proses perajangan semestinya mikroba tidak mengalami penambahan jumlah (Depkes RI, 1985).

5. Pengeringan

Pengeringan bertujuan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur) juga memperoleh simplisia yang tahan lama dan tidak mudah rusak. Dengan menurunkan kadar air dan menghentikan aktivitas enzimatik, kita dapat menghindari kerusakan atau penurunan mutu pada simplisia. Bahan baku simplisia akan dikatakan kering jika kadar air $< 10\%$. Pengeringan jangan dilakukan dibawah sinar matahari langsung, lebih baik dilakukan dalam lemari pengering lengkap dengan kipas penyedot udara untuk memastikan sirkulasi yang baik, namun dapat dilakukan dengan syarat ditutup dengan kain hitam agar tidak terkena debu dan untuk menghindari terurainya kandungan kimia (Emilan,*et al.*, 2011).

Poin-poin yang harus diperhatikan saat proses pengeringan: “suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan”. (Depkes RI, 1985).

Proses pengeringan yang salah bisa menimbulkan "Face hardening", yakni bagian luar bahan kering sementara dalamnya basah. Face hardening bisa menimbulkan kerusakan atau kebusukan bahan (Depkes RI, 1985).

Suhu optimal untuk mengeringkan simplisia ialah antara 30°C dan 90°C , namun tidak $> 60^{\circ}\text{C}$. Senyawa aktif tak tahan panas atau mudah menguap yang terkandung dalam bahan simplisia harus dilakukan pengeringan dengan suhu antara 30°C - 45°C (Depkes RI, 1985).

6. Sortasi kering

Menurut Emilan,*et al.* (2011) Dilakukan sortasi simplisia sekali lagi guna memilah kotoran, bahan organik asing dan simplisia yang mengalami kerusakan karena proses sebelumnya.

Tujuan sortasi guna memilah benda-benda asing yang masih tersisa di simplisia kering, sortasi dapat dilakukan secara mekanik (Depkes RI, 1985).

7. Pengepakan & Penyimpanan

Pada tahap ini simplisia akan disimpan dengan tujuan mempertahankan kualitas serta kandungan senyawa kimia (Katno, 2008). Simplisia bisa rusak atau mutunya berubah dan tidak lagi memenuhi syarat yang ditentukan karena berbagai faktor, di antaranya : “Cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, kapang” (Depkes RI, 1985).

Oleh karena itu penyimpanan simplisia harus memperhatikan berbagai faktor, yakni persyaratan gudang simplisia, pembungkusan, prosedur pengepakan, prosedur penyortiran dan pemeriksaan mutu, serta prosedur pengawetan (Depkes RI, 1985).

Tempat penyimpanan harus bersifat tidak beracun serta tidak bereaksi (inert) terhadap isinya untuk menghindari reaksi dan penyimpangan rasa, bau, dan warna pada simplisia. Selain itu, simplisia harus terlindung dari cemaran mikroba, serangga, dan kotoran, sekaligus menjaga bahan kimia aktif yang mudah menguap dan mencegah dampak cahaya dan uap air terhadap penurunan mutu simplisia (Depkes RI, 1985).

8. Pemeriksaan Mutu

Produk simplisia diperiksa kualitasnya pada saat diterima atau dibeli dari pengumpul atau penjual simplisia. Simplisia yang diterima harus murni dan memenuhi syarat

umum simplisia sebagaimana tercantum dalam Materia Medika Indonesia Edisi terakhir, Ekstra Farmakope Indonesia ataupun Buku Farmakope Indonesia. (Depkes RI, 1985).

2.3.3. Cairan Penyari

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak ialah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (Depkes RI, 2000).

Pada prinsipnya penyari wajib memenuhi persyaratan kefarmasian atau "pharmaceutical grade". Sampai saat ini aturan yang berlaku bahwasanya pelarut yang diperbolehkan ialah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol dll (alkohol turunannya), heksana dll. (hidrokarbon aliphatik), toluen dll. (hidrokarbon aromatik), kloroform dan golongannya, aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus metanol, dihindari penggunaannya karena sifatnya yang toksik akut dan kronik, namun demikian jika dalam uji ada sisa pelarut dalam ekstrak menunjukkan negatif, maka metanol sebenarnya pelarut yang lebih baik dari etanol (Depkes RI, 2000).

2.3.3.1 Macam-Macam Cairan Penyari

a) Air

Ialah pelarut dengan pemakaian yang luas, mudah digunakan serta murah. Air ialah pelarut yang baik untuk berbagai macam zat pada suhu kamar, air yang hangat akan mempercepat kelarutan suatu zat karena apabila suhu cairan kembali ke suhu kamar, maka zat yang tertarik akan mengendap.

Kelebihan pelarutan menggunakan air bahwasanya jenis seperti gula, gom, garam mineral, asam tumbuhan dan zat-zat warna akan larut terlebih dulu dan larutan yang dihasilkan bisa melarutkan senyawa lainnya lebih efektif dibanding oleh air saja. Kelemahan pelarutan menggunakan air ialah dapat menarik media yang ideal untuk tumbuhnya bakteri dan jamur, akibatnya mempersulit penarikan pada perkolasi karena simplisia telah mengembang (Syamsuni, 2006).

b) Etanol

Etanol ialah pelarut yang baik untuk melarutkan damar-damar, glikosida, alkaloid, minyak atsiri namun tidak efektif untuk melarutkan albumin, gula, dan gom. Etanol juga menghambat aktivitas enzim, terutama yang terlibat dalam fermentasi, dan menghambat perkembangan jamur juga sebagian besar bakteri. Sehingga digunakan juga sebagai pengawet selain sebagai pelarut. “Campuran air-etanol (*hidroalkoholic menstrum*) lebih baik dari pada air sendiri” (Syamsuni, 2006).

Etanol ialah pelarut yang sangat baik untuk alkaloid, glikosida, resin, dan minyak esensial namun tidak efektif untuk melarutkan albumin, gula, dan gom. Etanol juga menghambat aktivitas enzim, terutama yang terlibat dalam fermentasi, dan menghambat perkembangan jamur juga sebagian besar bakteri. Akibatnya, itu digunakan sebagai pelarut dan juga pengawet. “Campuran air dan etanol (*hydroalcoholic menstruum*) lebih disukai daripada air saja” (Syamsuni, 2006).

c) Gliserin

Utamanya digunakan sebagai pelarut tambahan dalam cairan hidroalkoholik untuk ekstraksi simplisia dengan kandungan zat samak. Gliserin ialah pelarut yang baik untuk albumin, jenis-jenis gom dan tanin-tanin oksidanya. Cairan ini tidak cocok untuk produksi ekstrak kering dikarenakan sifatnya yang tidak mudah menguap (Syamsuni, 2006).

d) Eter

Kebanyakan zat dalam simplisia tidak larut dalam cairan ini, tetapi alkaloid basa, lemak-lemak, damar, dan minyak-minyak atsiri mempunyai kelarutan yang baik. Karena eter mempunyai sifat sangat atsiri, disamping mempunyai efek farmakologi, cairan ini kurang tepat digunakan sebagai cairan sediaan galenik cair, baik untuk pemakaian dalam maupun untuk sediaan yang nantinya disimpan lama (Syamsuni, 2006).

e) *Solvent Hexane*

Merupakan pelarut yang baik untuk lemak-lemak dan minyak-minyak. Cairan ini salah satu hasil dari penyulingan minyak tanah kasar. Biasanya digunakan hanya untuk mengawallekan simplisia yang mengandung lemak-lemak yang tidak diperlukan sebelum simplisia tersebut dibuat sediaan galeniknya (Syamsuni, 2006).

f) Aseton

Merupakan pelarut yang baik untuk berbagai lemak, minyak atsiri, dan damar. Tidak digunakan untuk sediaan galenik obat dalam. Baunya kurang enak dan sukar hilang dari sediaan (Syamsuni, 2006).

g) Kloroform

Merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid basa, damar, minyak lemak, dan minyak atsiri. Tidak digunakan untuk sediaan dalam karena mempunyai efek farmakologi (Syamsuni, 2006).

2.3.3.2 Faktor-Faktor Pemilihan Cairan Penyari

Untuk menentukan cairan penyari yang digunakan, beberapa perlu diperhatikan beberapa faktor yakni: Kelarutan zat-zat dalam cairan penyari, tidak menyebabkan zat-zat berkhasiat tersebut rusak (perubahan warna, pengendapan, hidrolisis), harga yang murah, dan jenis preparat yang akan dibuat (Syamsuni, 2006).

Untuk memilih cairan penyari, banyak variabel harus dipertimbangkan, termasuk kelarutan zat dalam cairan penyari, jenis preparat yang akan dibuat, kemampuan pelarut untuk menghindari kerusakan zat berkhasiat (hidrolisis, pengendapan, atau perubahan warna), dan keterjangkauan harga (Syamsuni, 2006).

2.4. Ekstraksi dan Ekstrak

2.4.1. Ekstraksi

Menurut Depkes RI (2000) “ekstraksi ialah kegiatan penarikan kandungan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ekstraksi dapat dilakukan dengan macam-macam metode tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan”.

Khusus bahan yang asalnya dari tumbuhan , proses ekstrasinya berikut ini (Mukhriani, 2014) :

1. Pengkategorian bagian tanaman, pengeringan dan penggilingan bagian tanaman
2. Pemilihan menstrum
3. Pelarut polar : air, etanol, metanol
4. Pelarut semipolar : diklorometan, etil asetat
5. Pelarut nonpolar : kloroform, petroleum eter, n-heksan

2.4.2. Metode Ekstraksi

Dibawah ini ialah jenis-jenis ekstraksi menurut Marjoni (2016) dalam Agustini N,P,E (2018) :

a. Berdasarkan bentuk materi

1) Ekstraksi padat-cair

Prosedur ini mencakup penggabungan zat padat ke dalam campuran dan diperlukan kontak yang cukup lama antara pelarut dan zat padat. Keberhasilan proses ekstraksi

sebagian besar ditentukan oleh sifat zat alami dan sifat zat yang akan diekstraksi.

2) Ekstraksi cair-cair

Dilakukannya ekstraksi ini jika materi yang akan diekstraksi memiliki bentuk liquid dalam campurannya.

b. Berdasarkan penggunaan kalor

1) Ekstraksi secara dingin

Pendekatan ini dimaksudkan untuk mengekstrak senyawa kimia termolabil yang ditemukan dalam simplisia. Beberapa cara yang dilakukan dalam ekstraksi ini antara lain:

a) Maserasi

Maserasi ialah metode ekstraksi zat aktif sederhana dari simplisia yang direndam dalam pelarut dengan waktu tertentu pada suhu kamar dan jauh dari sinar matahari langsung. Prinsip kerjanya ialah melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutan (*like dissolved like*).

Pelarut akan menembus dinding sel tumbuhan yang mengandung bahan aktif. Ketika bahan aktif dan pelarut bertemu, terjadi proses pelarutan yakni zat aktif terlarut dalam pelarut.

b) Perkolasi

Perkolasi ialah proses ekstraksi dengan cara mengalirkan pelarut secara berlanjut pada simplisia dalam waktu yang telah ditentukan.

2) Ekstraksi secara panas

Ekstraksi panas digunakan jika senyawa dalam simplisia telah dipastikan tahan panas. Metode ini antara lain:

a) Seduhan

Merupakan metode ekstraksi yang hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu .

b) *Coque* (penggodokan)

Merupakan ekstraksi dengan cara merebus simplisia dengan api langsung dan hasilnya dapat digunakan sebagai obat baik termasuk ampasnya atau hanya hasil rebusannya saja tanpa ampas .

c) Infusa

Infusa ialah sediaan cair yang dibuat dengan cara simplisia nabati disari menggunakan air pada suhu 90°C selama 15 menit .

d) Digesti

Digesti merupakan proses ekstraksi seperti meserasi namun dengan pemanasan rendah (30-40°C).

e) Dekokta

Proses ekstraksi dekokta seperti infusa, hanya saja waktu pemanasan dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yakni 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini proses penyariannya kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil sehingga sudah sangat jarang digunakan.

f) Refluks

Refluks ialah proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya kondensor. Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk ekstraksi yang cukup sempurna .

g) Soxhletasi

Soxhletasi memakai peralatan khusus yang disebut ekstraktor *soxhlet*. Suhu yang digunakan dalam

prosedur ini lebih rendah dibanding yang digunakan dalam metode refluks.

2.4.3. Ekstrak

Ekstrak dikategorikan berdasarkan sifatnya, yakni ekstrak kering, ekstrak kental, dan ekstrak encer yang dibuat dengan melakukan ekstraksi pada senyawa aktif dari simplisia dengan pelarut yang sesuai diluar pengaruh sinar matahari langsung, kemudian seluruh pelarut diuapkan dan hanya menyisakan massa (Depkes RI, 2000).

2.5. Skrining Fitokimia

Fitokimia ialah ilmu pengetahuan yang mendeskripsikan aspek kimia suatu tumbuhan. Ilmu fitokimia meliputi uraian yang mencakup beragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme termasuk struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Skrining fitokimia merupakan langkah persiapan yang bisa dipakai untuk identifikasi metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia dapat dilakukan secara kualitatif, semi kuantitatif, dan kuantitatif sesuai dengan tujuan yang diinginkan. “Hal penting yang memengaruhi proses skrining fitokimia ialah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi” (Kristianti,*et al.*,2008).

Teknik skrining fitokimia wajib memenuhi kriteria sebagai berikut: cepat, sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, peralatannya sederhana, mempunyai batas limit deteksi yang cukup luas (dalam konsentrasi kecil). Kesulitan pada proses skrining fitokimia ialah jika pemilihan pelarut hanya didasarkan pada ketentuan derajat kelarutan suatu senyawa yang diteliti secara umum dan adanya hasil positif yang palsu. Juga harus diwaspadai hasil negatif, apakah senyawa yang diteliti benar-benar tidak ada dalam sampel atau hasil yang negatif itu disebabkan

karena prosedur skrining yang digunakan tidak sesuai (Kemenkes RI, 2016).

2.6. Fraksinasi

Fraksinasi ialah teknik untuk memilah komponen dari ekstrak yang diekstraksi. Fraksinasi digunakan untuk memilah golongan pokok kandungan dari golongan pokok lain didasarkan pada polaritas yang berbeda. Teknik fraksinasi yang paling sering digunakan ialah kromatografi dan ekstraksi cair-cair. (Harborne, 1987:7-8 dalam Wulandari *et al.*, 2017).

Fraksinasi dapat dilakukan menggunakan beberapa metode berikut : (Sarker SD *et al.*, 2006).

a. Metode Cair-cair

Metode cair-cair merupakan suatu metode pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang mana tidak saling tercampur. Komponen kimia tersebut akan terpisah kedalam dua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (J.Fritz & Dolores H. Russ, 1997).

b. Kromatografi Vakum Cair (KCV)

KCV umum digunakan untuk fraksinasi sampel dalam jumlah besar yakni sekitar 10-50 g yang merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi. Kolom yang digunakan biasanya terbuat dari gelas dengan lapisan berpori pada bagian bawah, mempunyai ukuran kolom yang bervariasi tergantung kolomnya (Atun, 2014).

c. Kromatografi Kolom

“Kromatografi kolom ialah salah satu contoh kromatografi adsorpsi, dimana senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi kolom mempunyai mekanisme yang sama dengan jenis kromatografi lainnya yakni berkaitan dengan perbedaan gaya antar molekul dalam sampel dengan fase gerak dan antara komponen dengan fase diam. Prinsip kerjanya yakni zat cair sebagai fase gerak akan membawa senyawa mengalir

melalui fase diam sehingga terjadi interaksi berupa adsorpsi senyawa tersebut oleh padatan kolom” (Rubiyanto D, 2016).

2.7. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) pertama kali ditemukan oleh Izmailoff dan Scharaiber (1938) melalui teknik sederhana yakni memilah ekstrak tumbuhan menggunakan aluminium oksida yang ditempatkan di atas substrat kaca. Sorben diaplikasikan sebagai lapisan padat berair setebal 2 mm pada objek kaca mikroskop. Sampel (ekstrak tanaman) ditambahkan ke lapisan terlebih dahulu, diikuti dengan penambahan pelarut (metanol) tetes demi tetes dari atas. Lapisan sorben menghasilkan rangkaian cincin melingkar dalam bentuk lapisan berwarna. Jika dibandingkan dengan kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis (KLT) lebih cepat, mudah, dan membutuhkan lebih sedikit peralatan (Wulandari L, 2011).

Teknik lempeng KLT pertama kali dikomersilkan pada tahun 1965 dan mulai diakui sebagai cara yang relatif murah dan cepat untuk teknik pemisahan sampel (Wulandari L, 2011).

Mekanisme kerja KLT diawali dengan menotolkan sampel kecil pada ujung fase diam (lempeng KLT) untuk membuat zona awal. Setelah itu sampel kering, ujung fase diam dicelupkan kedalam fase gerak (pelarut tunggal/campuran 2-4 pelarut murni) didalam *chamber*. Ketika fase gerak telah mencapai jarak yang diperlukan, fase diam diambil dan fase gerak yang terperangkap dikeringkan; zona yang diciptakan kemudian dilakukan pendeteksian secara visual atau di bawah sinar UV, dengan atau tanpa pereaksi penampak noda yang sesuai (Wulandari L, 2011)

Persiapan sampel, persiapan *chamber*, persiapan eluen, persiapan lempeng KLT, penilaian noda, proses pengembangan sampel, dan aplikasi sampel ialah semua langkah yang harus dipenuhi dalam prosedur analisis KLT untuk menghasilkan temuan pemisahan sampel yang akurat. Identifikasi pertama suatu bahan kimia menggunakan KLT didasarkan

pada perbandingan nilai Rf dengan nilai Rf standar (Wulandari L, 2011). Nilai Rf (*Retardation factor*) menunjukkan lokasi noda pada fase diam setelah elusi. Nilai Rf analit ditentukan dengan melakukan perbandingan antara jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak/eluen. Retardasi faktor bisa dikuantifikasi sebagai rasio :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat pelarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (\text{Dean, 1995})$$

Nilai Rf mempunyai jangka antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. Nilai Rf terbaik antara 0,2- 0,8 untuk deteksi UV dan 0,2-0,9 untuk deteksi visibel serta 20-80 untuk Rf relatif pada deteksi UV. Pada Rf kurang 0,2 belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada Rf diatas 0,8 noda analit akan diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi dengan lampu UV. Sedangkan pada deteksi visibel Rf dapat lebih tinggi dari deteksi UV, hal ini disebabkan pengotor fase diam tidak bereaksi dengan penampak noda sehingga noda yang berada pada Rf 0,2 – 0,9 masih dapat diamati dengan baik. Dengan mengontrol kondisi pengembangan seperti kejenuhan chamber, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur konstan dan lain-lain akan didapat nilai Rf yang reproduisibel (Wulandari L, 2011).

“Prinsip KLT dan kromatografi kolom ialah apabila suatu cuplikan yang merupakan campuran dari beberapa komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, sedangkan komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama” (Hostettman,1995). Menurut Deinstrop (2007), KLT bisa digunakan apabila :

1. Jumlah sampel yang banyak harus diamati bersama, ekonomis dan dalam jangka waktu tertentu
2. Senyawa bersifat polar, semi polar, nonpolar atau ionik
3. Tingkat penguapan senyawanya rendah atau tidak menguap

4. Sesudah prosedur kromatografi, perlu untuk mendeteksi semua komponen sampel (berkenaan dengan nilai R_f).
5. Pelarut yang dipakai akan mengganggu penjerap dalam kolom kromatografi cair
6. Pada kromatografi gas (KG) atau kromatografi cair (KC), sampel yang dianalisis akan merusak kolom.
7. Setelah pemisahan, komponen senyawa akan diidentifikasi secara terpisah atau bergantian menggunakan teknik yang berbeda (misalnya drug screening).
8. Tidak ada arus listrik.

2.8. Media Pertumbuhan Bakteri

Media pertumbuhan mikroorganisme ialah kombinasi nutrisi (nutrient) yang digunakan mikroorganisme secara *in vitro* untuk tumbuh dan berkembang biak. (Kemenkes RI, 2017).

Syarat yang diperhatikan suatu media agar dapat mengembangbiakkan mikroorganisme dengan baik antara lain cukup kelembapan, pH yang sesuai, kadar oksigen bagus, steril dan media harus mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme. “Fungsi dari media yakni secara kualitatif digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme, sedangkan secara kuantitatif digunakan untuk perbanyakan dan perhitungan jumlah mikroorganisme” (Harti, 2014). “Sejumlah bakteri yang diinokulasikan pada sebuah media perbenihan disebut inokulum. Bakteri yang tumbuh dan berkembang biak dalam media perbenihan itu disebut biakan bakteri” (Radji, 2010).

Unsur-unsur yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhan mencakup N, C, unsur non logam seperti F dan S, unsur logam seperti Na, Zn, Ca, Mn, Cu, K, Fe, dan Mg, energi, air, dan vitamin (Dwidjoseputro, 2005 dalam Juariah&Wulan, 2018).

Laju pertumbuhan bakteri bergantung pada kondisi lingkungan, apabila kondisi lingkungan mempunyai sedikit nutrisi maka pertumbuhan bakteri akan lebih lambat daripada pertumbuhan bakteri dengan medium

yang kaya nutrisi. Nutrisi pada medium biakan yang terus menipis dan adanya akumulasi produk sampingan yang terjadi terus menerus akan menyebabkan biakan mengalami fase kematian dimana jumlah sel menurun secara bertahap (A. T. & E. M. G. J.M.N. Llorens, 2010). Setelah fase kematian pada biakan, setiap sel bakteri mengalami lisis. Kultivasi mikroba dilakukan menggunakan bermacam media pertumbuhan (Madigan,D.P *et al.*,2012).

2.6.1 Macam-Macam Media

Media dapat dikelompokkan dalam beberapa kategori :

1. Berdasarkan asalnya , dibagi atas (Lay, 1996):
 - a. Media chemically defined yakni media dengan komposisi bahan yang ditambahkan diketahui dengan mendetail, contohnya: magnesium fosfat, kalium fosfat, glukosa.
 - b. Media kompleks yakni media yang kandungannya tidak diketahui secara detail menggunakan bahan yang ada di alam, antara lain : pepton, ekstrak daging, Nutrient Agar .
2. Berdasarkan fungsinya , dibagi atas (Pujiati, 2019) :
 - a. Medium diperkaya (enrichment medium), yakni medium yang ditambah zat-zat tertentu (serum, darah, ekstrak tumbuh-tumbuhan dll) sehingga dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroba heterotrof tertentu.
 - b. Medium selektif (selective medium), yakni medium yang ditambah zat kimia tertentu yang bersifat selektif untuk mencegah pertumbuhan mikroba lain, misalnya medium yang mengandung Kristal violet pada kadar tertentu dapat mencegah pertumbuhan bakteri gram positif tanpa memengaruhi pertumbuhan bakteri gram negatif.
 - c. Medium diferensiasi (diferensiasi medium), yakni medium yang ditambahkan zat kimia tertentu yang menyebabkan suatu mikroba membentuk pertumbuhan atau mengadakan perubahan tertentu sehingga dapat dibedakan tipe-tipenya (misalnya

medium agar darah dapat dipakai untuk membedakan bakteri hemolitik dan nonhemolitik).

- d. Medium penguji (assay medium), yakni medium dengan susunan tertentu yang digunakan untuk pengujian vitamin-vitamin, asam-asam amino, antibiotik dan lain-lain.
 - e. Medium umum, yakni medium yang dapat digunakan untuk menumbuhkan semua mikroba misalnya Nutrien Agar, PDA.
 - f. Medium khusus, yakni medium untuk menentukan pertumbuhan mikroba dan kemampuannya mengadakan perubahan-perubahan kimia tertentu.
3. Berdasarkan konsistensinya, dibagi atas (Kemenkes RI, 2017):
- a. Media solid merupakan media yang digunakan untuk kultur atau mempelajari koloni bakteri yang memiliki konsentrasi agar-agar yang tinggi atau zat pepadatan yang mengandung sekitar 15 persen agar-agar. Media ini bisa ditampung dalam cawan petri atau tabung. Media bisa berupa padatan datar, padatan miring, atau padatan tegak, dan sering digunakan untuk mengembangkan koloni bakteri atau kapang.
 - b. Media semi-solid mengandung kurang dari 0,3 sampai 0,4 persen agar, menghasilkan konsistensi kenyal yang tidak padat atau cair. Umumnya digunakan untuk mikroba yang membutuhkan konsentrasi air yang tinggi dan keberadaannya anaerobik atau fakultatif.
 - c. Media cair ialah media yang tidak termasuk pematat dan sering digunakan untuk pengembangan mikroalga. Media cair dipakai untuk perbenihan/memperkaya sebelum dikultur di media padat. Media ini tidak cocok untuk studi koloni. Contoh: 7H9 alkali pepton, media kaldu dan lain-lain.
4. Berdasarkan komposisinya, dibagi atas (Kemenkes RI, 2017) :
- a. Media alami terbuat dari bahan alam yang komposisinya tidak dapat ditentukan secara tepat dan sering diturunkan langsung dari unsur-unsur dasarnya, seperti: daging, tepung, sayur,

- kentang, ikan, telur, dan sebagainya. Contoh: Tomato juice agar.
- b. Media semi sintetik ialah media yang menggabungkan komponen alami dan sintetis. Contoh: Aquadest 1000 ml, ekstrak daging 10 g, NaCl 5 g, dan Kaldu nutrisi tersusun dari Pepton 10 g.
 - c. Media sintetik terbuat dari bahan kimia yang jenis dan konsentrasinya telah ditentukan terlebih dahulu. Contoh : Mac Conkey Agar.
5. Berdasarkan susunan kimianya, dibagi atas (Kemenkes RI, 2017):
- a. Media alami yakni media yang seluruhnya terbuat dari bahan alam, seperti kentang, daging, ikan, tepung, telur, dan umbi-umbian. Contoh yang paling banyak digunakan ialah telur untuk pertumbuhan serta perkembangbiakan virus.
 - b. Media sintetik yakni media yang tersusun oleh senyawa kimia. Contohnya media untuk pertumbuhan serta perkembangbiakan bakteri $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g; KH_2PO_4 0,5 g; *Clostridium* tersusun oleh K_2HPO_4 0,5 g; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g; NaCl 0,1 g; CaCO_3 seangin
 - c. Media semi sintetik yakni media yang menggabungkan komponen sintesis dan alami.

2.9. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Antibakteri ialah istilah umum merupakan bahan atau senyawa yang bisa membunuh ataupun menekan metabolisme bakteri (Boleng DT, 2015). “Aktivitas antibakteri dapat dibagi menjadi 2 macam yakni aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisida (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas)” (Karomah Siti, 2019).

Secara umum mekanisme kerja antibakteri dibagi lima menurut Jawetz *et al* (2005), yakni : Denaturasi protein, gangguan selaput atau

dinding sel, pemindahan gugus sulfhidril bebas, antagonis kimiawi, dan degradasi DNA.

Aktivitas antibakteri dapat dipelajari dengan beberapa metode, yakni metode difusi agar, metode dilusi dan metode difusi-dilusi. Yang sering digunakan ialah metode difusi. “Terdapat 3 cara metode difusi yang dapat dilakukan yakni metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder” (Pratiwi, 2008).

Salah satu pengujian antibakteri yang bisa dilakukan ialah menggunakan metode difusi cakram. Prinsip kerja metode ini ialah dengan mikroba uji. Kemudian, kertas cakram yang berisi senyawa uji dengan konsentrasi yang diinginkan ditempatkan pada permukaan agar, diinkubasi dalam waktu dan suhu yang sesuai, agen antibakteri terdifusi ke dalam media agar sehingga menghambat pertumbuhan mikroba uji. Hasil observasi yang didapat berupa ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Metode ini mempunyai keuntungan antara lain: kesederhanaan, dapat dilakukan lebih cepat pada penyiapan cakram, biaya rendah, kemampuannya menguji sejumlah besar mikroorganisme dan agen antimikroba, dan kemudahan untuk menginterpretasikan hasil yang diberikan (Balaouri, *et al.*, 2016).

Menurut Depkes RI (1998) “bakteri dikatakan peka terhadap antibakteri apabila mempunyai zona hambat 12-24 mm”, sementara itu menurut Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwasanya “apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar dengan kategori yang diklasifikasikan pada tabel berikut” :

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

Sumber: Davis and stout, 1971

2.10. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

KHM atau MIC (minimum inhibitory concentration) ialah konsentrasi terendah (dalam g/mL) zat antimikroba yang bisa menekan perkembangan bakteri tertentu setelah 24 jam inkubasi tanpa koloni bakteri yang terlihat, yang ditentukan oleh jumlah koloni bakteri yang tumbuh. KHM juga merupakan metode untuk menentukan konsentrasi antimikroba terendah yang diperlukan untuk menghambat perkembangan mikroorganisme. Dinyatakan bahwasanya proses ini digunakan untuk memastikan konsentrasi antibiotik yang masih efisien dalam mencegah perkembangan patogen dan menentukan dosis antibiotik yang efisien untuk pengendalian infeksi pada pasien (Davis & Stout, 1971).

Diamati selama masa inkubasi 1x24 jam, perhatikan zona bening yang terbentuk, menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik/zat antibakteri lain yang dipakai sebagai bahan uji. Data ini dilaporkan dalam lebar diameter zona hambat. Secara vertikal dan horizontal, diameter zona hambat dikuantifikasi dengan satuan milimeter menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat kemudian diklasifikasikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan (Davis & Stout, 1971).

$$\text{Zona hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - dc)}{2}$$

Dv = Diameter vertical

Dh = Diameter horizontal

Dc = Diameter cakram (Toy, Lampus, Hutagalung., 2015).

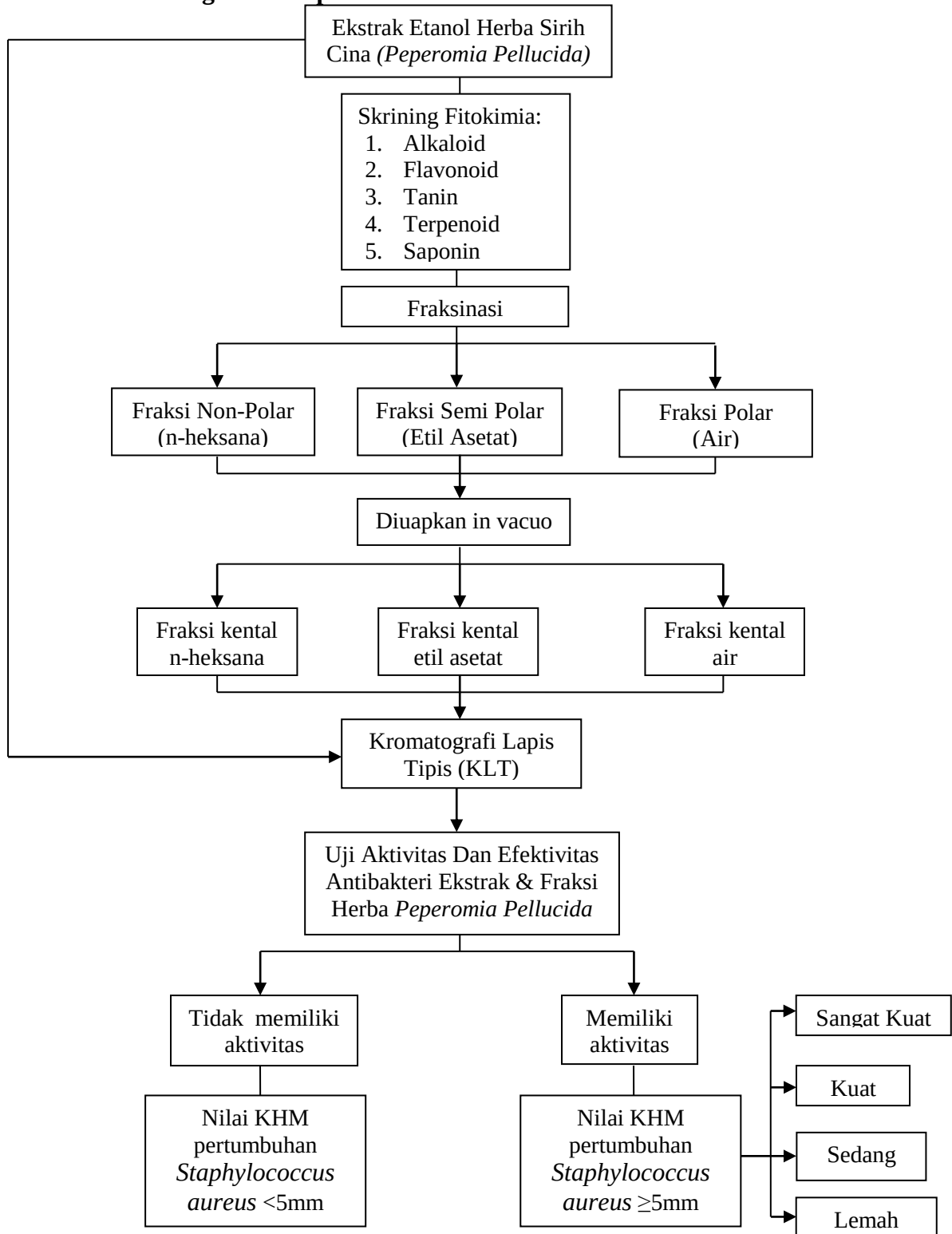
Menurut IDEEX Laboratories (2019) KHM membantu menentukan kelas antibiotik mana yang paling efektif. Informasi ini mengarah pada pilihan antibiotik yang tepat yang akan meningkatkan peluang keberhasilan pengobatan dan membantu dalam memerangi resistensi antibiotik. Nilai MIC di atas atau di bawah kisaran pengukuran ditunjukkan dengan "<=" (untuk di bawah kisaran, kategori rentan) atau dengan ">=" (di atas kisaran, dalam kategori resisten).

Ada tiga kategori interpretasi kerentanan masing-masing antibiotik: S (Sensitif), I (Menengah), R (Resisten). "Sensitif" mengartikan bahwasanya organisme dihambat oleh konsentrasi serum obat yang dicapai dengan menggunakan dosis biasa; "Menengah" mengartikan bahwasanya organisme dihambat hanya jika konsentrasi yang lebih tinggi daripada dosis yang biasanya direkomendasikan dapat dicapai; dan "Resisten" mengartikan bahwasanya organisme resisten terhadap kadar obat serum yang biasanya dapat dicapai. Standar interpretatif ini telah ditetapkan oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Kategori interpretatif dievaluasi menurut apa yang disebut breakpoints untuk setiap antibiotik seperti yang tercantum dalam versi dokumen CLSI saat ini.

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Pada kerangka konseptual diatas, dijelaskan bahwasanya peneliti ingin melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan salah satu bakteri penyebab jerawat. Ekstrak herba sirih cina yang telah didapatkan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian di uji skrining fitokimia untuk melihat kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin dalam ekstrak etanol sirih cina, dilanjutkan dengan proses fraksinasi menjadi 3 fraksi yakni fraksi polar (pelarut air), fraksi semipolar (pelarut etil asetat) dan fraksi non-polar (pelarut n-heksana) dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Pertama memisahkan fraksi air dan fraksi n-heksana, sehingga didapatkan fraksi n-heksana dan fraksi air, fraksi n-heksana diuapkan *in vacuo* lalu didapatkan fraksi kental n-heksana . Fraksi air dipisah dan selanjutnya di fraksinasi menggunakan etil asetat sehingga didapatkan dua fraksi yakni fraksi etil asetat dan fraksi air. Masing-masing fraksi etil asetat dan fraksi air diuapkan sehingga diperoleh fraksi kental etil asetat dan fraksi kental air. Setelah mendapatkan ketiga fraksi dari ekstrak etanol herba sirih cina (*Peperomia pellucida*), fraksi dan ekstrak herba sirih cina diuji kromatografi lapis tipis (KLT) untuk memastikan masih ada atau tidaknya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina .

Masing-masing filtrat dari ekstrak dan fraksi yang telah diuji KLT kemudian diberikan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian dilakukan uji aktivitas dari ekstrak dan fraksi tersebut pada konsentrasi masing-masing 25%, 50% dan 75% yang akan ditemukan dua kemungkinan yakni tidak mempunyai aktivitas antibakteri jika nilai KHM pertumbuhan *Staphylococcus aureus* <5 mm dan mempunyai aktivitas antibakteri jika nilai KHM pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ≥ 5 mm dan

mampu melebihi kontrol negatif namun belum bisa mendekati kontrol positif, dikatakan sangat efektif jika aktivitas antimikroba mampu melebihi kontrol negatif dan bisa menyamai atau bahkan melebihi kontrol positif dengan kategori daya hambat lemah, sedang, kuat atau sangat kuat. Kemudian dari pengujian aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi dari masing-masing konsentrasi tersebut dilihat efektivitasnya, mana yang mempunyai nilai %efektivitas yang paling besar.

3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan landasan teori dan sehubungan dengan rumusan masalah, maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian ini ialah :

1. H1 : Adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina ((*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. H1 : Mempunyai efektivitas yang baik dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Waktu Dan Tempat

4.1.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 1 bulan, dimulai sejak bulan September 2021 sampai bulan Oktober 2021

4.1.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Biologi Stikes Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

4.2. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan post-test only control group design karena hanya mempunyai uji pasca perlakuan dan diobservasi perubahan karena akibat perlakuan tersebut.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram (cakram disk) untuk dilihat diameter zona hambatnya. Tujuan dilakukan uji antibakteri ini ialah untuk melihat kemampuan dari ekstrak etanol herba sirih cina dan fraksi-fraksi hasil pemisahan pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan rancangan penelitian ini terdiri dari 5 tahap, yakni:

Tahap I : Pembuatan simplisia herba sirih cina (*Peperomia pellucida*)

Tahap II : Pembuatan ekstrak herba sirih cina (*Peperomia pellucida*) dan skrining fitokimia dengan metode tabung

Tahap III : Pembuatan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida*)

Tahap IV : Identifikasi senyawa dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksi hasil pemisahan menggunakan KLT

Tahap V : Uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam berbagai konsentrasi

4.3. Variabel

4.3.1. Variabel Bebas (Independent variable)

Variabel bebas penelitian ini ialah ekstrak etanol dan fraksi herba sirih cina (*Peperomia pellucida*) pada konsentrasi masing-masing 25%, 50% dan 75% yang digunakan untuk mengukur efektivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus*.

4.3.2. Variabel Terikat (dependent variable)

Variabel terikat penelitian ini ialah diameter zona hambat (clear zone) dari bakteri *Staphylococcus aureus* pada media nutrient agar yang dilaporkan dalam satuan milimeter.

4.3.3. Variabel Terkendali (Control variable)

Variabel terkontrol pada penelitian ini merupakan faktor luar yang tidak ikut diteliti yang dapat memengaruhi variabel bebas dan variabel terikat ialah sterilisasi media pertumbuhan, alat, ruang kerja, suhu dan waktu inkubasi, pH media, kontaminasi mikroorganisme lain, ketebalan media pertumbuhan bakteri, umur dan kondisi herba sirih cina, kekeruhan suspensi bakteri, jarak penempelan variasi konsentrasi cakram disk yang telah diberi ekstrak dan fraksi.

4.4. Populasi, Sample Dan Teknik Sampling

4.4.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini ialah herba sirih cina (*Peperomia pellucida*) yang terdapat di Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

4.4.2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini ialah seluruh bagian tanaman sirih cina (akar, batang, daun dan biji) yang

diambil dari hasil budidaya pribadi. Kultur bakteri yang digunakan yakni *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Sultan Imanuddin Pangkalan Bun.

4.4.3. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam pengambilan sampel pada penelitian ini ialah teknik non-probability sampling dengan metode purposive sampling yakni pengambilan sampel berdasarkan kriteria tertentu, tanpa membandingkan sampel yang diambil dengan sampel yang sama dari daerah lain.

4.5. Alat Dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain toples kaca, beaker glass, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, blender, ayakan, corong pisah, pipet ukur, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, cawan porselein, cawan petri, ose, pinset, gunting, tissu, timbangan analitik, penjepit kayu, spatula, jangka sorong, oven, moisture balance, pH meter, LAF (*Laminar Air Flow*), autoklaf, aluminium foil, kertas cakram, kertas saring, kertas label, lampu spiritus, kapas, sarung tangan, masker, waterbath, rotary evaporator, inkubator, mikroskop, vortex, pipa kapiler, penyemprot KLT, chamber KLT, plat KLT (silica gel G₆₀F₂₅₄), dan lampu UV 254 – 366 nm.

4.5.2. Bahan Penelitian

1. Bahan Uji : herba sirih cina (*Peperomia pellucida*) yang diambil dari hasil budidaya pribadi
2. Bahan Pembanding : Antibiotik clindamycin 150 mg
3. Bahan Kimia Habis Pakai : Etanol 70% (C₂H₅OH), aquadest, n-heksana, etil asetat, HCl pekat, logam Mg, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrida, asam sulfat pekat (H₂SO₄ pekat), reagen dragendroff, reagen mayer, reagen lieberman-burchard,

pereaksi FeCl_3 5%, amoniak, metanol, pereaksi FeCl_3 5%, kloroform.

4. Bakteri Uji : *Staphylococcus aureus*
5. Media Pembenihan : Nutrien agar (NA) dengan kandungan bahan ialah ekstrak beef, pepton, NaCl, air destilasi, agar (Restianti., *et al.* 2020)

4.6. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala	Hasil
Herba Sirih Cina		Ialah tanaman yang berasal dari Amerika Tropis, tumbuh di tempat lembab serta berkembang liar. Terna semusim ini tumbuh tegak (20-40 cm), batang bulat (berdiameter 3-5 mm), bercabang, batang dan daunnya menyimpan banyak air, berwarna hijau segar. Daun tunggal melebar berupa seperti jantung, bunga beragam bersusun dalam untaian berupa biji (panjang 1-6 cm) yang keluar dari ujung tangkai, biji bersusun seperti buah lada, berwarna hijau-kecoklatan, dan akarnya serabut.	Determinasi tanaman	Nominal	Klasifikasi dan ciri-ciri tanaman
Ekstrak Etanol		Merupakan sediaan herba sirih cina dari simplisia tumbuhan tersebut yang diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari dalam pelarut etanol 70% dan dievaporasi hingga kental.	Evaporator dan waterbath	Nominal	Ekstrak pekat dengan konsentrasi 100%.
Parameter spesifik	Identitas	Menguraikan tata nama ekstrak, nama latin tumbuhan, dan bagian tanaman yang digunakan	Panca indra		Tanaman yang dimaksud
	Organoleptik	Identifikasi awal menggunakan panca indra	Panca indra		Bentuk, warna, bau, dan rasa
	Kadar sari larut air dan larut etanol	Memastikan jumlah larutan yang identik dengan jumlah senyawa kandungan untuk memberikan prediksi awal jumlah senyawa yang terkandung	Labu ukur, oven dan timbangan analitik		%kadar sari larut simplisia
Parameter non spesifik	Susut pengeringan	Mendeteksi kandungan lembab dalam suatu sampel	Moisture balance		% Susut pengeringan simplisia
	Penetapan	Mendeteksi kandungan air dalam	Timbangan		%kadar air

	kadar air	ekstrak	analitik		simplisia
	Derajat keasaman (pH)		pH meter		pH simplisia
	Bobot jenis	Mengetahui perbandingan antara bobot ekstrak dengan bobot air pada volume dan suhu yang sama	Piknometer dan timbangan analitik		Bobot jenis ekstrak
Konsentrasi Ekstrak Etanol dan fraksinasi		Ialah variasi komposisi dari campuran ekstrak etanol sirih cina 100% dengan pelarut aquadest. Seri konsentrasi tersebut dibuat dengan cara mengencerkan ekstrak etanol dan fraksinasi sirih cina menggunakan aquadest	Mikropipet dan tabung reaksi	Rasio	Konsentrasi 25%, 50% dan 75% (v/v)
Fraksi dari ekstrak		Fraksinasi berasal dari ekstrak herba sirih cina yang dipisahkan dengan metode cair-cair menggunakan pelarut polar (air), semipolar (etil asetat) dan nonpolar (n-heksana).	Corong pisah	Nominal	Fraksi polar (air), semipolar (etil asetat) dan nonpolar (n-heksana)
<i>Staphylococcus aureus</i>		Ialah salah satu jenis bakteri yang membentuk pigmen warna kuning emas sehingga namanya <i>aureus</i> (emas), bakteri gram positif bersifat anaerob fakultatif dengan diameter 0,5-1,0 μm , berbentuk bulat, koloni menyerupai anggur, tidak membentuk spora dan tidak motil. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam.	Observasional	Nominal	
Efektivitas Antibakteri		Kemampuan zat uji yakni ekstrak etanol herba sirih cina dan fraksi hasil pemisahan dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	Jangka sorong yang dilaporkan dalam satuan millimeter.	Numerik	Terbentuknya zona bening disekitar cakram disk
Kontrol Negatif		Aquadest steril yang ditetaskan pada cakram disk dan diletakkan pada media yang telah diinokulasikan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Jangka sorong yang dilaporkan dalam satuan milimeter	Rasio	Tidak terbentuknya zona bening disekitar cakram disk
Kontrol positif		Antibiotik Clindamycin yang ditetaskan pada cakram disk dan diletakkan pada media yang telah diinokulasikan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Jangka sorong yang dilaporkan dalam satuan milimeter	Rasio	Terbentuknya zona bening disekitar cakram disk

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Pengumpulan dan Pengolahan Simplisia Herba Sirih Cina

Sampel dikumpulkan secara acak dan sampel yang diambil ialah herba (seluruh bagian dari tanaman sirih cina) yang masih segar dan berwarna hijau. Tanaman sirih cina diambil dari lingkungan Jl. Bhayangkara, Desa Pasir Panjang, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah. Sampel yang sudah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian akan dilakukan beberapa tahapan yakni sortasi basah, pencucian dibawah air mengalir, penimbangan berat basah, perajangan, pengeringan di angin-anginkan dan tidak terpapar langsung oleh sinar matahari, sortasi kering dan penimbangan akhir guna mengetahui bobot yang sudah menyusut. Selanjutnya simplisia yang telah melalui tahapan tersebut diblender untuk mendapatkan serbuk halusny, kemudian diayak menggunakan mesh 40 dan disimpan dalam toples kaca dan gelap disertai silica gel untuk mencegah tumbuhnya jamur atau kerusakan bahan.

4.7.2. Standarisasi Simplisia

1) Parameter Spesifik

a. Identitas

Dalam standarisasi spesifik simplisia dilakukan parameter identitas bertujuan untuk memberikan suatu identitas objektif. Adapun parameter dari identitas ini meliputi pemerian simplisia atau ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian dari tanaman yang digunakan, kemudian nama Indonesia tanaman tersebut (Depkes RI, 2000).

b. Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik pada standarisasi spesifik dengan cara mengamati dari segi tampilan, warna, aroma, dan juga rasa. “Pernyataan seperti *“tidak berbau, “praktis tidak berbau”, “berbau khas lemah”*, atau lainnya ditetapkan setelah sampel bahan uji terkena udara selama 15 menit, waktu 15 menit ini

dihitung setelah wadah yang berisi tidak lebih dari 25 gram sampel bahan uji dibuka” (FHI Ed. II, 2017).

c. Kadar sari larut air

Sejumlah 5 g ekstrak (W_1) dilakukan maserasi dengan 100 mL air jenuh kloroform (2,5 ml kloroform didalam aquadest add 100 mL) selama 1x24 jam menggunakan labu takar sambil sekali-kali digook selama 6 jam awal. Kemudian didiamkan selama 18 jam dan disaring. Filtrat sebanyak 20 mL diuapkan dalam cawan penguap beralas rata yang telah ditara (W_0) caranya dengan mendiamkan filtrat sampai pelarutnya menguap dan hanya tertinggal residunya, kemudian residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobotnya tetap (W_2) (Saifudin et al., 2011).

Rumus untuk menghitung % kadar sari larut air, dibawah ini:

$$\% \text{ kadar sari larut air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = bobot cawan kosong (g)

W_1 = bobot ekstrak awal (g)

W_2 = bobot cawan + residu yang dioven (g)

d. Kadar sari larut etanol

Sejumlah 5 gram ekstrak (W_1) dilakukan maserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (96%). Menggunakan labu ukur, 6 jam awal dikocok kemudian di biarkan selama 18 jam. Lakukan saring cepat untuk menghindari penguapan pada etanol, kemudian diuapkan 20 ml filtrat sampai kering dalam cawan beralas rata yang sudah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobotnya tetap (W_1).

Rumus untuk menghitung % kadar sari larut air, dibawah ini:

$$\% \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = Bobot cawan kosong (g)

W_1 = Bobot ekstrak awal (g)

W_2 = Bobot cawan + residu yang dioven (g)

2) Parameter non-spesifik

a. Susut pengeringan

Dilakukan untuk mengetahui kandungan lembab dalam suatu sampel. Pengukuran dapat dilakukan dengan alat bernama Moisture balance pada suhu 105°C , masukkan sampel sebanyak 1-2 gram ke alat dan ditunggu hingga alat selesai bekerja dan terbaca persen susut pengeringan nya ($<10\%$).

Dapat juga dengan menimbang cawan porselen kosong/ botol timbang yang sudah bersih dan dipastikan kering dengan dioven $105^{\circ}\text{C} \pm 30$ menit kemudian dinginkan dalam desikator selama ± 15 menit , timbang botol kosong kemudian ambil sampel ± 2 gram, masukkan kedalam cawan lalu dioven selama 30 menit dalam suhu 105°C , terakhir dinginkan cawan dalam desikator lalu timbang bobot cawan dan sampel yang sudah kering untuk mendapatkan hasil bobot akhir susut pengeringan (SNI,1998).

Perhitungan Susut Pengeringan :

$$\% \text{Susut} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

b. Penetapan kadar air

Disiapkan cawan kosong, dipanaskan dalam oven suhu 105°C selama 30 menit masukkan 1-2 gram simplisia (c) kedalam cawan dan ditimbang (a). Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dalam oven setelah itu ditimbang (b). Pengeringan terus dilanjutkan, dan dilakukan penimbangan ulang dengan jarak waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes,2000)

$$\text{b. \% Kadar air} = \frac{(a-b)}{c} \times 100\%$$

Keterangan :

a= bobot cawan + simplisia

b= bobot cawan + simplisia setelah kering

c= bobot simplisia

c. Derajat keasaman (pH)

Sebelum melakukan uji pH, alat pH meter dilakukan kalibrasi terlebih dahulu pada pH 4 dan pH 7. Kemudian, sampel dibuat dalam konsentrasi 1%, dan setelah itu pH meter dimasukkan ke dalam larutan sampel uji.

d. Bobot jenis

Disiapkan ekstrak cair 5%. Pastikan piknometer kosong dan kering kemudian ditimbang terlebih dahulu (W_0). Setelah itu dimasukkan aquadest kedalam piknometer dan diatur suhunya 25°C . Tutup piknometer kemudian volume cairan yang keluar dibersihkan dengan tissue, lalu ditimbang. Setelah itu keluarkan aquadest dan keringkan piknometer untuk dimasukkan ekstrak cair 5%. Ekstrak cair dimasukkan kemudian ditimbang dan dihitung bobot jenisnya (Depkes RI, 2000).

$$d = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

d = bobot jenis

W_0 = bobot piknometer kosong (g)

W_1 = bobot piknometer + air (g)

W_2 = bobot piknometer + ekstrak (g)

4.7.3. Pembuatan Ekstrak Dan Skrining Fitokimia

a. Tahap Pembuatan Ekstrak Etanol Sirih Cina

Pembuatan ekstrak herba sirih cina dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Dimasukkan herba sirih cina dalam bentuk serbuk kedalam bejana. Kemudian ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan serbuk:pelarut 1:5, kemudian didiamkan pada suhu kamar

(28°-32°C) dengan waktu kurang lebih tiga hari sambil sesekali diaduk (tiap 6 jam). Setelah tiga hari, filtrat pun disaring menggunakan kertas saring untuk dipisahkan filtrat dan ampas. Diperoleh filtrat I, kemudian ditampung dalam botol lalu ampas I ditambah etanol 70% setengah dari perbandingan awal, diaduk menggunakan batang pengaduk lalu diamkan selama 24 jam. Setelah didiamkan selama sehari saring ekstrak dengan kertas saring dan diperoleh filtrat II. Selanjutnya dilakukan proses yang sama hingga diperoleh filtrat III. Gabung seluruh filtrat yang diperoleh dan disaring, kemudian seluruh filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C untuk menguapkan sisa pelarut sampai diperoleh ekstrak kental murni kemudian ditimbang hasil ekstrak etanol yang kental tersebut.

Rendemen dari ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

b. Skrining Fitokimia Ekstrak Dengan Pereaksi Kimia

Identifikasi senyawa atau disebut juga *skrining* fitokimia dilakukan dengan tujuan mendapati” ada atau tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada herba sirih cina. Berikut cara identifikasi metabolit sekunder menurut Ida Duma Riris,*et al* (2020) :

a. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditimbang dan ditambahkan 1 ml HCl 2N kemudian larutan dibagi dalam 2 tabung. Tabung I ditambah dengan pereaksi dragendorff 3 tetes, sedangkan tabung II ditambah dengan pereaksi mayer 3 tetes. Jika pada tabung I terjadi endapan jingga, kemudian

tabung II terjadi endapan kekuning-kuningan, maka sampel menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditimbang dan ditambahkan 2 ml metanol yang dipanaskan kemudian didinginkan. Filtrat ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 0,5 ml HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning jingga maka senyawa positif mengandung flavonoid.

c. Identifikasi Senyawa Tanin

Sampel sebanyak 0,5 gram ditimbang kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman maka positif mengandung tanin.

d. Identifikasi Senyawa Terpenoid/Steroid

Timbang 0,5 gr ekstrak ditambahkan 0,5 ml kloroform kemudian ditambahkan 0,5 ml asam asetat glasial dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat (H_2SO_4 pekat) melalui dinding tabung. Hasil positif bila munculnya warna ungu dan terbentuk suatu cincin kecoklatan pada batas 2 pelarut maka menunjukkan triterpenoid. Timbulnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya golongan steroida.

e. Identifikasi Senyawa Saponin

1 ml ekstrak ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan dan kemudian dikocok kuat selama 1 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan buih/busa selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm - 10 cm kemudian busa akan stabil/ tidak hilang apabila ditetesi larutan HCl 2N 1 tetes.

4.7.4. Pembuatan Fraksi dan Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

1. Tahap Pembuatan Fraksi n-heksana, Etil Asetat dan Air

Ekstrak etanol kental herba sirih cina dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan corong pisah menggunakan pelarut nonpolar, semipolar dan polar. Sebanyak 30 gram ekstrak etanol herba sirih cina ditambah aquadest 90 ml, ekstrak dilarutkan dengan air (polar) selanjutnya dipisahkan menjadi dua corong, lalu yang pertama difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana (nonpolar) dalam perbandingan 1:1, selanjutnya digojog dengan waktu kurang lebih lima belas menit. Setelahnya didiamkan sampai terlihat dua lapisan yakni lapisan fraksi n-heksana (nonpolar) dan lapisan ekstrak sirih cina (polar). Pemisahan lapisan n-heksana dari lapisan air dilakukan berulang-ulang sampai didapatkan fraksi n-heksana yang jernih. Setelah itu lapisan polar difraksinasi dengan etil asetat (semipolar) dengan perbandingan 1:1, selanjutnya digojog dengan waktu kurang lebih lima belas menit, kemudian didiamkan beberapa waktu sampai terbentuk lapisan air dan lapisan etil asetat. Proses tersebut kemudian diulangi sampai didapatkan fraksi etil asetat yang jernih (tidak memberikan hasil positif dengan pereaksi FeCl_3). Fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi air. Selanjutnya semua fraksi diuapkan dengan rotary evaporator dilanjutkan pemekatan menggunakan waterbath sehingga didapatkan fraksi kentalnya.

2. Identifikasi Senyawa Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sebelum memulai identifikasi senyawa menggunakan metode KLT terlebih dahulu dilakukan penyiapan fase diam dan fase gerak. Penyiapan fase diam/plat KLT (silica gel G60 F254) dengan panjang 8 cm dan lebar 2 cm, lalu dicuci dengan metanol, kemudian dilakukan aktivasi plat KLT menggunakan oven pada suhu 100°C (sepuluh menit).

Selanjutnya ± 10 mg ekstrak etanol dan hasil fraksinasi dilarutkan dalam 1 ml etanol lalu ditotolkan pada plat KLT yang sudah diaktivasi.

a. Alkaloid

Sampel ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak kloroform:metanol (1:4) v/v dan pereaksi penampak noda Dragendoff. Setelah disemprot dengan pereaksi dragendorff menghasilkan bercak berwarna jingga atau merah kecoklatan jika positif mengandung senyawa alkaloid.

b. Flavonoid

Sampel ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak methanol : kloroform (1:9) v/v dan penampak noda uap amoniak. Jika positif mengandung senyawa flavonoid maka akan berwarna biru bila dilihat pada lampu UV 366 nm dan berwarna kuning setelah diuapi amoniak..

c. Tanin

Sampel ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak metanol : air (6:4) v/v dan pereaksi penampak noda FeCl_3 5%. Jika positif mengandung senyawa tanin maka terbentuk noda berwarna hitam.

d. Triterpenoid/Steroid

Sampel ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak kloroform : metanol (3 : 7) v/v dan pereaksi penampak noda Lieberman-Buchard. Jika positif mengandung senyawa steroid akan memberikan warna ungu muda dan senyawa triterpenoid akan memberikan warna coklat jika diamati pada sinar tampak dan dibawah sinar UV 254 nm.

e. Saponin

Sampel ditotolkan pada plat KLT dengan fase gerak kloroform : metanol : air (13:7:2) dan pereaksi penampak noda Lieberman-Buchard. Jika positif mengandung

senyawa saponin maka akan memberikan warna merah atau ungu yang diamati pada sinar tampak UV 254 nm. (Harborne,1987).

4.7.5. Pengujian Efektivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi

Uji aktivitas pemberian ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina terhadap penurunan konsentrasi hambat minimum pada *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar cakram yang mempunyai beberapa tahapan sebagai berikut.

1. Pengadaan Mikroba Uji

Penelitian kali ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Sultan Imanuddin Pangkalan Bun.

2. Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang dipakai untuk aktivitas antibakteri dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan, selanjutnya disterilkan ke dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama ± 20 menit.

3. Pembuatan Media Agar Miring

Ditimbang nutrient agar (NA) sebanyak 2 gram, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquadest didalam *beaker glass*. Setelah itu NA+aquadest dipanaskan di atas *hotplate* sambil terus diaduk hingga mendidih. Dalam kondisi hangat (40°C-45°C), sebanyak ± 5 mL tuangkan pada masing-masing tabung reaksi yang telah disterilkan sebelumnya lalu ditutup dengan kapas. Sterilkan media tersebut dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, pembuatan media dilakukan secara aseptis dalam Laminar Air Flow, kemudian letakkan tabung reaksi pada kemiringan 30-45° dan biarkan pada suhu ruangan sampai media menjadi padat. Media agar miring digunakan untuk inokulasi peremajaan kultur murni bakteri (Hidayat, 1999).

4. Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Ambil satu koloni biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ose steril dari kultur murninya, selanjutnya diinokulasikan dalam media agar miring yang telah dibuat sebelumnya lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk *Staphylococcus aureus* (Aziz, 2010). Selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi koloni bakteri uji dan pewarnaan gram (Kristanti, 2014).

5. Identifikasi Bakteri

Yang harus dilakukan pertama ialah membuat apusan bakteri uji, dengan cara fiksasi object glass diatas api bunsen, diambil NaCl fisiologis menggunakan kawat ose steril, ratakan diatas object glass. Pijarkan ose yang sama kemudian dinginkan, ambil 1 koloni bakteri dari peremajaan kultur murni bakteri, oleskan secara merata diatas apusan NaCl fisiologis tadi untuk membuat cetakan suspense tersebut, keringkan beberapa menit di suhu ruang kemudian fiksasi apusan dengan melewati object glass diatas api bunsen (Damayanti, 2014).

Cetakan bakteri yang telah dibuat ditetesi dengan Gentian Violet (zat warna I) dan biarkan selama 1 menit, setelah itu cuci perlahan menggunakan aquadest, biarkan ± 2 detik. Lalu apusan bakteri ditetesi pewarna Lugol (Zat warna II) dan biarkan selama 1 menit, setelah itu cuci perlahan menggunakan alcohol 95% sampai yang mengalir tidak berwarna (10-30 detik), dilanjutkan mencuci dengan aquadest perlahan, diamkan selama 2 detik. Terakhir, ditetesi dengan pewarna safranin (Zat warna IV), kemudian diamkan 20 detik. Hasil pewarnaan dengan safranin dicuci perlahan menggunakan aquadest, keringkan pada suhu ruang beberapa menit, jika masih basah maka lap object glass dengan tissue tanpa menggosoknya. Setelah mongering tetesi dengan oil

imersi. Amati objek di mikroskop dengan perbesaran 100x (Damayanti, 2014).

6. Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 2 ose bakteri uji hasil peremajaan dari agar miring, disuspensikan dalam 2 mL NaCl fisiologis dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex selama 15 detik, kemudian kekeruhannya dilihat dengan membandingkan kekeruhan standar 0,5 Mc Farland (setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL) atau ukur transmittan 25% bakteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm (Raihana, 2011).

7. Pembuatan Media

Medium nutrient agar ditimbang sebanyak 20 gram dan ditambahkan 1000 mL aquadest, kemudian dipanaskan sampai warna kuning jernih. Setelah itu larutan disterilkan dalam autoklaf selama 15-20 menit, pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm dengan menutup bagian atas menggunakan aluminium foil (Ngajow, 2013).

8. Pembuatan Stok Variabel Konsentrasi

Variabel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 12 variabel. Kontrol negatif yakni aquadest, kontrol positif yakni antibiotik clindamycin 30µg, variasi konsentrasi ekstrak etanol yakni 25%, 50% dan 75%, variasi konsentrasi masing-masing fraksi yakni 25%, 50% dan 75%. Pembuatan konsentrasi 25% yakni 0,25 g sampel ditambahkan 9,75 ml aquadest, 50% yakni 0,5 g sampel ditambahkan 9,5 ml aquadest dan 75% yakni 0,75 g sampel ditambahkan 9,25 ml aquadest.

9. Uji Aktivitas Dan Efektivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas ekstrak herba sirih cina dengan metode difusi agar menggunakan cakram disk. Pertama dilakukan dengan menyiapkan suspensi bakteri. Kemudian menyiapkan

media nutrient agar yang akan digunakan. Sebanyak 15-20 mL medium nutrient agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah padat diinokulasikan 1 ose bakteri yang telah diukur berdasarkan standar McFarland 10^8 CFU/ml dengan dioles merata menggunakan cotton swab yang steril secara zig-zag pada permukaan media yang sudah padat, ditunggu beberapa menit agar suspensi masuk kedalam media agar. Lalu ambil sebanyak 20 μ l dari stok variable konsentrasi ekstrak etanol herba sirih cina dan fraksi hasil pemisahan dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%, kontrol positif (+) yakni clindamycin 150 mg diambil 30 μ g/disk dan kontrol negatif (-) yakni aquadest yang diteteskan pada kertas cakram 10 μ l dan ditunggu hingga jenuh, kemudian dimasukkan ke dalam permukaan media dengan jarak disk satu dengan yang lainnya 1-2 cm dipinggir cawan petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Selanjutnya diamati diameter zona hambat (clear zone) yang terbentuk dan diukur diameter zona hambatnya menggunakan jangka sorong (Ningsih, 2013).

10. Pengukuran KHM

Pengukuran diameter zona hambat dapat dihitung dengan jangka sorong menggunakan rumus (Kristianti, 2014):

$$R(\%) = \frac{d_1 + d_2}{2}$$

Keterangan :

R = Daya hambat (mm)

d_1 = Diameter Zona Hambat terpanjang (mm)

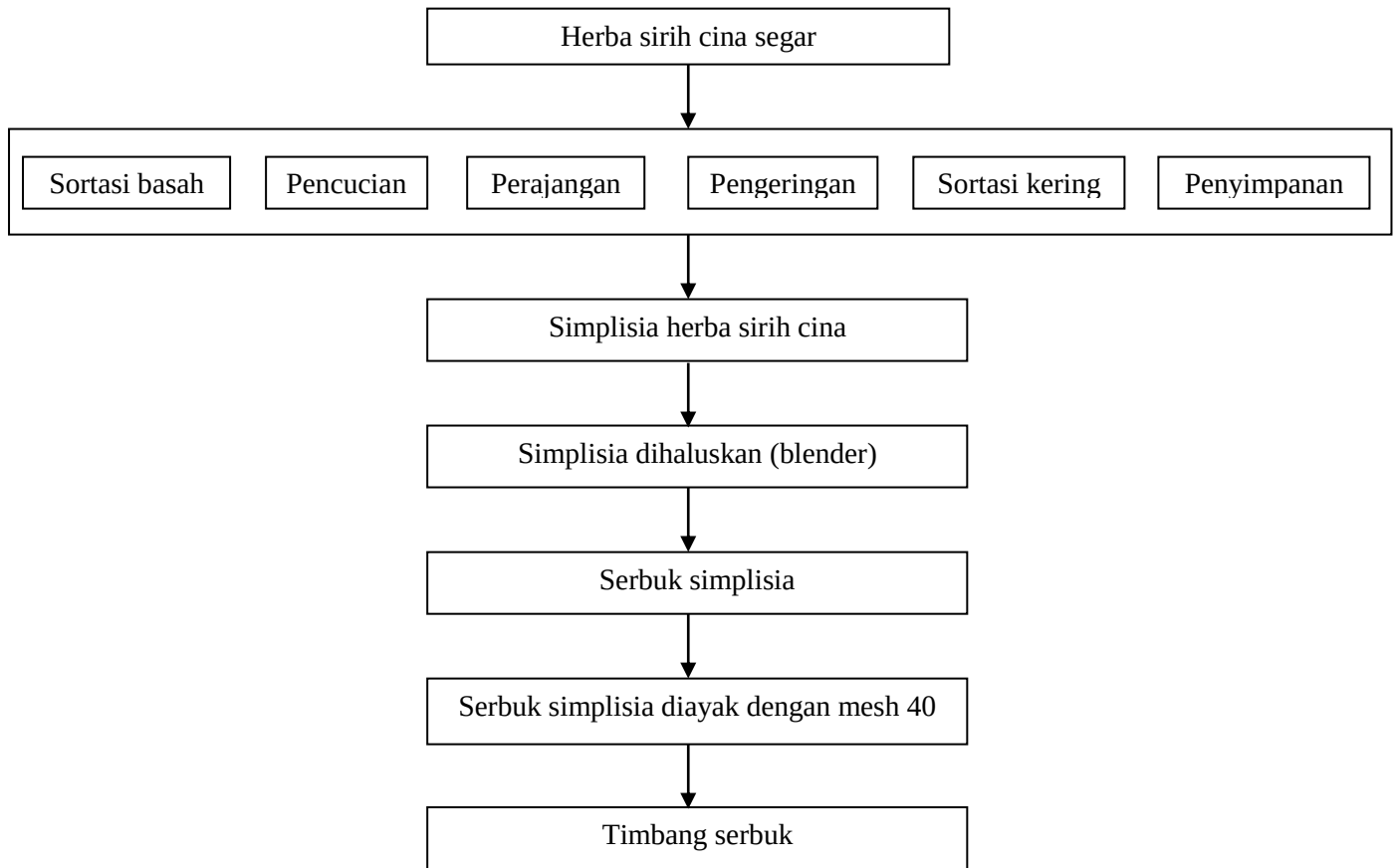
d_2 = Diameter Zona Hambat terpendek (mm)

4.8. Analisis Data

Setelah hasil data nilai KHM diperoleh meliputi diameter zona hambat/ zona bening pada keempat kelompok perlakuan tersebut kemudian dilanjutkan dengan analisis data secara deskriptif dengan penyajian data dalam bentuk tabel, juga dilakukan analisis melalui uji statistik yakni uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak dan uji homogenitas variansi untuk mengetahui apakah setiap kelompok perlakuan mempunyai data yang homogen atau tidak. Jika data sudah memenuhi syarat, lanjutkan dengan analisis parametrik yakni uji One Way Anova dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) atau analisis non-parametrik *Kruskal-Wallis* ($\alpha = 0,05$) (jika data tidak mengikuti sebaran normal), pengujian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan dari semua perlakuan. Jika memenuhi syarat uji parametrik maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc yakni uji LSD (*Least Significant Difference*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata secara signifikan efektivitas antibakteri pada ekstrak etanol herba sirih cina dan fraksi hasil pemisahan dengan konsentrasi masing-masing 25%, 50% dan 75% . Tetapi jika data tidak memenuhi syarat maka dilanjutkan analisis non-parametrik yakni uji *Kruskal-Wallis* kemudian dilakukan uji *Post Hoc*.

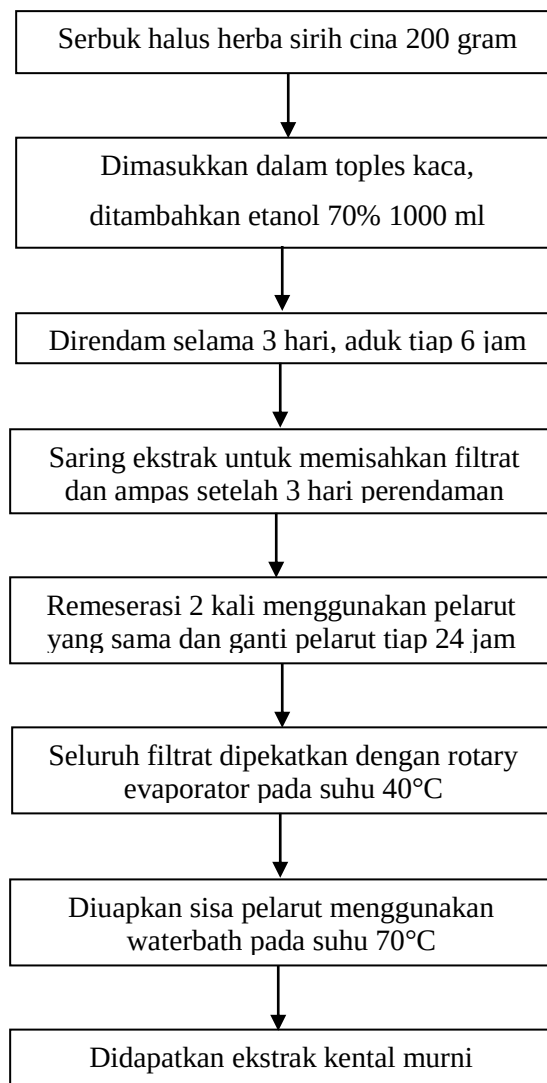
4.9. Skema Kerja

4.9.1. Alur Pembuatan Simplisia



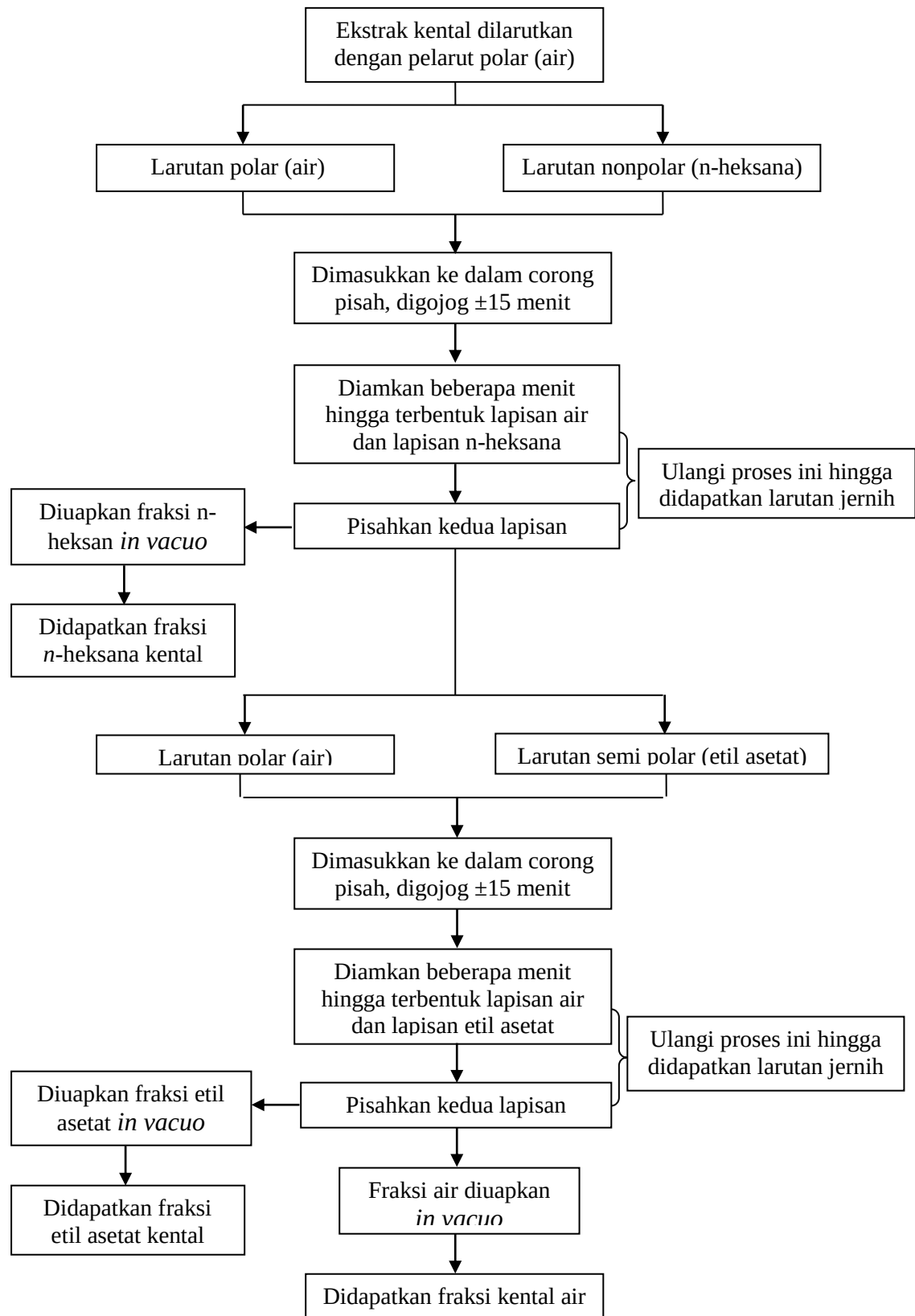
Bagan 4.9.1. Skema alur pembuatan simplisia

4.9.2. Alur Pembuatan Ekstrak Etanol



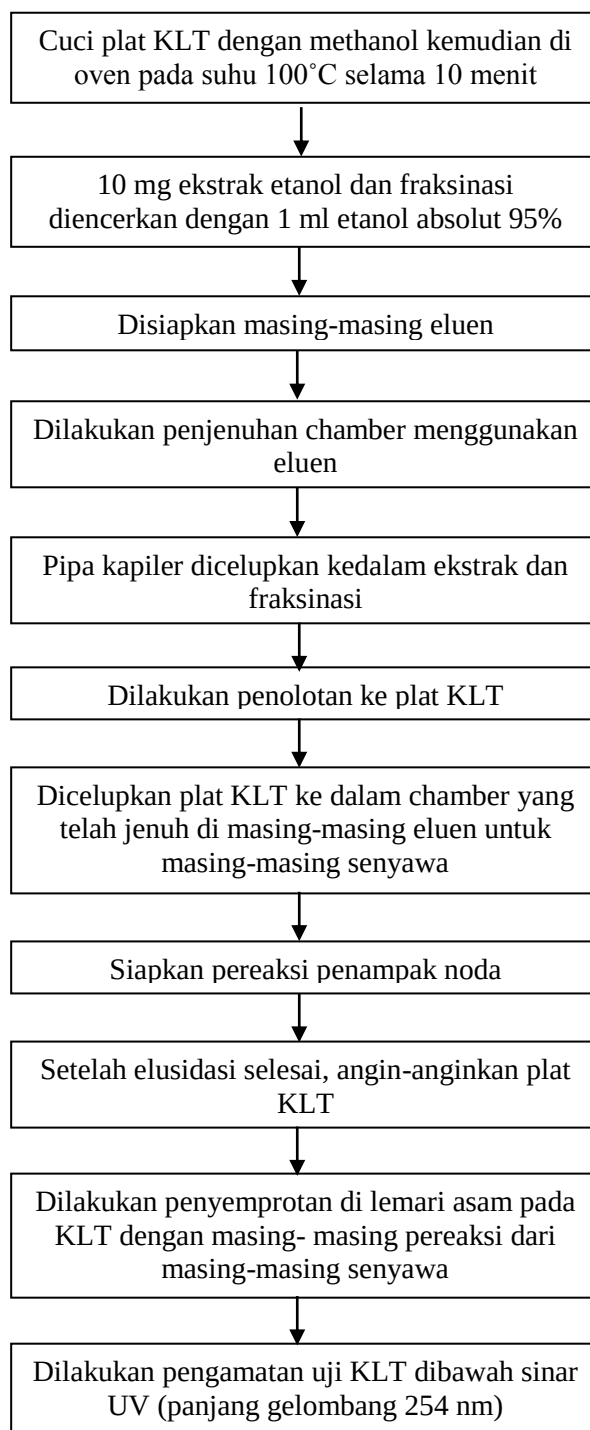
Bagan 4.9.2 Skema alur pembuatan ekstrak etanol

4.9.3. Alur Fraksinasi



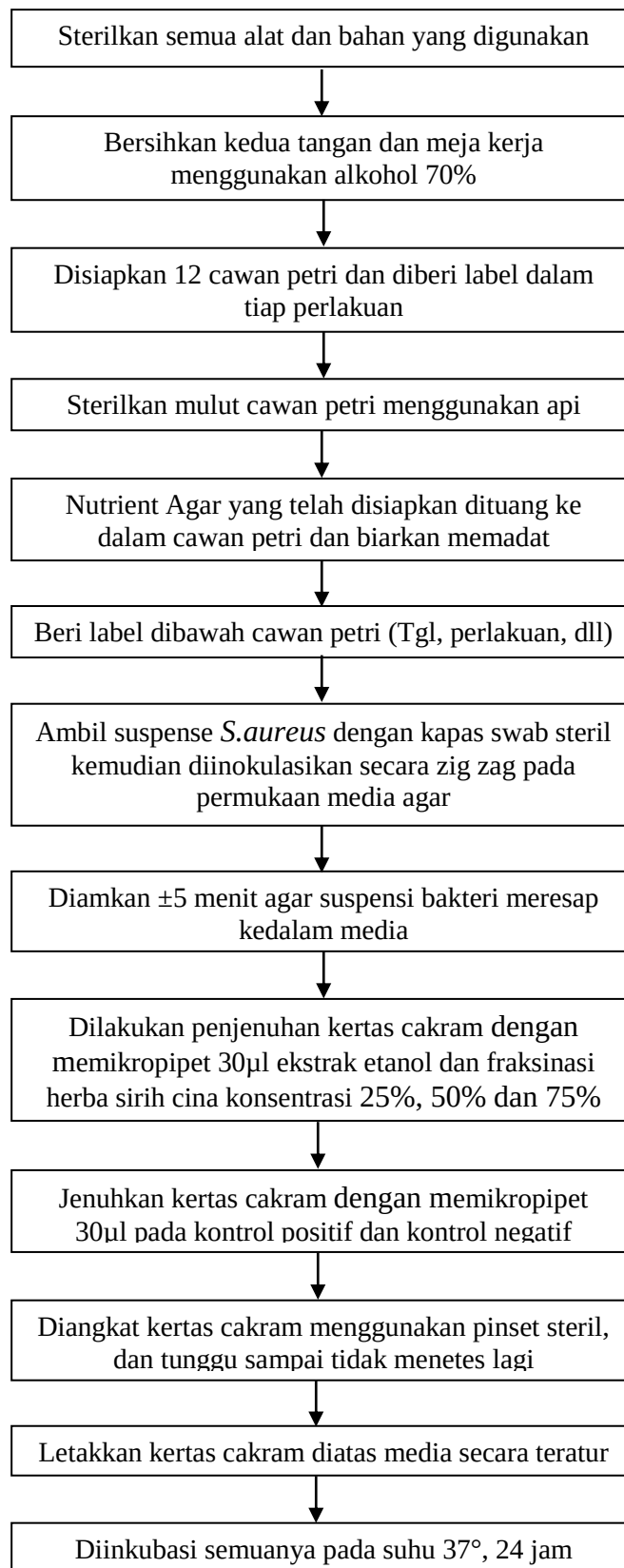
Bagan 4.9.3 Skema alur pembuatan Fraksinasi

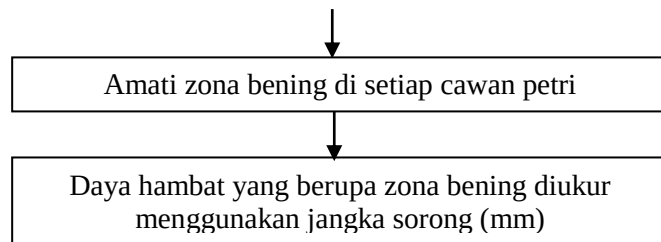
4.9.4. Alur Uji KLT Ekstrak dan Fraksinasi Hasil Pemisahan



Bagan 4.9.4 Skema Alur uji KLT ekstrak etanol dan fraksinasi

4.9.5. Alur Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi





Bagan 4.9.5 Skema Alur Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksinasi

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan efektivitas ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina (*Peperomia pellucida* L.Kunth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan dengan serangkaian tahapan dan pengujian guna mengetahui dan mencapai tujuan tersebut.

5.1. Determinasi Herba Sirih Cina

Determinasi tanaman uji dilaksanakan di Laboratorium FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru pada bagian akar, batang, daun, dan biji dengan cara mengambil sebuah tanaman herba sirih cina dari hasil budidaya pribadi di Desa Pasir panjang, Pangkalan Bun, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah yang dikirimkan ke laboratorium tersebut. Tujuan dari determinasi tanaman ini ialah untuk memastikan identitas tanaman yang ingin diteliti supaya terhindar dari kesalahan dalam pengambilan tanaman dan menjaga kemurnian bahan dari tercampurnya dengan tanaman lain. Hasil determinasi tersebut menunjukkan bahwasanya tanaman yang digunakan ialah benar mempunyai ciri-ciri sebagaimana *Peperomia pellucida* (L) H.B.K dengan Nomor Sertifikat Hasil Uji : 154/LB.LABDASAR/IX/2021, Nomor Referensi : IX-21-001 dan Nomor Invoice : 158/TS-09/2021.

5.2. Pengumpulan Bahan dan Pengolahan Simplisia

Pengumpulan sampel dilakukan secara acak, dalam penelitian ini digunakan herba sirih cina yang masih segar. Herba sirih cina ini diambil dari hasil budidaya pribadi di Jl.Bhayangkara, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat. Tahapan pembuatan simplisia herba sirih cina diawali dengan pengumpulan bahan.

Pengumpulan bahan (sampel) ini dilaksanakan dalam waktu 3 hari, dan didapat total berat basah dari herba sirih cina yakni 5,5 kg. Sampel segar herba sirih cina yang telah dikumpulkan selanjutnya akan dilakukan tahapan

sortasi basah, tujuannya untuk memisahkan simplisia dari bahan pengotor/kontaminan (tanah, rumput, kerikil, serangga) dari sampel yang akan digunakan. Setelah tahapan sortasi basah, dilakukan pencucian simplisia dengan menggunakan air mengalir, kemudian simplisia yang telah dicuci bersih ditiriskan dan diangin-anginkan dalam ruangan kurang lebih 3 hari agar saat perajangan tidak banyak zat-zat yang kontak langsung dengan alat pemotong dan simplisia yang dihasilkan menjadi baik, setelah setengah kering baru lah dilakukan perajangan (pengecilan ukuran simplisia) agar memudahkan proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan bantuan cahaya matahari yang tidak kontak langsung dengan tanaman (ditutupi kain hitam agar teduh) yang berlangsung selama 7 hari. Dengan kondisi pengeringan seperti itu, diharapkan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam sampel tidak akan rusak (Riris I.D., *et al.* 2020). Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak selama penyimpanan dengan mengurangi kadar air dan mencegah pembusukan simplisia yang diakibatkan oleh bakteri (Prasetyo & Entang I, 2013).

Tabel 5.1 Hasil Pengumpulan dan Pengolahan Simplisia

Bobot Basah (gr)	Bobot Kering (gr)	Rendemen (%)
5.500	220,5	4,0

Setelahnya akan dilakukan sortasi kering pada simplisia kering yang tujuannya untuk memisahkan kembali bahan asing atau kontaminan yang masih ada pada simplisia kering. Untuk melihat kualitas suatu simplisia, parameter penting yang bisa memengaruhi kualitas suatu simplisia salah satunya yakni kadar air pada simplisia yang menjadi penentu apakah simplisia tersebut dikatakan sudah baik atau tidak. Farmakope Herbal Indonesia memutuskan bahwasanya simplisia yang baik mempunyai kadar air yang tidak lebih dari 10%. Pada penetapan kadar air simplisia herba sirih cina, didapat hasil bahwasanya kadar air nya < 10% yakni 9,5%, akibatnya bisa dikatakan bahwasanya ketetapan syarat kadar air simplisia telah

memenuhi persyaratan. Setelah melewati tahapan sortasi kering, dilakukan pembuatan serbuk simplisia, dengan menggunakan alat blender untuk memudahkan proses penghalusan. Tujuan pembuatan serbuk ini yakni untuk memperluas permukaan agar serbuk simplisia herba sirih cina dapat terekstraksi secara maksimal (Riris I.D., *et al.* 2020). Selanjutnya, serbuk diayak pada mesh 40 dan diletakkan dalam toples kaca gelap, diberi silica gel (bahan pengawet) untuk mencegah pertumbuhan jamur ataupun bakteri selama penyimpanan serbuk.

Tabel 5.2. Hasil Susut Pengeringan Simplisia

Bobot Serbuk (gr)	Kadar (%)
1	7,92

5.3. Ekstraksi Serbuk Simplisia Herba Sirih Cina

Ekstraksi serbuk simplisia herba sirih cina dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Dasar pemilihan metode maserasi ini karena metodenya yang sederhana, dimana dalam pengaplikasiannya hanya memerlukan alat sederhana seperti bejana sebagai wadah untuk maserasi, dan bahan pelarut untuk merendam serbuk simplisia yang akan dimaserasi dimana pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Sedangkan, pemilihan etanol 70% sebagai pelarut karena mempunyai sifat yang mampu melarutkan hampir semua zat, minimalnya bahan asing (kontaminan) yang turut ke dalam cairan pengestraksi, serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar proses hidrolisis dan oksidasi (Hans-Jorg Bart, 2011). Etanol 70% juga merupakan pelarut yang disarankan setelah air untuk bahan baku obat. Selain itu, etanol 70% mudah ditemukan dan juga harganya yang ekonomis (Angelina, M., *et al.*, 2015).

Ekstraksi serbuk simplisia herba sirih cina dalam maserator (bejana) menggunakan pelarut etanol 70%, dengan perbandingan 1 : 5 (simplisia: pelarut) yakni 200 gram serbuk simplisia dalam 1000 ml etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari, setelah 3 hari dilakukan penyaringan untuk

memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat hasil dari maserasi I didapatkan 550 ml dan disimpan. Kemudian, ampas dari maserasi ini akan dilakukan perendaman ulang (re-maserasi) selama 2 hari. Didapatkan filtrat ke II sebanyak 550 ml dan filtrat ke III juga 550 ml. Selanjutnya, filtrat dari hasil maserasi dan remaserasi digabung, yang selanjutnya akan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dan RPM 60 dilanjutkan pemekatan menggunakan waterbath pada suhu 70°C hingga didapatkan ekstrak kental. Tujuan penguapan ini untuk menghilangkan 70% bagian etanol yang terkandung dalam ekstrak cair. Setelah dilakukan penguapan, didapatkan ekstrak kental herba sirih cina yakni sebanyak 43,5 gram.

Tabel 5.3 Hasil Rendemen Ekstrak Herba Sirih Cina

Bobot Serbuk Simplisia (gr)	Bobot Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	Syarat FHI
200	43,5	21,75	>13,1%

Hasil rendemen ekstrak herba sirih cina ialah 21,75% maka memenuhi syarat rendemen ekstrak di Farmakope Herbal Indonesia yakni tidak kurang dari 13,1% rendemen ekstrak.

5.4. Hasil Standarisasi Simplisia

Herba sirih cina merupakan salah satu jenis tanaman keluarga sirih-sirihan yang mempunyai potensi sebagai bahan obat, sehingga perlu dilakukan standarisasi bahan baku simplisia dan ekstrak herba sirih cina. Standarisasi simplisia ini bertujuan untuk menjamin keamanan dan standar mutu suatu ekstrak tanaman obat. Penetapan standarisasi mutu simplisia meliputi standarisasi spesifik dan standarisasi non-spesifik.

5.4.1 Standarisasi Spesifik

Parameter standarisasi spesifik bahan baku simplisia herba sirih cina meliputi pemeriksaan identitas simplisia, pemeriksaan organoleptik, penentuan kadar sari larut air, dan penentuan kadar sari

larut etanol. Pemeriksaan identitas bahan baku simplisia herba sirih cina mempunyai tujuan untuk memberikan suatu identitas obyektif secara spesifik meliputi deskripsi tata nama, nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan. Penetapan organoleptik simplisia menggunakan panca indera yang mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa guna pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin. Penentuan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (air dan etanol) dengan cara melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol/air) untuk ditentukan jumlah larutan yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetrik. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa (Depkes, 2000).

Tabel 5.4 Hasil Parameter Standarisasi Spesifik Simplisia Herba Sirih Cina

Parameter Pengujian		Hasil
Identitas Simplisia :		
Nama Simplisia		Peperomia pellucidae simplicia
Nama Ekstrak Kental		Peperomia pellucidae extractum
Nama Latin Tumbuhan		<i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth
Bagian Tumbuhan		<i>Peperomia pellucida</i> herba
Nama Indonesia Tumbuhan		Sirih cina, suruhan
Pemeriksaan Organoleptik :		
Bentuk		Serbuk halus
Warna		Coklat tua kehijauan
Bau		Khas
Rasa		Tidak berasa
Syarat FHI		
Kadar Sari Larut Air (%)	24,9%	>5,0%
Kadar Sari Larut Etanol (%)	16,7%	>6,4%

Dari data hasil standarisasi parameter spesifik simplisia herba sirih cina, didapatkan hasil pemeriksaan identitas bahwasanya bahan

simplisia yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jenis tanaman sirih yang mempunyai nama latin *Peperomia pellucida* (L.) Kunth dan mempunyai nama Indonesia yakni sirih cina atau suruhan. Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini ialah seluruh bagian tumbuhan atau disebut sebagai herba. Pemeriksaan organoleptik simplisia memberikan hasil bahwasanya simplisia herba sirih cina berbentuk serbuk halus, berwarna coklat tua kehijauan, mempunyai aroma yang khas dan tidak mempunyai rasa. Uji penentuan kadar sari larut air dan larut etanol memberikan hasil bahwasanya kadar sari larut air simplisia herba sirih cina yakni sebesar 24,9%, sedangkan kadar sari larut etanol simplisia herba sirih cina yakni sebesar 16,7%. Yang artinya sudah memenuhi syarat pada FHI bahwasanya kadar sari larut air tidak $\leq 5,0\%$ dan kadar sari larut etanol tidak $\leq 6,4\%$. Penetapan ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang terlarut dalam pelarut tertentu (Depkes, 2000).

Dari data hasil uji, dapat disimpulkan bahwasanya pada simplisia herba sirih cina terdapat banyak kandungan senyawa yang terlarut dalam pelarut air dibandingkan dengan pelarut etanol. Hal ini menunjukkan didalam herba sirih cina lebih banyak mengandung senyawa polar dibandingkan dengan senyawa non-polar. Diketahui, senyawa polar yang terdapat pada herba sirih cina yakni flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin. Sedangkan, senyawa triterpenoid yang terkandung dalam herba sirih cina bersifat semi polar. Alkaloid bersifat polar karena dalam struktur molekulnya terdapat atom Nitrogen (membentuk cincin heterosiklik) (Sumardjo, 2009). Flavonoid bersifat polar dikarenakan adanya gugus hidroksil (-OH). Tanin bersifat polar dikarenakan tanin merupakan golongan senyawa polifenol. Saponin bersifat polar karena merupakan sekelompok glikosida tanaman yang mempunyai bagian aglikon dari molekul saponin yang disebut genin atau sapogenin (Hoffmann, 2003). Sedangkan triterpenoid bersifat semi polar dikarenakan triterpenoid merupakan komponen minyak atsiri

yang merupakan persenyawaan hidrokarbon alifatik atau hidrokarbon siklik (Sumardjo, 2009).

5.4.2 Standarisasi Non-Spesifik

Standarisasi non-spesifik bahan baku simplisia herba sirih cina meliputi susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan derajat keasaman (pH) dan bobot jenis ekstrak. Penetapan susut pengeringan dan penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan dengan nilai minimal atau rentang yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi mikroba.

Penetapan derajat keasaman (pH) simplisia herba sirih cina dilakukan dengan pembuatan larutan sampel simplisia dalam konsentrasi 1%, yakni dengan menimbang sampel simplisia sebanyak $\frac{1}{2}$ gram dan dilarutkan dalam 50 ml aquadest. Pengujian dilakukan dengan kalibrasi alat pH meter terlebih dahulu, yakni pada rentang pH 4-7 (larutan buffer), setelah itu alat pH meter dimasukkan ke dalam larutan sampel simplisia herba sirih cina untuk menentukan derajat keasaman (pH).

Penentuan bobot jenis ekstrak ialah masa per satuan volume pada suhu kamar tertentu (25°C) yang ditentukan dengan alat piknometer atau alat lainnya, yang tujuannya memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang, juga memberikan gambaran kandungan kimia zat terlarut (Depkes, 2000).

Tabel 5.5 Hasil Parameter Non-Spesifik Simplisia Herba Sirih Cina

Parameter Pengujian	Hasil	Syarat FHI
Kadar Air (%)	9,5	<10%
Susut pengeringan (%)	7,9	<10%
Derajat Keasaman (pH)	6,77	-

Bobot Jenis Ekstrak (ρ) (g/mL)	0,64	-
---------------------------------------	------	---

Hasil yang diperoleh dari parameter standarisasi non spesifik untuk simplisia herba sirih cina memperlihatkan bahwasanya kadar air simplisia herba sirih cina ialah 9,5%. Hasil ini diperoleh setelah lima jam dikeringkan dan dilakukan pengeringan ulang sebanyak dua kali selama 1 jam hingga bobotnya menjadi permanen. Tujuan penentuan kadar air dalam suatu simplisia ialah untuk memastikan tidak ada sisa air yang tertinggal setelah proses pengeringan. Selain untuk pemastian kadar air, kemurnian suatu ekstrak juga bisa ditentukan; ekstrak dengan kadar air yang berlebihan ($> 10\%$) akan memudahkan pertumbuhan mikroba, sehingga merusak kestabilan ekstrak. Temuan penentuan kadar air simplisia herba sirih cina memperlihatkan bahwasanya kadar air memenuhi syarat yakni 10%.

Pada uji susut pengeringan menggunakan alat moisture balance yang dilakukan 3 kali pengulangan didapatkan rata-rata hasil 7,9% yang berarti memenuhi persyaratan simplisia yakni $<10\%$. Pada uji derajat keasaman (pH) simplisia herba sirih cina diperoleh hasil bahwasanya simplisia mempunyai pH 6,77. Sehingga, dapat disimpulkan bahwasanya pH simplisia herba sirih cina bersifat asam mendekati netral. Pada penentuan bobot jenis ekstrak herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya sampel mempunyai densitas yakni 0,64 g/mL. Bobot jenis dapat didefinisikan sebagai perbandingan kerapatan suatu zat terhadap kerapatan air. Penentuan bobot jenis bertujuan untuk memberikan suatu gambaran mengenai kandungan kimia yang terlarut dalam suatu ekstrak (Depkes, 2000).

5.5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Menggunakan Reagen

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan mengetahui ada atau tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada herba sirih cina (Riris, *et al.*, 2020). Skrining fitokimia dilakukan menggunakan metode uji reagen dengan melihat reaksi warna yang terbentuk.

Uji yang dilakukan pada tahapan skrinning fitokimia dengan metode uji reagen ini meliputi : uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, uji triterpenoid/steroid dan uji saponin.

Tabel 5.6 Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak dengan Metode Uji Reaksi

Uji Fitokimia	Perlakuan	Ketentuan	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	Tabung I : 0,5 gr ekstrak + 0,5 ml HCl 2N + 3 tetes pereaksi dragendorff	Terbentuk endapan jingga, positif alkaloid	Terbentuk endapan jingga	(+)
	Tabung II : 0,5 gr ekstrak + 0,5 ml HCl 2N + 3 tetes pereaksi mayer	Terbentuk endapan kekuningan, positif alkaloid.	Terbentuk endapan kekuning-kuningan	(+)
Flavonoid	0,5 gr ekstrak + 2 ml metanol panas + 0,1 gram logam Mg + 0,5 ml HCl pekat	Terbentuk warna merah atau jingga, positif flavonoid	Berwarna jingga-kemerahan	(+)
Tanin	0,5 gr ekstrak herba sirih cina + 3 tetes larutan FeCl_3 1%.	Terbentuk warna biru kehitaman , positif tanin galat.	Terbentuk warna hitam	(+)
Triterpenoid/ Steroid	0,5 gr ekstrak herba sirih cina + 0,5 ml kloroform + 0,5 ml asam asetat glasial + 2 ml H_2SO_4 pekat	Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada batas 2 pelarut, positif triterpenoid.	Terbentuk cincin kecoklatan	(+)Triterpenoid
		Terbentuk warna hijau kebiruan, positif steroid.		(-)Steroid
Saponin	1 gr ekstrak + 10 ml air panas, dinginkan, dikocok kuat 1 menit. Selanjutnya	Membentuk buih/busa selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 - 10 cm	Terbentuk busa yang bertahan 10 menit dan tidak hilang ketika ditetesi HCl 2N	(+)

ditetesi larutan
HCl 2N 1 tetes

Dari data hasil skrinning fitokimia pada tabel 5.6 didapatkan hasil positif pada uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, uji triterpenoid dan uji saponin.

Pada uji alkaloid sampel ekstrak ditambahkan dengan HCl 2N yang bertujuan untuk membuat sampel menjadi suasana asam, karena alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa. Perlakuan penambahan HCl pada sampel sebelum penambahan pereaksi dilakukan untuk mengeliminasi protein. Pengendapan protein pada penambahan pereaksi yang mengandung logam berat (pereaksi mayer) dapat memberikan reaksi positif terhadap beberapa senyawa. Alkaloid diuji menggunakan dua pereaksi yakni pereaksi mayer dan pereaksi dragendorff. Pada uji menggunakan pereaksi mayer ditandai dengan terbentuknya endapan kekuning-kuningan, dimana endapan itu merupakan kompleks kalium-alkaloid, pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuriem (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkura (II). “Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Sedangkan, pada uji menggunakan pereaksi dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan jingga, endapan tersebut ialah kalium-alkaloid dimana pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+)” (Marliana, 2005 dalam Pardede.A, 2013).

Hasil uji flavonoid memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Perubahan warna ini, dikarenakan adanya

penambahan logam magnesium (Mg) yang bertindak sebagai reduktor, dimana reduksi tersebut bekerja dalam suasana asam dengan adanya peningkatan asam klorida pekat (HCl). Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Reaksi reduksi senyawa flavonoid pada ekstrak herba sirih cina dengan penambahan logam Mg dan HCl pekat ini menimbulkan perubahan warna (Robinson, 1995).

Hasil uji senyawa tanin memberikan hasil positif, sampel ekstrak ditambahkan larutan FeCl_3 1%, sehingga terbentuk warna hijau kehitaman. “Penambahan FeCl_3 ini, untuk menunjukkan adanya gugus fenol, karena tanin merupakan senyawa polifenol. Perubahan warna biru kehitaman pada uji, diakibatkan oleh adanya pembentukan senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 ” (Robertino Ikalinus, *et. al*, 2015).

Hasil uji senyawa golongan steroid yakni triterpenoid menggunakan metode *Lieberman-Burchard*, sampel ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dengan kloroform, kemudian ditambahkan dengan pereaksi *Lieberman – Burchard* (asam asetat glasial dan asam sulfat pekat) sehingga membentuk suatu cincin kecoklatan pada batas dua pelarut. “Penambahan asam asetat glasial bertujuan untuk membentuk turunan asetil, sedangkan penambahan asam sulfat pekat akan menghidrolisis air yang kemudian akan bereaksi dengan turunan asetil, sehingga membentuk cincin kecoklatan yang mengindikasikan adanya pitosterol” (Komang Mirah Meigaria, *et. al*, 2016).

Hasil uji senyawa saponin menunjukkan hasil yang positif karena terbentuk buih/busa yang permanen pada ketinggian 1 cm saat digojog bersama air dan penambahan HCl 2N. “Busa yang ditimbulkan menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya” (Pardede.A, 2013).

5.6. Fraksinasi Herba Sirih Cina

Metabolit sekunder dapat bersifat nonpolar, semipolar, dan polar, sehingga untuk memaksimalkan pengekstrakan senyawa metabolit sekunder dilakukan partisi dengan berbagai variasi pelarut (fraksinasi). Fraksinasi herba sirih cina dibuat dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC)

menggunakan corong pisah. Pemisahan secara partisi cair-cair harus mempunyai perbedaan kelarutan antara pelarut dan zat terlarut serta kedua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur. Proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran yang berturut-turut menggunakan pelarut non polar (n-hexana), semi polar (etil asetat) dan polar (air). “Masing-masing pelarut akan melarutkan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai kepolaran yang sama” (Pakpahan, D.T, 2020).“Penggunaan metode ini bertujuan meningkatkan kandungan senyawa yang hendak diambil dengan cara menghilangkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin, sehingga diperoleh hasil ekstrak murni” (Dwitiyanti & Kusuma, 2015).

Senyawa non-polar seperti alkaloid yang berada pada ekstrak etanol akan terdistribusi kedalam pelarut n-heksan, senyawa alkaloid yang bersifat semi polar akan terdistribusi kedalam pelarut etil asetat dan senyawa flavonoid dan tanin yang bersifat polar akan terdistribusi dengan pelarut etanol (Harborne, 1984).

Ekstrak herba sirih cina yang sudah dalam bentuk kental sebanyak 30 gram dilarutkan dengan aquadest 90 ml kemudian ditempatkan dalam corong berbeda lalu difraksinasi menggunakan larutan n-heksana dengan perbandingan (1:1) dengan waktu kurang lebih menit dan diulang sampai larutan jernih. Hasil dari fraksinasi n-heksana dipekatkan menggunakan rotary vaporator dan diuapkan sisa pelarut menggunakan waterbath sehingga didapatkan fraksi n-heksana pekat kemudian fraksi air nya akan difraksinasi lagi dengan pelarut etil asetat sama seperti cara sebelumnya sampai didapatkan hasil fraksi etil asetat pekat dan fraksi air pekat. Berikut hasil rendemen masing-masing fraksi :

Tabel 5.7 Hasil Rendemen fraksi n-heksana, etil asetat dan air

Bobot Ekstrak (gr)	Bobot Fraksi Kental (gr)			Rendemen (%)		
	n-heksana	Etil asetat	Air	n-heksana	Etil asetat	Air
55	9	4,6	14	16,4	8,4	25,4

Dari 55 gram ekstrak etanol 70% herba sirih cina didapatkan bobot kental fraksi n-heksan ialah 9 gram dengan nilai rendemen 16,4%, fraksi etil asetat ialah 4,6 gram dengan nilai rendemen 8,4%, dan fraksi air ialah 14 gram dengan nilai rendemen 25,4%.

Perbedaan jenis pelarut memengaruhi jumlah ekstrak yang diberikan, pelarut air mempunyai rendemen tertinggi diikuti fraksi n-heksana dan kemudian fraksi etil asetat. Berdasarkan hasil organoleptis pada fraksi n-heksan didapatkan adanya minyak pada fraksi tersebut. Hal ini menandakan bahwasanya pelarut n-heksan akan menyari senyawa-senyawa yang bersifat non polar. Etanol merupakan pelarut yang mampu mengekstrak senyawa flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan alkaloid. Pelarut n-heksan yang bersifat non polar bertujuan menghilangkan lemak dan mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti asam lemak, sterol, kumarin, dan beberapa terpenoid. Etil asetat dengan tingkat kepolaran menengah atau semi polar digunakan untuk mengekstraksi senyawa dengan polaritas menengah seperti flavonoid, tanin dan beberapa alkaloid. “Senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa semi polar akan larut dalam pelarut semi polar serta senyawa yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar” (Rahmawatiani,A., *et al.*2020)

5.7. Hasil Skrining Fitokimia dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Berdasarkan hasil skrinning fitokimia dengan metode uji reaksi, diketahui bahwasanya herba sirih cina positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan juga saponin. Selanjutnya, dilakukan skrinning fitokimia menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), yang tujuannya untuk mempertegas hasil dari skrinning awal ekstrak etanol herba sirih cina menggunakan metode uji reaksi dan menguji kandungan senyawa pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air menggunakan KLT.

Pada uji KLT alkaloid digunakan fase gerak kloroform : metanol (1 : 4), yang disemprot menggunakan pereaksi dragendorff sebagai pendeteksi, sehingga akan dinyatakan positif apabila terbentuk warna hijau kecoklatan

atau jingga kecoklatan. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan fase gerak yakni metanol : kloroform (1 : 9) dengan penampak noda yakni diuapkan amoniak (NH_3), sehingga dinyatakan positif apabila berwarna biru bila dilihat pada lampu UV 366 nm dan berwarna kuning setelah diuapi amoniak. Uji KLT senyawa triterpenoid digunakan fase gerak yakni kloroform : metanol (3 : 7) dengan pereaksi penampak noda lieberman-burchard, dinyatakan positif apabila terdapat bercak berwarna coklat, untuk steroid berwarna hijau-biru dan untuk triterpenoid berwarna ungu/merah setelah disemprot dengan pereaksi. Uji KLT senyawa tanin menggunakan fase gerak yakni metanol : air (6 : 4), dengan pereaksi FeCl_3 5% sebagai pendeteksi. Dinyatakan positif apabila terdapat bercak berwarna hitam atau ungu kehitaman setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 . Kemudian uji saponin dengan fase gerak kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) dengan pereaksi penampak noda lieberman-burchard, dinyatakan positif apabila terdapat warna ungu, setelah disemprot dengan pereaksi berwarna hijau/biru.

Tabel 5.8 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol, Fraksi n-heksana, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air Herba Sirih Cina

Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina

Identifikasi	Ketentuan	Nilai Rf	Hasil Pengamatan				Ket.
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi			
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Uji alkaloid	Hijau	0,07	Coklat	Coklat	Coklat	Ungu kehitaman	(-)
	kecoklatan/ jingga kecoklatan	0,69	Hijau	Hijau Kekuningan	Hijau Kecoklatan	Hijau berfluorosensi ungu	(+)
Uji Flavonoid	Berwarna kuning/hijau.	0,06	Coklat tua	Coklat tua	Coklat kehitaman	Hitam	(-)
	Berwarna biru pada UV 366	0,43	-	-	Fluorosensi kuning	-	(-)
		0,51	Kuning	Kuning	Hijau	Biru kehitaman	(+)

				kecoklatan			
		0,66	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau tua	(+)
		0,79	-	-	Fluorosensi kuning	-	(-)
		0,86	Hijau kekuningan	Kuning	Kuning	Biru kekuningan	(+)
		0,9	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau tua	(+)
Uji Tanin	Noda berwarna hitam/ungu pekat	0,43	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hitam	Hijau kecoklatan	(+)
		0,57	Coklat berfluorosen si kuning	Hitam	Hitam	Hitam	(+)
		0,93	Coklat	Coklat kehitaman	Hitam	Hitam	(+)
Uji triterpenoid/steroid	Terbentuk warna coklat, hijau-biru	0,14	Coklat	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan	(+)
		0,47	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau kecoklatan	Hijau	(+)
		0,57	-	Coklat muda	Coklat muda	Hijau	(+)
Uji saponin	Berwarna ungu, hijau atau biru	0,43	Coklat kehitaman	Hijau kecoklatan	Coklat kehitaman	Hijau	(+)
		0,64	Coklat berfluorosen si kuning	Coklat muda	Coklat keunguan	Coklat keunguan	(+)

Ket : (+) = Hasil positif mengandung senyawa tersebut, (-) = Hasil negatif mengandung senyawa tersebut

Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi n-Heksana Herba Sirih Cina

Identifikasi	Ketentuan	Rf	Hasil Pengamatan				Ket.
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi			
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Uji alkaloid	Hijau	0,21	Coklat	Coklat tua	Hitam	Hitam	(-)
	kecoklatan/ jingga kecoklatan	0,71	Hijau	Hijau Kecoklatan	Hijau Kecoklatan	Hijau kehitaman	(+)

Uji Flavonoid	Berwarna kuning/hijau. Biru pada UV 366	0,06	Coklat	Coklat tua	Coklat kehitaman	Hitam	(-)
		0,39			Fluorosensi kuning		(-)
		0,43	Hijau	Coklat	Coklat	Hitam	(-)
		0,63	Hijau	Hijau kecoklatan	Coklat	Hijau	(-)
		0,83	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Hijau	Hijau	(-)
		0,87	Hijau	Hijau	Hijau fluoresensi merah muda	Hijau kebiruan	(+)
Uji Tanin	Noda berwarna hitam/ungu pekat	0,5	Coklat berfluoresensi kuning	Hitam	Hitam	Hitam	(+)
Uji triterpenoid/steroid	Terbentuk warna coklat, hijau-biru	0,17	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat keunguan	(+)
		0,76	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hijau	Hijau kekuningan	(+)
Uji saponin	Berwarna ungu, hijau atau biru	0,4	Hijau tua	Hijau tua	Coklat kehitaman	Hijau tua	(+)
		0,83	Coklat berfluoresensi kuning	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan	(-)

Ket : (+) = Hasil positif mengandung senyawa tersebut, (-) = Hasil negatif mengandung senyawa tersebut.

Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Etil Asetat Herba Sirih Cina

Identifikasi	Ketentuan	Rf	Hasil Pengamatan				
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi			
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Uji alkaloid	Hijau kecoklatan/ jingga kecoklatan	0,68	Coklat muda	Coklat pudar	Coklat pudar	Abu	(-)
		0,73	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda	(-)
		0,79	Hijau	Hijau kecoklatan	Hijau	Hijau	(+*)
Uji	Berwarna	0,04	Hijau	Coklat tua	Coklat tua	Hijau kehitaman	(-)

Flavonoid	kuning/hijau. Biru pada UV 366		kecoklatan				
		0,09	Coklat muda	Coklat muda	-	-	(-)
		0,23	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	Coklat kehitaman	(-)
		0,63	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	-	(-)
		0,83	Hijau muda	Hijau muda	Hijau	-	(+*)
		0,51	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Kuning pudar	-	(+*)
		0,64	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau kecoklatan	Hijau	(+*)
		0,71	Kuning pudar	Kuning pudar	-	Hijau kebiruan	(+*)
		0,79	-	-	Fluorosensi putih	-	(-)
		0,86	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Fluorosensi putih	Hijau muda	(+*)
		0,91	Hijau	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	(+*)
Uji Tanin	Noda berwarna hitam/ungu pekat	0,64	Hijau kecoklatan	Kuning kehitaman	Hitam pudar	Coklat kehitaman	(+*)
		0,79	Coklat	Hitam	Hitam pudar	Hitam pudar	(+*)
Uji (**)triterpe noid (*)steroid	Terbentuk warna coklat, hijau-biru	0,14	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	Coklat kekuningan	(+*)
		0,36	Hijau pudar	Coklat pudar	Coklat pudar	Hijau kekuningan	(+*)
		0,64	Hijau pudar	Hijau pudar	Hijau pudar	Hijau pudar	(+*)
		0,67	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau	(+*)
Uji saponin	Berwarna ungu, hijau atau biru	0,23	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Coklat	Hijau	(+*)
		0,71	Coklat berfluorosensi kuning	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan	(-)

Ket : (+) = Hasil positif mengandung senyawa tersebut; (-) = Hasil negatif mengandung senyawa tersebut; (+*)= Hasil positif mengandung senyawa steroid; (**)= Hasil positif mengandung senyawa triterpenoid

Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Air Herba Sirih Cina

Identifikasi	Ketentuan	Rf	Hasil Pengamatan				Ket.
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi			
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Uji alkaloid	Hijau kecoklatan/ jingga kecoklatan	0,07	Coklat	Coklat tua	Coklat tua	Ungu kehitaman	(-)
		0,50	Kuning pudar	Kuning Kecoklatan	Kuning pudar	Hijau kekuningan	(+)
		0,54	Coklat pudar	Coklat pudar	Coklat pudar	Hijau berfluorosensi ungu	(-)
Uji Flavonoid	Berwarna kuning/hijau. Biru pada UV 366	0,07	Hijau muda	Kuning kecoklatan	-	Hijau berfluorosensi biru	(+)
Uji Tanin	Noda berwarna hitam/ungu pekat	0,5	Coklat berfluorosensi kuning	Hitam	Hitam	Hitam	(+)
Uji triterpenoid/steroid	Terbentuk warna coklat, hijau-biru	0,14	Coklat	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan	(+)
		0,5	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Hijau kekuningan	(+)
		0,66	Hijau muda	Hijau muda	-	-	(-)
Uji saponin	Berwarna ungu, hijau atau biru	0,36	Coklat berfluorosensi kuning	Coklat berfluorosensi kuning	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	(-)

Ket : (+) = Hasil positif mengandung senyawa tersebut, (-) = Hasil negatif mengandung senyawa tersebut

Uji pendahuluan pada ekstrak etanol herba sirih cina, diperoleh hasil positif terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid dan saponin. Kemudian ekstrak herba sirih cina dilakukan fraksinasi yakni fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air, dari ketiga fraksi dan ekstrak etanol herba sirih cina dilanjutkan pemisahan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan

fase gerak yang disesuaikan dengan jenis senyawa yang akan dianalisis dan dilihat pada sinar tampak, sinar UV 254 dan 366 nm. “KLT dilakukan untuk menegaskan hasil yang didapat dari uji pendahuluan (skrining fitokimia) yang menunjukkan positif adanya golongan senyawa, spot yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas”(Harborne, 1987).

Pemisahan KLT menggunakan indikator berfluorosensi atau pereaksi penyemprot untuk membantu noda berpendar di warna yang terjadi pemisahan. Indikator fluorosensi merupakan senyawa yang memunculkan sinar tampak yang mempunyai panjang gelombang seperti sinar UV. “Beberapa senyawa organik berfluorosensi dan nampak pada 254 nm dan 366 nm” (Gritter, 1991). “Penampakan warna pada panjang gelombang tersebut disebabkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aukrosom pada noda tersebut. Fluorosensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi lalu kembali dengan melepaskan energi berbarengan” (Sudjaji, 1988).

Ketika lempeng diberikan dibawah sinar UV diperoleh noda dengan beberapa nilai R_f yang berbeda. Secara teoritis, komponen suatu senyawa akan terdistribusi ke dalam 2 fase yang berbeda dalam kesetimbangan dinamis. Hal ini dikarenakan setiap senyawa mempunyai kemampuan yang berbeda terhadap fase diam dan fase geraknya, sehingga komponen tersebut terpisah.

“Fase diam yakni plat silica gel mempunyai sifat lebih polar sehingga senyawa yang bersifat polar akan terikat pada plat, sedangkan senyawa yang bersifat lebih nonpolar akan terbawa eluen atau akan naik sehingga menghasilkan nilai R_f yang berbeda-beda”(Effendy, 2010).

Data yang diperoleh dari uji KLT berupa noda berwarna pada kromatogram dan nilai R_f yang merupakan hasil dari elusi plat KLT dan memberikan penampakan mengenai senyawa yang terkandung dalam sampel uji. “Nilai R_f yang diperoleh, menggambarkan perbedaan sifat senyawa, selain

itu dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa” (Dyera Forestryana & Arnida, 2020).

Senyawa bersifat lebih polar jika nilai R_f pada noda lebih kecil sehingga senyawa yang mempunyai nilai R_f lebih kecil, koefisien distribusinya makin besar karena senyawa tertahan kuat pada fase diam (polar) dibandingkan dengan fase geraknya (non-polar).

5.7.1. Alkaloid

Dari data hasil uji penegasan KLT pada uji senyawa alkaloid pada ekstrak etanol herba sirih cina, diperoleh hasil terbentuknya noda yang dapat dilihat secara visual setelah diberi pereaksi dragendorff yakni hijau kekuningan, kemudian ketika dilihat pada sinar UV 254 sampel menunjukkan warna hijau kecoklatan dan pada sinar UV 366 nm sampel berfluoresensi biru dengan hasil nilai R_f 0,69 jadi, sampel mengandung senyawa alkaloid. Sedangkan pada fraksi n-heksana herba sirih cina, diperoleh pada fraksi n-heksana herba sirih cina mengandung senyawa alkaloid dengan diperoleh hasil noda secara visual setelah diberi pereaksi dragendorff yakni hijau kecoklatan begitupun pada sinar UV 254 dan 366 nm dengan hasil nilai R_f 0,71. Pada fraksi etil asetat herba sirih cina, diperoleh hasil terbentuknya noda yang dapat dilihat secara visual setelah diberi pereaksi dragendorff yakni hijau kecoklatan kemudian di sinar UV 254 nm dan 366 nm terbentuk warna hijau yang menunjukkan positif senyawa alkaloid dengan nilai R_f 0,79. Dan pada fraksi air herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi air herba sirih cina positif mengandung senyawa alkaloid yang dapat dilihat secara visual setelah diberi pereaksi dragendorff yakni terbentuk warna jingga kecoklatan, kemudian pada sinar UV 254 nm terbentuk warna kuning pudar sedangkan pada UV 366 nm terbentuk warna hijau kekuningan dengan nilai R_f 0,50.

Fluoresensi alkaloid dengan warna biru atau kuning merupakan jenis alkaloid striknin, purin, dan brusin (Elisabeth Oriana Jawa La, *et. al.*, 2020).

Nilai Rf yang dihasilkan menunjukkan nilai yang paling rendah yakni fraksi air herba sirih cina sehingga dianggap bahwasanya senyawa itu cenderung lebih polar dan terdistribusi pada plat KLT, diikuti dengan nilai Rf ekstrak etanol herba sirih cina lalu fraksi n-heksana dan nilai Rf yang paling tinggi yakni pada fraksi etil asetat yang artinya senyawa tersebut cenderung non-polar dan lebih terdistribusi pada fase geraknya.

Warna yang muncul saat pengamatan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm berwarna jingga, ungu kebiruan dan coklat (Abraham, 2014).

5.7.2. Flavonoid

Dari data uji senyawa flavonoid, hasil yang diperoleh pada sampel ekstrak etanol herba sirih cina yakni menghasilkan tujuh titik noda dimana yang positif mengandung flavonoid ialah noda pada Rf 0,51; 0,66; 0,86 dan 0,90 berturut-turut menghasilkan warna kuning kecoklatan; hijau kekuningan; kuning dan hijau kekuningan sesudah diuapi dengan amoniak (NH_3), kemudian pada sinar UV 366 nm terbentuk noda berturut-turut biru kehitaman; hijau tua; biru kekuningan dan hijau tua.

Sedangkan pada fraksi n-heksana herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi n-heksana herba sirih cina menghasilkan enam titik noda dimana yang diduga positif mengandung senyawa flavonoid ialah noda pada Rf 0,87 dengan hasil noda secara visual berwarna hijau setelah diuapi amoniak kemudian pada sinar UV 366 nm terbentuk noda hijau/kebiruan. Selanjutnya pada fraksi etil asetat herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi etil asetat menghasilkan sebelas titik noda, dimana yang diduga positif mengandung senyawa flavonoid ialah

Rf 0,51; 0,64; 0,71; 0,83 dan 0,91 dengan hasil noda secara visual berturut-turut hijau kekuningan; hijau kekuningan; kuning pudar; hijau muda dan hijau setelah diuapi amoniak kemudian pada sinar UV 366 nm terbentuk noda berturut-turut hijau; hijau kebiruan dan hijau. Selanjutnya pada fraksi air herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi air menghasilkan spot noda dengan nilai Rf 0,07 diduga positif mengandung senyawa flavonoid karena terlihat noda kuning kecoklatan secara visual setelah diuapi amoniak dan pada sinar UV 366 nm terbentuk warna hijau berfluoresensi biru.

Nilai Rf yang dihasilkan menunjukkan nilai yang paling kecil yakni fraksi air herba sirih cina, maka dikatakan bahwasanya senyawa tersebut lebih terdistribusi pada plat silica gel sehingga senyawa tersebut cenderung lebih polar, diikuti dengan nilai Rf fraksi etil asetat herba sirih cina lalu ekstrak etanol dan nilai Rf yang paling tinggi yakni pada fraksi n-heksana yang artinya senyawa tersebut cenderung non-polar karena lebih terdistribusi pada fase geraknya.

Warna bercak atau noda yang timbul merupakan penafsiran dari segi struktur flavonoid. Adapun hubungan bercak dengan struktur flavonoid pada uji KLT dapat menentukan golongan suatu senyawa flavonoid yang terkandung dalam sampel. Noda kuning yang terbentuk setelah diuapi dengan amoniak dan berfluoresensi biru jika dilihat pada sinar UV merupakan tipe senyawa flavonoid yang termasuk dalam golongan flavon dan flavonon yang tidak mempunyai 5-OH bebas, atau golongan flavonol yang tidak mempunyai 5-OH bebas tetapi terjadi substitusi pada struktur 3-OH. Namun, jika pada sinar UV tidak tampak, dan ketika diuapkan dengan amoniak membentuk fluoresensi biru muda, maka kemungkinan senyawa flavonoid tersebut masuk dalam golongan isoflavone yang tidak mempunyai 5-OH bebas (Elisabeth Oriana Jawa La, *et. al*, 2020). Pada uji KLT flavonoid sampel herba sirih

cina, terbentuk warna kuning/ hijau setelah diuapi dengan amoniak dan berfluoresensi biru ketika dilihat pada sinar UV 366 nm, sehingga dapat disimpulkan bahwasanya kemungkinan senyawa flavonoid yang terkandung pada sampel herba sirih cina merupakan golongan flavon dan flavonon atau flavonol.

5.7.3. Tanin

Dari data uji senyawa tanin, hasil yang diperoleh pada sampel ekstrak etanol herba sirih cina yakni menghasilkan tiga titik noda yang diduga positif mengandung senyawa tanin dengan nilai R_f 0,43; 0,57; dan 0,93 dimana hasil noda secara visual berturut-turut berwarna hijau kecoklatan; hitam; dan coklat kehitaman setelah disemprot pereaksi $FeCl_3$ 5% kemudian pada sinar UV 254 nm ketiganya membentuk noda hitam dan pada sinar UV 366 nm terbentuk warna hijau kecoklatan; dan hitam pekat. Sedangkan pada fraksi n-heksana herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi n-heksana herba sirih cina menghasilkan noda dengan nilai R_f 0,5 dimana diduga positif mengandung senyawa tannin dengan hasil noda secara visual berwarna hitam setelah disemprot pereaksi $FeCl_3$ 5% kemudian terbentuk warna hitam pekat pada sinar UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya pada fraksi etil asetat herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya fraksi etil asetat menghasilkan dua titik noda yang diduga positif mengandung senyawa tannin dengan nilai R_f 0,64; dan 0,79 karena setelah disemprot pereaksi $FeCl_3$ 5% terlihat secara visual berwarna kuning kehitaman dan hitam pekat kemudian pada sinar UV 254 nm terbentuk noda berwarna hitam pudar dan pada sinar UV 366 nm terbentuk noda berwarna coklat kehitaman dan hitam pudar. Selanjutnya pada fraksi air herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi air menghasilkan titik noda yang diduga positif mengandung senyawa tanin pada nilai R_f 0,5 karena setelah disemprot pereaksi $FeCl_3$ 5% terbentuk noda berwarna hitam

secara visual dan terbentuk noda hitam pada sinar UV 254 dan 366 nm.

Nilai Rf yang dihasilkan menunjukkan nilai yang paling kecil yakni fraksi air dan fraksi n-heksana herba sirih cina diikuti dengan nilai Rf fraksi etil asetat herba sirih cina dan nilai Rf yang paling tinggi yakni pada ekstrak etanol herba sirih cina.

“Penggunaan penampak noda FeCl_3 5% akan bereaksi terhadap gugus hidroksil pada senyawa tannin (Santoso dan Heresmita, 2015). Senyawa tannin yang terelusi pada proses KLT akan menghasilkan bercak noda berwarna hijau, coklat, merah ungu, biru hitam yang pekat setelah disemprot dengan FeCl_3 5%” (Harborne, 1987)

5.7.4. Triterpenoid/Steroid

Dari data uji senyawa triterpenoid/steroid, hasil yang diperoleh pada sampel ekstrak etanol herba sirih cina yakni menghasilkan tiga titik noda yang diduga positif mengandung senyawa steroid pada nilai Rf 0,14; 0,47; dan 0,57 setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard ditunjukkan noda secara visual berturut-turut berwarna coklat; hijau kekuningan; dan coklat muda, kemudian pada sinar UV 254 nm membentuk noda berwarna coklat; hijau kekuningan; dan coklat muda, dan terbentuk noda hijau kecoklatan; dan hijau pada sinar UV 366 nm. Sedangkan pada fraksi n-heksana herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi n-heksana herba sirih cina menghasilkan dua titik noda yang diduga positif mengandung senyawa steroid dengan nilai Rf 0,17; dan 0,76 dimana hasil noda secara visual berwarna coklat; dan hijau kecoklatan setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard kemudian terbentuk noda berwarna coklat; dan hijau pada sinar UV 254 nm dan terbentuk noda coklat keunguan; dan hijau kekuningan pada sinar UV 366 nm. Selanjutnya pada fraksi etil asetat herba sirih cina, diperoleh hasil

bahwasanya pada fraksi etil asetat menghasilkan empat titik noda yang diduga positif mengandung senyawa steroid karena noda secara visual berwarna coklat muda; coklat pudar; hijau pudar dan hijau kekuningan setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard pada nilai R_f 0,14; 0,36; 0,64; dan 0,67. Kemudian terbentuk noda berwarna coklat; coklat pudar; hijau pudar; dan hijau di sinar uv 254 nm dan terbentuk noda berwarna coklat kekuningan; hijau kekuningan; hijau pudar; dan hijau di sinar UV 365 nm. Selanjutnya pada fraksi air herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi air menghasilkan dua spot noda yang diduga positif mengandung senyawa steroid karena terbentuk noda berwarna coklat; dan kuning kecoklatan secara visual dengan nilai R_f 0,14; dan 0,50 dan terbentuk noda berwarna hijau kecoklatan; dan hijau kekuningan di panjang gelombang 366 nm.

Hasil pemeriksaan terhadap spot noda menunjukkan bahwasanya senyawa steroid pada spot sampel ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat pada nilai R_f 0,14 bersifat lebih polar dibanding dengan spot lainnya, sedangkan bercak senyawa steroid pada sampel fraksi n-heksana merupakan jenis steroid yang bersifat paling non polar pada nilai R_f 0,76. Hal ini terlihat dari sifat fase diam silika gel yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar, sehingga masing-masing bercak akan bergerak sesuai dengan kepolarannya masing-masing. Makin besar nilai R_f maka makin non polar senyawa steroid yang dihasilkan. Kromatogram yang dihasilkan oleh fraksi n-heksana herba sirih cina ialah noda berwarna hijau kecoklatan setelah diuapi amoniak.

5.7.5. Saponin

Dari data uji senyawa saponin, hasil yang diperoleh pada sampel ekstrak etanol herba sirih cina yakni menunjukkan dua titik noda yang diduga positif mengandung senyawa saponin karena hasil noda secara visual berwarna hijau kecoklatan; dan coklat

muda setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard dengan nilai R_f 0,34; dan 0,64 kemudian membentuk noda coklat; dan coklat keunguan di panjang gelombang 254 nm dan terbentuk noda hijau; dan coklat keunguan pada panjang gelombang 366 nm. Sedangkan pada fraksi n-heksana herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi n-heksana herba sirih cina menghasilkan spot noda pada nilai R_f 0,40 dimana positif mengandung senyawa saponin dengan hasil noda secara visual berwarna hijau tua setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard kemudian pada panjang gelombang 254 nm terbentuk noda berwarna coklat kehitaman dan pada panjang gelombang 366 nm terbentuk noda hijau tua. Selanjutnya pada fraksi etil asetat herba sirih cina menghasilkan spot noda dengan nilai R_f 0,23 yang diduga positif mengandung senyawa saponin karena noda secara visual berwarna hijau kecoklatan setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard kemudian pada panjang gelombang 254 nm terbentuk noda berwarna coklat dan pada panjang gelombang 366 nm terbentuk noda berwarna hijau. Selanjutnya pada fraksi air herba sirih cina, diperoleh hasil bahwasanya pada fraksi air diduga tidak mengandung senyawa saponin karena tidak terbentuk noda berwarna ungu, hijau/biru secara visual begitu juga pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.

Hasil pemeriksaan pada fraksi uji menunjukkan bahwasanya senyawa saponin pada noda sampel fraksi etil asetat di nilai R_f 0,23 bersifat lebih polar dibandingkan dengan noda lainnya sedangkan senyawa terpenoid pada noda sampel ekstrak etanol dengan nilai R_f 0,64 merupakan jenis senyawa saponin bersifat paling non-polar.

Menurut Cahyadi (2006) Timbulnya bercak warna sesudah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard karena adanya reaksi substansi H pada gugus $-OH$ dari glikosida saponin dengan gugus CH_3COO- menyebabkan energi yang dibutuhkan untuk transisi

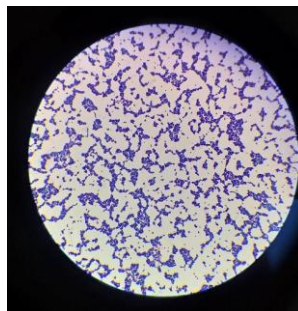
electron ke tingkat eksitasi menjadi lebih kecil serta panjang gelombangnya menjadi panjang sehingga intensitas warna berada pada daerah visible. Perbedaan warna pada tiap bercak mengidentifikasi jenis saponin yang terkandung dalam sampel, bercak berwarna biru dan hijau mengindikasikan adanya saponin steroid, sedangkan bercak yang berwarna ungu mengindikasikan adanya saponin triterpenoid (Monghimipour, 2015).

Hasil KLT menunjukkan senyawa yang tersari dalam ekstrak etanol herba sirih cina dan fraksinasi n-heksana ialah senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan saponin. Dapat tersari karena etanol termasuk pelarut yang dapat menyari senyawa yang bersifat polar maupun non-polar seperti senyawa flavonoid, saponin, tannin, antrakuinon, terpenoid dan alkaloid (Irawan.H, *et al.* 2019). Pelarut n-heksan yang bersifat non polar bertujuan menghilangkan lemak dan mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti asam lemak, sterol, kumarin, dan beberapa terpenoid. Sedangkan senyawa yang tersari dalam fraksinasi etil asetat dan fraksinasi air ialah senyawa flavonoid, tannin dan steroid. “Karena etil asetat merupakan pelarut dengan tingkat kepolaran menengah atau semi polar yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa dengan polaritas menengah seperti flavonoid, tanin dan beberapa alkaloid” (Sharker.D, *et al.* 2006).

5.8. Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*

“*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif dengan diameter 0,5-1,0 mm, berbentuk serangkaian buah anggur, tidak membentuk spora dan tidak bergerak”(BSN 2015). Bakteri yang digunakan pada penelitian kali ini berasal dari Laboratorium RSUD Sultan Imanuddin. Bakteri ini dibuktikan bentuk dan sifatnya menggunakan pewarnaan gram di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi STIKes Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bakteri berwarna ungu yang menyatakan bahwasanya bakteri ini termasuk bakteri gram positif dan

menunjukkan bentuk yang bulat bergerombol yang menyatakan bahwasanya bakteri tersebut termasuk dalam bakteri berbentuk coccus.



Gambar 5.1 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 100x

5.9. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina Terhadap *Staphylococcus aureus*

Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram agar. Pada metode ini digunakan kontrol negatif berupa aquadest steril, dan kontrol positif yakni suspensi antibiotik clindamycin. Parameter Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode difusi cakram agar dapat diketahui dengan melihat adanya clear zone di sekitar kertas cakram yang sudah diberi kontrol ataupun ekstrak dan fraksi herba sirih cina (adanya pertumbuhan bakteri) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah dilakukan uji antibakteri ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina yang dibuat 3 kali pengulangan selama 24 jam kemudian mengukur dan menghitung rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai respon terhadap berbagai konsentrasi ekstrak dan fraksinasi yang dilihat pada tabel 5.9 di bawah ini.

Tabel 5.9 Hasil Diameter Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Konsentrasi	Pengulangan			Mean Zona Hambat (mm)	Interpretasi
		I	II	III		
Kontrol	(+)	32,3	35,0	39,1	35,5	Sangat kuat

	(-)	-	-	-	-	Tidak ada
Ekstrak etanol	25%	7,5	9,7	9,5	8,9	Sedang
	50%	10,5	13,5	15,2	13,0	Kuat
	75%	13,5	14,8	16,6	15,0	Kuat
Fraksi air	25%	6,3	7,1	13,2	8,9	Sedang
	50%	14,8	7,0	-	10,9	Kuat
	75%	19,8	11,3	13,2	14,8	Kuat
Fraksi n-heksan	25%	-	-	-	-	Tidak ada
	50%	-	-	-	-	Tidak ada
	75%	7,0	14,5	6,5	9,3	Sedang
Fraksi etil asetat	25%	7,3	8,7	7,0	7,7	Lemah
	50%	10,5	10,0	10,0	10,2	Kuat
	75%	17,7	16,8	15,4	16,6	Kuat

“Menurut Davis and Stout (1971) klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri mempunyai interpretasi jika zona hambat <5 mm dikatakan lemah, 5-10 mm dikatakan sedang, 11-20 mm dikatakan kuat dan >20 mm dikatakan respon hambatan sangat kuat.” Hasil pengamatan ditunjukkan ekstrak etanol herba sirih cina (*Peperomia pelludica* L. Kunth) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pemberian ekstrak dengan variasi konsentrasi 25%; 50%; 75% menyatakan adanya zona hambat dari ekstrak etanol herba sirih cina dengan rerata diameter zona hambat yakni 8,9 mm; 13,0 mm; 15,0 mm dengan respon hambatan sedang; kuat; kuat. Zona hambat terkecil yakni pada konsentrasi 25% dan zona hambat terbesar pada konsentrasi 75%. Makin tinggi konsentrasi ekstrak etanol herba sirih cina maka kandungan senyawa aktifnya juga makin besar dengan demikian luas zona hambat yang terbentuk pun makin besar.

Sejalan dengan penelitian Eldo & Theopillus (2015) yang melakukan penelitian mengenai “uji daya hambat ekstrak etanol suruhan terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* secara *in-vitro* menunjukkan bahwasanya ekstrak etanol tumbuhan suruhan terhadap pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus tampak bahwasanya pemberian ekstrak dengan variasi konsentrasi 25% 50% dan 75% menunjukkan adanya respon hambatan dari ekstrak etanol tumbuhan suruhan dengan rata-rata zona hambat pada konsentrasi 25% ialah 5 mm, konsentrasi 50% ialah 10 mm dan pada konsentrasi 75% ialah 16 mm. Adanya perbedaan tingkat hambatan dari berbagai konsentrasi disebabkan karena makin tinggi konsentrasi ekstrak etanol tumbuhan suruhan maka kandungan bahan aktifnya juga akan makin besar sehingga luas zona hambatan yang terbentuk juga makin besar.”

Kemudian pemberian fraksi air herba sirih cina dengan variasi konsentrasi 25%; 50%; 75% menunjukkan adanya respon hambatan dari fraksi air herba sirih cina dengan rerata diameter zona hambat 8,9 mm; 10,9 mm; 14,8 mm dengan respon hambatan sedang; kuat; kuat. Pada pemberian fraksi n-heksana herba sirih cina dengan variasi konsentrasi 25%; 50%; 75% menunjukkan adanya respon hambatan dari fraksi n-heksana herba sirih cina pada konsentrasi 75% dengan interpretasi sedang, tetapi konsentrasi 25% dan 50% tidak terbentuk clear zone di sekitar kertas cakram yang berarti konsentrasi tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Sedangkan pada kontrol positif antibiotik clindamycin dengan rerata zona hambat yakni 35,5 mm atau paling besar dibandingkan pemberian variasi konsentrasi ekstrak dan fraksi herba sirih cina yang artinya antibiotik tersebut sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Berbeda pada pemberian kontrol negatif terhadap bakteri *staphylococcus aureus* yang hasilnya tidak menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena tidak terbentuk clear zone disekitar kertas cakram.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak herba sirih cina tidak terlepas dari metabolit sekunder yang dihasilkan. Dapat dilihat pada table 5.9 diduga senyawa yang menghasilkan aktivitas antibakteri ialah senyawa flavonoid, tannin dan steroid karena semua ekstrak dan fraksi memberikan daya hambat terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan hasil KLT pada fraksi etil asetat dan fraksi air hanya menunjukkan adanya 3 senyawa tersebut sedangkan di ekstrak etanol dan fraksi n-heksana

menunjukkan 5 senyawa. Menurut Simbala (2009) “diduga senyawa yang memberikan aktivitas antibakteri ialah saponin, fenol, flavanoid, dan tanin.”

Dari beberapa sumber literatur bahwasanya herba sirih cina menunjukkan adanya aktivitas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Lapisan dinding sel bakteri gram positif lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Oleh karena itu, hanya dengan konsentrasi 25% ekstrak etanol, fraksi air dan fraksi etil asetat mampu memberikan aktivitas antibakteri.

Selanjutnya dilakukan uji efektivitas antibakteri yang didapat dengan membandingkan diameter zona hambat ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina yang terbesar dengan diameter zona hambat antibiotik Clindamycin.

Efektivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina terhadap antibiotik dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut : (Orho *et al.*,2015).

$$E = \frac{D}{Da} \times 100\%$$

E = Efektivitas antibakteri (%)

D = Diameter zona hambat ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina (mm)

Da = Diameter zona hambat antibiotik (mm)

Tabel 5.10 Hasil Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina

Perlakuan	Konsentrasi	Mean Zona Hambat (mm)	Efektivitas (%)
Ekstrak etanol	25%	8,9	25,1
	50%	13,0	36,6
	75%	15,0	42,3
Fraksi air	25%	8,9	25,1
	50%	10,9	30,7
	75%	14,8	41,7
Fraksi n-heksan	25%	-	-
	50%	-	-
	75%	9,3	26,2
Fraksi etil asetat	25%	7,7	21,7
	50%	10,2	28,7
	75%	16,6	46,8

Efektivitas antibakteri paling tinggi yakni pada fraksi etil asetat konsentrasi 75% (46,8%). Hal ini menandakan bahwasanya fraksi etil asetat herba sirih cina mempunyai potensi sebagai antibakteri, dikarenakan dalam fraksi etil asetat mengandung senyawa-senyawa metabolit golongan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi potensi antibakterinya masih di bawah antibiotik clindamycin. Faktor penyebabnya diduga karena ekstrak yang digunakan ialah ekstrak kasar yang di dalamnya mengandung berbagai senyawa aktif yang masing-masing memberikan efek berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi hambat minimum ditentukan berdasarkan konsentrasi terkecil dari ekstrak etanol herba sirih cina yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Dari hasil uji didapat bahwasanya fraksi etil asetat dari herba sirih cina menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibanding dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana dan fraksi air dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat herba sirih cina mempunyai aktivitas antibakteri seperti senyawa flavonoid, tannin dan triterpenoid.

Konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yakni pada konsentrasi fraksi etil asetat 75% > konsentrasi ekstrak etanol 75% > konsentrasi fraksi air 75% > konsentrasi fraksi n-heksana 75%, Hal ini tidak terlepas dari kandungan metabolit sekunder dalam herba sirih cina yang berguna sebagai zat antibakteri.

Pada fraksi etil asetat dan fraksi air herba sirih cina, uji KLT menyatakan bahwasanya terdapat senyawa aktif flavonoid, tannin dan steroid. Sedangkan pada ekstrak etanol dan fraksi n-heksana herba sirih cina mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan saponin. Menurut Antonioli, A. R (2004) “n-heksan merupakan pelarut non-polar yang dapat mengekstraksi senyawa sterol, kumarin, dan beberapa terpenoid (steroid). Senyawa stigmasterol dan fucosterol berhasil diisolasi dari herba suruhan termasuk golongan senyawa steroid. Senyawa ini dapat memberikan aktivitas sebagai antimikroba.”

Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein membran (proteinfenol) sehingga menyebabkan permeabilitasnya turun. “Mekanisme kerja flavonoid yakni kemampuannya dalam mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel yang menyebabkan sel menjadi lisis” (Sujatmiko, Y. A, 2014).

“Aktivitas antibakteri senyawa tannin diduga dapat bekerja dengan mengadakan komplek hidrofobik dengan protein, menginaktivasi enzim dan protein transport dinding sel, sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri. Selain itu juga tannin dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel akibatnya menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan mati” (Hashem, F.M. & El-Kiey, M.A. 2002)

“Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom” (Madduluri. S, 2013). “Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membrane menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis” (Karou.D, 2005)

Pada penelitian ini dilakukan uji statistik menggunakan kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan masing-masing konsentrasi 25%, 50%, dan 75% herba sirih cina. Analisis data dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak dan fraksi herba sirih cina. Selanjutnya data tersebut dilakukan pengujian normalitas untuk melihat apakah data pada setiap kelompok mengikuti sebaran normal, dan pengujian homogenitas untuk menentukan apakah setiap varian penelitian ini identik atau homogen.

Hasil analisa statistika pada uji normalitas menunjukkan bahwasanya data penelitian pada semua kelompok perlakuan mengikuti sebaran normal dan mempunyai homogenitas yang baik ($p > 0,05$), dengan nilai signifikansi 0,079. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas di atas maka data dikatakan memenuhi syarat untuk uji statistic parametrik sehingga akan

dilanjutkan menggunakan uji One Way Anova, yang tujuannya untuk mengetahui perbedaan efektivitas antibakteri pada setiap kelompok perlakuan. Dari uji ANOVA, diperoleh hasil yang menunjukkan bahwasanya terdapat perbedaan secara signifikan pada setiap kelompok perlakuan, yang ditunjukkan dengan hasil nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Sehingga, hal tersebut menyatakan bahwasanya hipotesis 1 diterima, yakni terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi herba sirih cina terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Analisa data tahap selanjutnya ialah uji lanjutan/LSD (*Least Significant Difference*), yang bertujuan untuk mengetahui kelompok perlakuan manakah yang mempunyai perbedaan secara signifikan, dan untuk menentukan konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji statistik menunjukkan bahwasanya tidak ada yg berbeda signifikan terhadap kontrol positif artinya belum ada yang memiliki kekuatan yang menjadi penghambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* sebaik antibiotik Clindamycin.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Kandungan fitokimia yang teridentifikasi dalam ekstrak etanol dan fraksi n-heksana yakni alkaloid, flavonoid, tannin, triterpenoid dan saponin. Kandungan fitokimia yang teridentifikasi dalam fraksi etil asetat dan fraksi air yakni flavonoid, tannin, dan triterpenoid.
2. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram agar, menunjukkan adanya peningkatan luas diameter zona hambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina.
3. Seluruh kelompok perlakuan dari ekstrak dan fraksinasi herba sirih cina kecuali fraksi n-heksana 25% dan 50% efektif terhadap bakteri *staphylococcus aureus* tetapi tidak ada yang mempunyai kekuatan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebaik antibiotik Clindamycin.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peningkatan konsentrasi ekstrak dan fraksi herba sirih cina agar dapat diketahui konsentrasi yang efektif dalam menghambat bakteri *staphylococcus aureus* melebihi kontrol positif.
2. Diharapkan dapat dilakukan penelitian terkait manfaat ekstrak dan fraksi herba sirih cina dalam menghambat bakteri lain dalam berbagai konsentrasi.
3. Perlu dilakukan upaya pengembangan ekstrak etanol herba sirih cina sebagai terapi alternatif infeksi bakteri khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri ekstrak etanol herba sirih cina secara *in vivo* (pada hewan coba) agar dapat diketahui kemanan dosis dan toksisitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Hariana.2011.*Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*. Jakarta: Penembar Swadaya
- Angelina, M., et al. 2015. *Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (Peperomia pellucida L. Kunth)*. *Biopropal Industri* Vol. 6 No.2.,53-61
- Antoniolli, A. R., Andrade, M. R., & Marchioro, M. 2004. *Anti-inflammatory and analgesic activity of Peperomia pellucida (L.) HBK (Piperaceae)*. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2 3), 215 218.
- A. T. and E. M. G. J.M.N. Llorens. *Stationary Phase In Gram negative Bacteria*. *FEMS Microbiol.*, pp. 476–495, 2010
- Atun, Sri.2014. *Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik bahan Alam*. UNY Press : Yogyakarta. Halaman 57
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S.K. 2016. *Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial activity: A review*. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71-79
- Boleng Didimus Tanah.2015.*Mikrobiologi Konsep-Konsep Dasar*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang
- Cowan, M. M.1999.*Plants products as antimicrobial agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 2332.9: *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 9. Penentuan Staphylococcus aureus Pada Produk Perikanan*. Jakarta (ID): Badan Standar nasional.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Puspa Swara, Anggota IKAPI. Jakarta
- Dandirwalu Eldo, Theopilus W. Watugul. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Suruhan (Piperumia Pellucida L.H.B Kunth) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In-Vitro*. *Biopendix*, Volume 2, Nomor 1, 2015, Hlm. 08-14
- Davis, S. & (1971). *Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay*. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4

- Dwitiyanti, S. & Kusuma, A. A. (2015). *Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 70% Herba Pegagan Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih Jantan*. Universitas Muhammadiyah. Jakarta Timur. Media Farmasi Vol 12 No.2. pp 176-185.
- Emilan, T. Kurnia, et al. 2011. *Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal*. Universitas Indonesia. Depok.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan oleh Sujatmi. Bandung: ITB Perss. Hal: 9-13, 21, 73, 102-103.
- Harti, A.S., 2014. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Andi offset. Halaman 72
- Hazel H.Oon et al., 2019. *Acne Management Guidelines by the Dermatological Society of Singapore*: Clin Aesthet Dermatol. 12(7):34–50
- Heni, S. A., dan Zaharah T. A. 2015. *Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (Baccaurea angulata Merr.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jurnal Kimia Khatulistiwa
- Hidayati, R. 2020. *Biotransformasi Senyawa Fenil Propanoid Ekstrak Laos (Alpinia Galanga) Dengan Mediator Ragi Tempe Dan Ragi Roti (Fermipan)*. Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta. Hal.9
- Hoffmann, D. 2003. *Medical Herbalism The Science and Practice of Herbal Medicine*. India: Inner Traditions
- Indonesia. Departemen Kesehatan. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan, 2000.
- Isna Jati Asiyah, Destik Wulandari. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (Peperomia Pellucida L. Kunth) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Jurnal Farmasi Indonesia, 2019, Vol. 16 No. 2 Hal 98-105
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXIII, Diterjemahkan oleh bagian mikrobiologi fakultas kedokteran universitas air langga, 205-209, Penerbit salemba medika: Jakarta
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2014. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Juariah Siti & Wulan Puspa Sari.2018.*Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains*.Pekanbaru: Akademi Analis Kesehatan Yayasan Fajar
- Karou, Damintoti. Savadogo. Aly. 2005. *Antibacterial activity of alkaloids from Sida acuta*. African Journal of Biotechnology. 4(12): 1452- 1457.
- Karomah,S.2019.*Uji Ekstrak Tumbuhan Sirih Cina (Peperomia Pellucida L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Staphylococcus Epidermidi*. Fakultas Biologi.Universitas Medan Area:Medan
- Kristianti, A. N,N.S. Aminah, M.Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas
- Kurniawan, B. dan W. F. Aryana P.2015. *Binahong (Cassia Alata L) as Inhibitor of Escherichiacoli Growth*. Medical Journal of Lampung University
- Lay, B.W. 1996. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : Penerbit Raja Grafindo Persada. Halaman 34, 42, 44, 70-72
- Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.5(4): 679-684.
- Majumder Pulak, et al. 2011. *Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological review of an amazing medicinal herb Peperomia pellucida(L.) HBK*. Trikaripur, Kasaragod (Dist.), Kerala. Rajiv Gandhi Institute of Pharmacy
- Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: CV. Trans Info Media
- Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. (2017). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya, 10(2), 1-11.
- Minarno, Eb.2015. *Skrining Fitokimia Dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah Carica Pubescens Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng*. El-Hayah Vol. 5, No.2:Malang

- Mukhriani.2014.*Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif*.
Makasar: UIN Alauddin Makassar
- Pakpahan, D.T, Sutriningsih. 2020. *Antibacterial Activity Of N-Hexane, Ethyl Acetate, And Butanol Fraction Of Lead Tree (Leucaena Leucocephala (Lam.) De Wit) Leaves Against Propionibacterium acnes and Staphylococcus epidermidis*. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal Vol. 5, No. 2, pp. 12-19
- Pardede, A., Yunazar, M., Mai, E. (2013). *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol dari Kulit Batang Manggis (Garcinia cymosa)*". Media Sains, Volume 6, Nomor 2 (hlm. 60-66)
- P. Majumder. *Phytochemical, Pharmacognostical, and Physicochemical Standardization of Peperomia pellucida (L.) HBK.*, Int. J. Compr. Pharm., vol. 8, no. 6, pp. 1–4, 2011
- Pujiati.2019.*Buku Ajar Mikrobiologi Umum*.Madiun:Universitas PGRI Madiun. Halaman 54-55
- Putri Megadana Hiaranya, Sukini, Yodong,.2017.*Mikrobiologi*.Jakarta Selatan : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC. Halaman 112-136
- Rahmawatiani.A.,et al. 2020. Kajian Literatur: *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Suruhan (Peperomia pellucida L.)*.12th Proc. Mul. Pharm. Conf. 2020.e-ISSN: 2614-4778
- Retnowati, Y., N. Bialangi, dan N. W. Posang. 2011. *Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureuspada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (Andrographis paniculata)*. Saintek
- Riris Ida Duma.,et al.2020.*Study of Phytochemicals, Toxicity, Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Leaf Extract Extract (Paperomia pellucida L)*. Indonesian Journal of Chemical Science and Technology : State University of Medan., Vol. 03, No. 2, Page; 74-80
- Rivai, H., Nanda Putri E., Fadhillah Humaira.2014. *Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (Piper betle L.)*. Jurnal Farmasi Higea. Padang

- Rubiyanto, D. 2016. *Teknik Dasar Kromatografi*. Deepublish : Yogyakarta. Hal.22
- S. Atun.2014.*Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam*. J. Konserv. Cagar Budaya Borobudur, vol. 8, no. 2
- Saifuddin A, Rahayu,Yuda Hilwan.2011.*Standarisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu.Yogyakarta.hal 1-22
- Sarker SD, Latif Z & Gray Al.2006. *Natural Product Isolation*. In: Sarker SD, Latif Z & Gray Al, editors. Natural Product Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey) . Humana Press Inc
- Sirait M, 2007. *Penuntun fitokimia dalam farmasi*. Penerbit ITB, Bandung.
- Siti Karomah.2019. *Ekstrak Tumbuhan Sirih Cina (Peperomia Pellucida L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Staphylococcus Epidermidis(Skripsi)*. Fakultas Biologi Universitas Medan Area : Medan
- Sujatmiko, Y. A. 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmannii B.) dengan Cara Ekstraksi yang Berbeda terhadap Escherichia Coli Sensitif dan Multiresisten Antibiotik*.
- Sumardjo, D . 2009. *Pengantar Kimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Toy, Lampus, Hutagalung.2015. *Uji daya hambat ekstrak rumput laut gracilaria Sp terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus*. jurnal e-Gigi (Eg), 3(1); 153-159.
- Wulandari L.2011.*Kromatografi Lapis Tipis*. Pt. Taman Kampus Presindo: Jember Hal.1-4 ; 14
- Wulandari Novia D.A, Kiki Mulkiya Y, Reza Abdul K.2017.*Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Propionibacterium acnes Menggunakan Metode Bioautografi*. Bandung:Universitas Islam Bandung

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
LABORATORIUM FMIPA**

Alamat: Jl. Jend. A. Yani Km. 35.8 Banjarmasin Telp/Fax (0511) 4772826, website: www.labdasar-unlam.org

**SERTIFIKAT HASIL UJI
Nomor: 154/LB.LABDASAR/IX/2021**

Nomor Referensi	: IX-21-001	Tanggal Masuk	: 1 September 2021
Nama	: Anisa Yustikka Putri	Tanggal Selesai	: 15 September 2021
Institusi	: STIKES Borneo C.M	Hasil Analisis	: Determinasi
No.Invoice	: 158/TS-09/2021	Jenis Tumbuhan	: Sirih Cina

HABITUS

Terna, tinggi mencapai 40 cm.

DAUN

Tunggal, bentuk daun cordate (hati), sekulen (berair), tepi daun rata, pertulangan menyirip, warna hijau muda kekuningan, panjang cm.

BATANG

Tegak atau menggantung, bentuk bulat, beruas, warna hijau muda, herbaceus, tinggi mencapai 10-20 cm.

AKAR

Sistem perakaran tunggang bercabang, warna akar putih.

BUAH

Buah bumi, bulat, kecil, berwarna hijau; biji berwarna coklat dan keras.

BUNGA

Majemuk, bunga tersusun dalam rangkaian bulir, tanpa perhiasan bunga, warna bunga hijau, panjang ibu tangkai 1-5 cm, berkelamin dua, kepala putik berjumlah 3, ujung bunga runcing.

NAMA LOKAL

Sirih cina, suruhan (Indonesia), saladan (jawa), rangu-rangu (sunda), gofu goroho (mahuku).





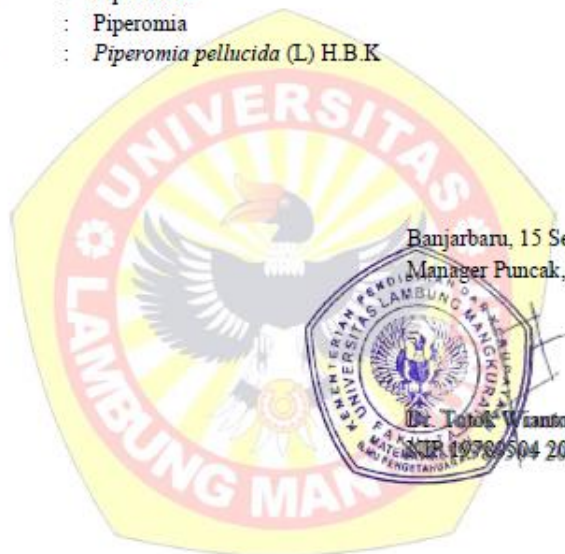
KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
LABORATORIUM FMIPA

Alamat: Jl. Jend. A. Yani Km. 35.8 Banjarbaru Telp/Fax (0511) 4772826, website: www.labdasar-ulm.org

SERTIFIKAT HASIL UJI
Nomor: 154/LB.LABDASAR/IX/2021

KLASIFIKASI

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Sup Divisi	: Spermatopyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piperomia
Species	: <i>Piperomia pellucida</i> (L) H.B.K.



Banjarbaru, 15 September 2021

Manager Puncak,

Dr. Totok Wianto, S.Si, M.Si.

NIP.19780504 200312 1 004

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen simplisia herba sirih cina, sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot simplisia}}{\text{Bobot tanaman basah}} \times 100\% \\ &= \frac{220,5 \text{ gr}}{5.500 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 4,0\%\end{aligned}$$

Perhitungan rendemen ekstrak herba sirih cina, sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \\ &= \frac{43,5 \text{ gr}}{200 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 21,75\%\end{aligned}$$

Perhitungan rendemen fraksi n-heksana herba sirih cina, sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi kental}}{\text{Bobot ekstrak kental}} \times 100\% \\ &= \frac{9 \text{ gr}}{55 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 16,4\%\end{aligned}$$

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat herba sirih cina, sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi kental}}{\text{Bobot ekstrak kental}} \times 100\% \\ &= \frac{4,6 \text{ gr}}{55 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 8,4\%\end{aligned}$$

Perhitungan rendemen fraksi air herba sirih cina, sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot fraksi kental}}{\text{Bobot ekstrak kental}} \times 100\% \\ &= \frac{14 \text{ gr}}{55 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 25,4\%\end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan Standarisasi Simplisia

Perhitungan penetapan kadar sari larut air :

Diketahui :

- Bobot cawan kosong (W_0)= 25,492 gr
- Bobot cawan + residu (W_2)= 25,741 gr
- Bobot simplisia (W_1)= 5 gr

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar sari larut air} &= \frac{W_2 + W_0}{W_1} \times \frac{100}{20} \times 100\% \\
 &= \frac{25,741 \text{ gr} - 25,492 \text{ gr}}{5 \text{ gr}} \times 5 \times 100\% \\
 &= 24,9\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan penetapan kadar sari larut etanol :

Diketahui :

- Bobot cawan kosong (W_0) = 24,618 gr
- Bobot cawan+residu (W_2) = 24,785 gr
- Bobot simplisia (W_1) = 5 gr

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar sari larut etanol} &= \frac{W_2 + W_0}{W_1} \times \frac{100}{20} \times 100\% \\
 &= \frac{24,785 \text{ gr} - 24,618 \text{ gr}}{5 \text{ gr}} \times 5 \times 100\% \\
 &= 16,7\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan penetapan kadar air :

Diketahui :

- Bobot cawan + sampel (W_1) = 29,13 gr
- Bobot cawan + sampel konstan (W_2) = 28,94 gr
- Bobot simplisia (W_0) = 2 gr

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air} &= \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100\% \\
 &= \frac{29,13 \text{ gr} - 28,94 \text{ gr}}{2 \text{ gr}} \times 100\% \\
 &= 9,5\%
 \end{aligned}$$

Perhitungan susut pengeringan :

$$I = 8,37\%$$

$$II = 7,89\%$$

$$III = 7,50\%$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{Susut pengeringan} &= \frac{8,37\% + 7,89\% + 7,50\%}{3} \\
 &= 7,92 \%
 \end{aligned}$$

Perhitungan bobot jenis ekstrak :

Diketahui :

- Bobot piknometer kosong (W_0) = 13,745 gr
- Bobot piknometer + air (W_1) = 23,282
- Bobot piknometer + ekstrak cair (W_2) = 23,418 gr

$$\begin{aligned}
 \text{BJ ekstrak} &= W_2 - W_0 \\
 &= 23,418 \text{ gr} - 13,745 \text{ gr} \\
 &= 9,673 \text{ gr}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \rho \text{ ekstrak} &= \frac{m}{V} \\
 &= \frac{9,673 \text{ gr}}{15 \text{ ml}} \\
 &= 0,645 \text{ gr/mL}
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan nilai Rf hasil KLT

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Triterpenoid	Saponin
Ekstrak	$Rf = \frac{6,1 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,87$	$Rf = \frac{6,9 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,98$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$	$Rf = \frac{5,5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,78$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$
Fraksi n-heksana	$Rf = \frac{6,5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,93$	$Rf = \frac{6,9 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,98$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$	$Rf = \frac{6,5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,93$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$
Fraksi etil asetat	$Rf = \frac{6,9 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,98$	$Rf = \frac{6,9 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,98$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$	$Rf = \frac{6 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,85$	$Rf = \frac{7 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 1$
Fraksi air	$Rf = \frac{5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,71$	$Rf = \frac{1,2 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,17$	$Rf = \frac{6,8 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,97$	$Rf = \frac{5,5 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,78$	$Rf = \frac{6,8 \text{ cm}}{7 \text{ cm}} = 0,97$

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak, Fraksinasi Herba Sirih Cina dan Kontrol Positif Clindamycin

- **Kontrol Positif** = $\frac{\text{Clindamycin } 150 \text{ mg}}{50 \text{ ml aquadest}} = 3 \text{ mg/ml} \sim 3000 \text{ } \mu\text{g/ml}$
- Konsentrasi yang diinginkan adalah $30 \text{ } \mu\text{g/ml}$

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 3000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 100 \text{ ml} \cdot 30 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \cdot 30 \text{ } \mu\text{g/ml}}{3000 \text{ } \mu\text{g/ml}}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

$$\frac{1 \text{ ml}}{1000} \times 30 \text{ } \mu\text{g/ml} = 0,03 \times 1000 = 30 \text{ } \mu\text{g/10 ml}$$
- **Perhitungan konsentrasi Ekstrak, Fraksi n-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air (25%, 50% dan 75%)**
 - **Konsentrasi 75%** = $\frac{75 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 7,5 \text{ gr} / 10 \text{ ml aquadest}$
 - **Konsentrasi 50%**

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$5 \text{ ml} \cdot 50\% = V_2 \cdot 75\%$$

$$V_2 = \frac{250}{75\%} = 3,3 \text{ ml} / 1,7 \text{ ml aquadest}$$

- **Konsentrasi 25%**

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$5 \text{ ml} \cdot 25\% = V_2 \cdot 75\%$$

$$V_2 = \frac{125}{75\%} = 1,7 \text{ ml} / 3,3 \text{ ml aquadest}$$

Lampiran 6. Rekap Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Konsentrasi	Pengulangan			Mean Zona Hambat (mm)	Interpretasi
		I	II	III		
Kontrol	(+)	32,3	35,0	39,1	35,5	Sangat kuat
	(-)	-	-	-	-	Tidak ada
Ekstrak	25%	7,5	9,7	9,5	8,9	Sedang
	50%	10,5	13,5	15,2	13,0	Kuat
	75%	13,5	14,8	16,6	15,0	Kuat
Fraksi air	25%	6,3	7,1	13,2	8,9	Sedang
	50%	14,8	7,0	-	10,9	Kuat
	75%	19,8	11,3	13,2	14,8	Kuat
Fraksi n-heksan	25%	-	-	-	-	Tidak ada
	50%	-	-	-	-	Tidak ada
	75%	7,0	14,5	6,5	9,3	Sedang
Fraksi etil asetat	25%	7,3	8,7	7,0	7,7	Lemah
	50%	10,5	10,0	10,0	10,2	Kuat
	75%	17,7	16,8	15,4	16,6	Kuat

Lampiran 7. Perhitungan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina

1. Konsentrasi ekstrak 25%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{8,9}{35,5} \times 100\% = 25,1\%$$

6. Konsentrasi fraksi air 75%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{14,8}{D_a} \times 100\% = 41,7\%$$

2. Konsentrasi ekstrak 50%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{13,0}{35,5} \times 100\% = 36,6\%$$

7. Konsentrasi fraksi n-heksana 75%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{9,3}{D_a} \times 100\% = 26,2\%$$

3. Konsentrasi ekstrak 75%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{15,0}{35,5} \times 100\% = 42,3$$

8. Konsentrasi fraksi etil asetat 25%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{7,7}{D_a} \times 100\% = 21,7\%$$

4. Konsentrasi fraksi air 25%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{8,9}{35,5} \times 100\% = 25,1\%$$

9. Konsentrasi fraksi etil asetat 50%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{10,2}{D_a} \times 100\% = 28,7\%$$

5. Konsentrasi fraksi air 50%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{10,9}{35,5} \times 100\% = 30,7\%$$

10. Konsentrasi fraksi etil asetat 75%

$$E = \frac{D}{D_a} \times 100\%$$

$$E = \frac{16,6}{D_a} \times 100\% = 46,8\%$$

Lampiran 8. Hasil Uji Statistika Efektivitas Herba Sirih Cina

Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality ^{b,c}							
	Variasi Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ZonaHambat	K(+) Clindamycin	,221	3	.	,986	3	,774
	Konsentrasi Ekstrak 25%	,356	3	.	,818	3	,157
	Konsentrasi Ekstrak 50%	,239	3	.	,975	3	,698
	Konsentrasi Ekstrak 75%	,209	3	.	,991	3	,823
	Konsentrasi FraksiAir 25%	,347	3	.	,836	3	,203
	Konsentrasi FraksiAir 50%	,181	3	.	,999	3	,940
	Konsentrasi FraksiAir 75%	,304	3	.	,908	3	,410
	Konsentrasi FraksiEtilAsetat 25%	,324	3	.	,878	3	,317
	Konsentrasi FraksiEtilAsetat 75%	,224	3	.	,984	3	,762
	Konsentrasi Fraksin-heksana 75%	,365	3	.	,797	3	,107

a. Lilliefors Significance Correction

b. ZonaHambat is constant when Variasi Konsentrasi = Konsentrasi Fraksin-heksana 25%. It has been omitted.

c. ZonaHambat is constant when Variasi Konsentrasi = Konsentrasi Fraksin-heksana 50%. It has been omitted.

Hasil Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

ZonaHambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,107	9	20	,079

Hasil Uji One Way Anova

ANOVA

ZonaHambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1886,379	9	209,598	15,819	,000
Within Groups	265,000	20	13,250		
Total	2151,379	29			

Hasil Uji *Post Hoc* (Duncan)

ZonaHambat						
	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan ^a	Konsentrasi FraksiAir 50%	3	7,267			
	Konsentrasi FraksiEtilAsetat 25%	3	7,667			
	Konsentrasi FraksiAir 25%	3	8,867	8,867		
	Konsentrasi Ekstrak 25%	3	8,900	8,900		
	Konsentrasi Fraksin-heksana 75%	3	9,333	9,333		
	Konsentrasi Ekstrak 50%	3	13,067	13,067	13,067	
	Konsentrasi FraksiAir 75%	3		14,767	14,767	
	Konsentrasi Ekstrak 75%	3		14,967	14,967	
	Konsentrasi FraksiEtilAsetat 75%	3			16,633	
	K(+)-Clindamycin	3				35,467
	Sig.		,098	,082	,285	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

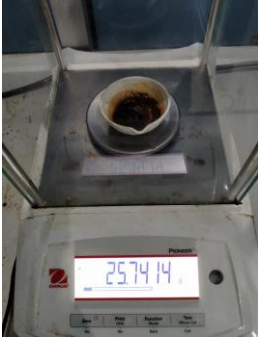
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

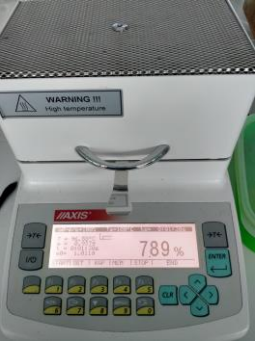
Lampiran 9. Gambar Proses Pembuatan Simplisia

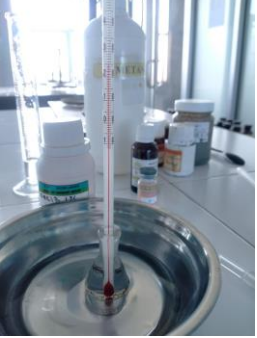
 Pengumpulan tanaman sirih cina segar	 Proses sortasi basah	 Penimbangan bahan segar
 Pencucian bahan segar dengan air mengalir	 Herba sirih cina yang telah dirajang	 Proses pengeringan dengan sinar matahari
 Hasil simplisia dari herba sirih cina	 Hasil dari sortasi kering simplisia	 Penimbangan bobot simplisia
 Proses pengecilan ukuran simplisia	 Hasil serbuk simplisia	 Proses pengayakan serbuk simplisia

 Hasil serbuk simplisia yang telah diayak	 Penimbangan bobot serbuk simplisia	
--	--	--

Lampiran 10. Gambar Standarisasi Simplisia

 Sampel untuk uji kadar larut air dan uji kadar larut etanol	 Sampel dan masing-masing pelarut dalam labu sumbat selama 24 jam	 Penyaringan filtrat kadar sari larut air dan larut etanol
 Penguapan 20 ml filtrat kadar sari larut air	 Penguapan 20 ml filtrat kadar sari larut etanol	 Bobot tetap cawan+residu air setelah di oven 105°C

		
Bobot cawan kosong untuk penetapan kadar sari larut air	Bobot cawan kosong untuk penetapan kadar sari larut etanol	Bobot tetap cawan+residu air setelah di oven 105°C
		
% susut pengeringan I	% susut pengeringan II	% susut pengeringan III
		
Bobot cawan petri untuk penetapan kadar air	Bobot cawan+sampel penetapan kadar air	Bobot cawan+sampel setelah di oven 105°C selama 5 jam untuk penetapan kadar air
		

Bobot cawan+sampel setelah di oven 105°C selama 1 jam kemudian untuk penetapan kadar air	Bobot cawan+sampel setelah di oven 105°C selama 1 jam kemudian untuk penetapan kadar air	Uji pH I simplisia
 Uji pH II simplisia	 Uji pH III simplisia	 Penimbangan bobot piknometer kosong untuk pengujian bobot jenis
 Penimbangan bobot piknometer + air	 Penetapan suhu air 25°C dalam piknometer	 Bobot piknometer+ekstrak cair 5% herba sirih cina

Lampiran 11. Gambar Proses Ekstraksi

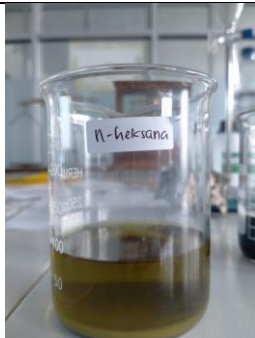
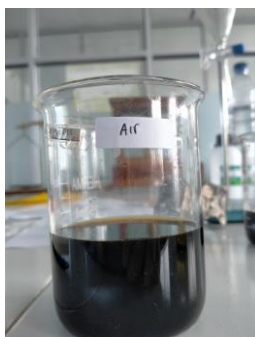
	
Proses meserasi dengan pelarut etanol 70%	Penyaringan filtrat I setelah meserasi 5 hari
	
Penyaringan filtrat II setelah remeserasi 24 jam	Penyaringan filtrat III setelah remeserasi 24 jam
	Proses penguapan pelarut ekstrak menggunakan rotary evaporator
	
Pemekatan ekstrak menggunakan waterbath pada suhu 70°C	Hasil ekstrak kental

Lampiran 12. Gambar Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina dengan Metode Uji Reaksi

Uji Fitokimia	Perlakuan	Ketentuan	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Tabung I : 0,5 gr ekstrak + 0,5 ml HCl 2N + 3 tetes pereaksi dragendorff	Terbentuk endapan jingga, positif alkaloid		(+)
	Tabung II : 0,5 gr ekstrak + 0,5 ml HCl 2N + 3 tetes pereaksi mayer	Terbentuk endapan kekuningan, positif alkaloid.		(+)
Flavonoid	0,5 gr ekstrak + 2 ml metanol panas + 0,1 gram logam Mg + 0,5 ml HCl pekat	Terbentuk warna merah atau jingga, positif flavonoid		(+)
Tanin	0,5 gr ekstrak herba sirih cina + 3 tetes larutan FeCl ₃ 1%.	Terbentuk warna biru kehitaman, positif tanin galat.		(+)

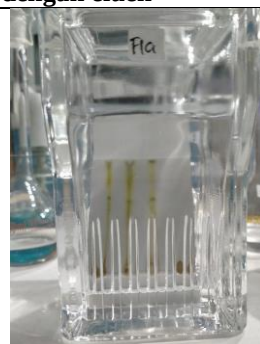
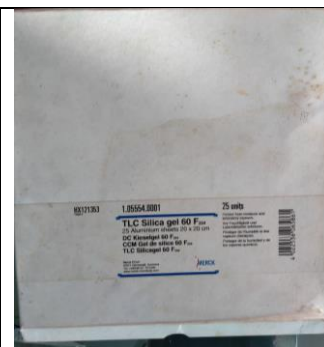
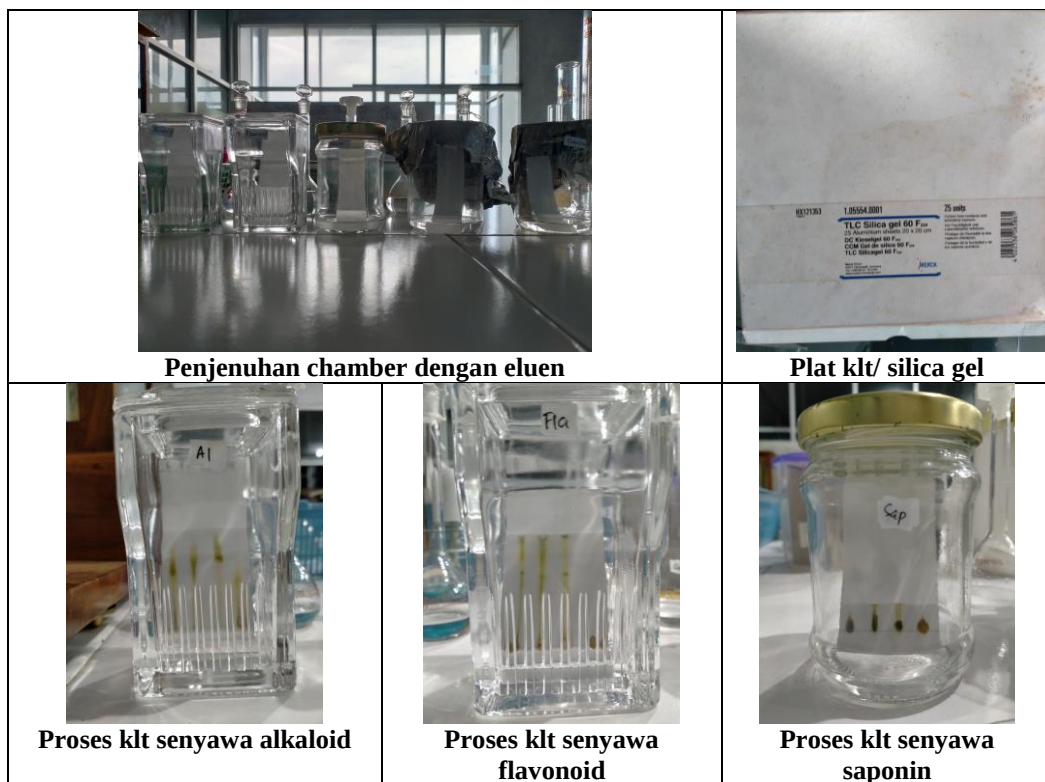
Triterpenoid/ Steroid	0,5 gr ekstrak herba sirih cina + 0,5 ml kloroform + 0,5 ml asam asetat glasial + 2 ml H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada batas 2 pelarut, positif triterpenoid. Terbentuk warna hijau kebiruan, positif steroid.		(+)Triterpenoid (-)Steroid
Saponin	1 gr ekstrak + 10 ml air panas, dinginkan, dikocok kuat 1 menit. Selanjutnya ditetesi larutan HCl 2N 1 tetes	Menunjukkan buih/busa selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 - 10 cm		(+)

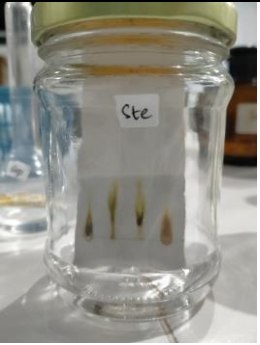
Lampiran 13. Gambar Fraksinasi Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina

		
Fraksinasi ekstrak herba sirih cina menggunakan pelarut air dan n-heksana	Fraksinasi ekstrak herba sirih cina menggunakan pelarut air dan etil asetat	Hasil fraksi n-heksana
		
Hasil fraksi etil asetat	Hasil fraksi air	Hasil fraksi kental n-heksana

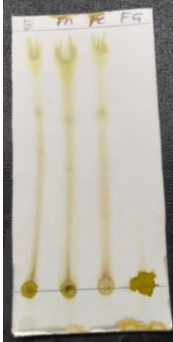
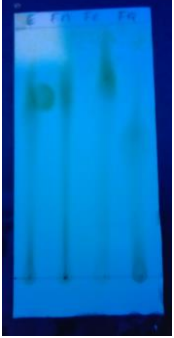
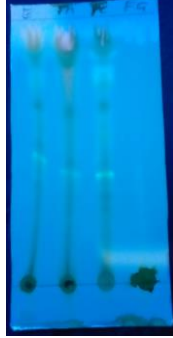
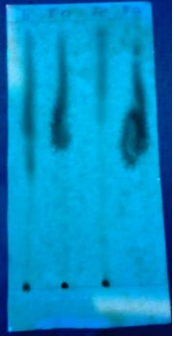
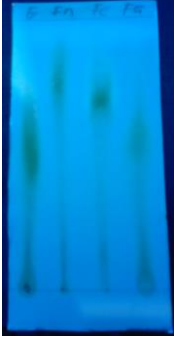
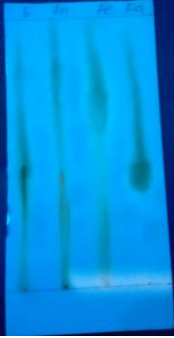


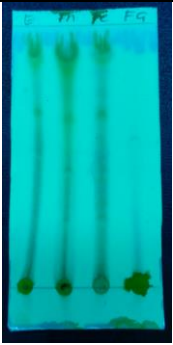
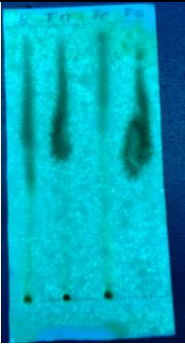
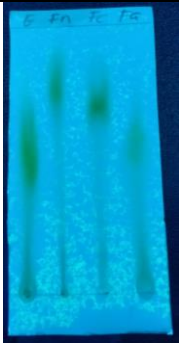
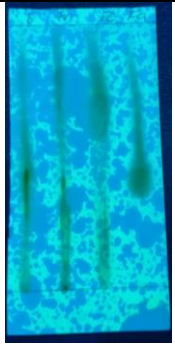
Lampiran 14. Gambar Skrinning Fitokimia Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Herba Sirih Cina



 Proses klt senyawa tanin	 Proses klt senyawa triterpenoid	
---	--	--

Lampiran 15. Rekap Hasil Skrinning Fitokimia Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol dan Fraksinasi Herba Sirih Cina

Senyawa	Uji Alkaloid	Uji Flavonoid	Uji Tanin	Uji Terpenoid	Uji Saponin
Perlakuan	Kloroform : metanol (1 : 4) pereaksi dragendorff.	Metanol : kloroform (1 : 9) penampak noda uap amoniak	Kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,4) pereaksi FeCl ₃ 5%.	Kloroform : metanol (3 : 7) pereaksi lieberman-burchard.	kloroform : metanol : air (13:7:2). Pereaksi Lieberman-Buchard
Standar warna	Hijau kecoklatan/ jingga kecoklatan	Kuning ketika diuapi amoniak dan biru pada UV 366	Noda berwarna hitam/ungu	Terbentuk warna coklat, hijau-biru	Berwarna ungu, hijau atau biru
Hasil Noda Ekstrak, Fraksi n-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air setelah dilakukan penyemprotan					
Hasil Noda Ekstrak, Fraksi n-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air pada UV 254					

Hasil Noda Ekstrak, Fraksi n-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air pada UV 366						
Kesimpulan	Ekstrak	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Fraksi n-heksana	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	Fraksi etil asetat	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Fraksi air	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)

Rekap Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Herba Sirih Cina

Perlakuan	Jarak Tempuh Noda	Rf	Hasil Pengamatan			
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi		
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
A	0,5 cm	0,07	Coklat	Coklat	Coklat	Ungu kehitaman
	4,8 cm	0,69	Hijau	Hijau Kekuningan	Hijau Kecoklatan	Hijau berfluorosnsi ungu
F	0,4 cm	0,06	Coklat tua	Coklat tua	Coklat kehitaman	Hitam
	3 cm	0,43	-	-	Fluorosensi kuning	-
	3,6 cm	0,51	Kuning	Kuning kecoklatan	Hijau	Hitam
	4,6 cm	0,66	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau tua
	5,5 cm	0,79	-	-	Fluorosensi kuning	-
	6 cm	0,86	Hijau kekuningan	Kuning	Kuning	Hijau kekuningan
	6,3 cm	0,9	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau tua
T	3 cm	0,43	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hitam	Hijau kecoklatan
	4 cm	0,57	Coklat berfluorose nsi kuning	Hitam	Hitam	Hitam
	6,5 cm	0,93	Coklat	Coklat kehitam	Hitam	Hitam
T/S	1 cm	0,14	Coklat	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan
	3,3 cm	0,47	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau kecoklatan	Hijau
	4 cm	0,57		Coklat muda	Coklat muda	Hijau
S	3 cm	0,43	Coklat kehitaman	Hijau kecoklatan	Coklat kehitaman	Hijau
	4,5 cm	0,64	Coklat berfluorose nsi kuning	Coklat muda	Coklat keunguan	Coklat keunguan

Ket: A: Alkaloid; F: Flavonoid; T: Tanin; T/S: Triterpenoid/Steroid; S: Saponin.
 (+):Positif mengandung senyawa tersebut ; (-):Tidak mengandung senyawa tersebut

Rekap Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi n-Heksana Herba Sirih Cina

Perlakuan	Jarak Tempuh Noda	Rf	Hasil Pengamatan			
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi		
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
A	1,5 cm	0,21	Coklat	Coklat tua	Hitam	Hitam
	5 cm	0,71	Hijau	Hijau Kecoklatan	Hijau Kecoklatan	Hijau kehitaman
F	0,4 cm	0,06	Coklat	Coklat tua	Coklat kehitaman	Hitam
	2,7 cm	0,39	-	-	Fluorosensi kuning	-
	3 cm	0,43	Hijau	Coklat	Coklat	Hitam
	4,4 cm	0,63	Hijau	Hijau kecoklatan	Coklat	Hijau
	5,8 cm	0,83	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Hijau	Hijau
	6,1 cm	0,87	Hijau	Hijau	Hijau fluoresensi merah muda	Hijau tua
T	3,5 cm	0,5	Coklat berfluorose nsi kuning	Hitam	Hitam	Hitam
T/S	1,2 cm	0,17	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat keunguan
	5,3 cm	0,76	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Hijau	Hijau kekuningan
S	2,8 cm	0,4	Hijau tua	Hijau tua	Coklat kehitaman	Hijau tua
	5,8 cm	0,83	Coklat berfluorose nsi kuning	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan

Ket: A: Alkaloid; F: Flavonoid; T: Tanin; T/S: Triterpenoid/Steroid; S: Saponin.
 (+):Positif mengandung senyawa tersebut ; (-):Tidak mengandung senyawa tersebut

Rekap Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Etil Asetat Herba Sirih Cina

Perlakuan	Jarak Tempuh Noda	Rf	Hasil Pengamatan			
			Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi		
				Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
A	4,8 cm	0,68	Coklat muda	Coklat pudar	Coklat pudar	Abu
	5,1 cm	0,73	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda	Hijau muda
	5,5 cm	0,79	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau
F	0,3 cm	0,04	Hijau kecoklatan	Coklat tua	Coklat tua	Hijau kehitaman
	0,6 cm	0,09	Coklat muda	Coklat muda	-	-

	1,8 cm	0,23	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	Coklat kehitaman
	2,7 cm	0,63	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	-
	3 cm	0,83	Hijau muda	Hijau muda	Hijau	-
	3,6 cm	0,51	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Kuning pudar	-
	4,5 cm	0,64	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau kecoklatan	Hijau
	5 cm	0,71	Kuning pudar	Kuning pudar	-	Hijau kebiruan
	5,5 cm	0,79	-	-	Fluorosensi putih	-
	6 cm	0,86	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Fluorosensi putih	Hijau muda
	6,4	0,91	Hijau	Hijau	Hijau kekuningan	Hijau
T	4,5 cm	0,64	Hijau kecoklatan	Kuning kehitaman	Hitam pudar	Kuning kehitaman
	5,5 cm	0,79	Coklat	Hitam	Hitam pudar	Hitam pudar
T/S	1 cm	0,14	Coklat muda	Coklat muda	Coklat	Coklat kekuningan
	2,5 cm	0,36	Hijau pudar	Coklat pudar	Coklat pudar	Hijau kekuningan
	4,5	0,64	Hijau pudar	Hijau pudar	Hijau pudar	Hijau pudar
	4,7	0,67	Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	Hijau	Hijau
S	2 cm	0,23	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	Coklat	Hijau
	5 cm	0,71	Coklat berfluoresensi kuning	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan

Ket: A: Alkaloid; F: Flavonoid; T: Tanin; T/S: Triterpenoid/Steroid; S: Saponin.

(+):Positif mengandung senyawa tersebut ; (-):Tidak mengandung senyawa tersebut

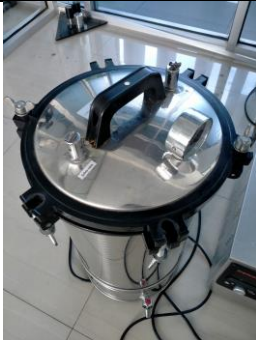
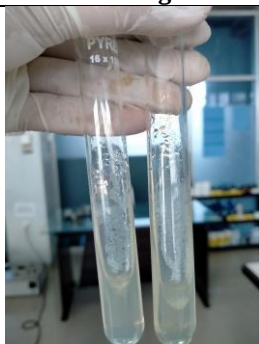
Rekap Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Air Herba Sirih Cina

Perlakuan	Rf	Hasil Pengamatan			
		Setelah elusi	Setelah dismprot pereaksi		
			Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
A	0,07	Coklat	Coklat tua	Coklat tua	Ungu kehitaman
	0,50	Kuning pudar	Kuning Kecoklatan	Kuning pudar	Hijau kekuningan
	0,54	Coklat pudar	Coklat pudar	Coklat pudar	Hijau berfluorosensi ungu
F	0,07	Hijau muda	Kuning		Hijau

			kecoklatan		berfluorosensi ungu
T	0,5	Coklat berfluorosensi kuning	Hitam	Hitam	Hitam
T/S	0,14	Coklat	Coklat	Coklat	Hijau kecoklatan
	0,5	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Hijau kekuningan
	0,66	Hijau muda	Hijau muda		
S	0,36	Coklat berfluorosensi kuning	Coklat berfluorosensi kuning	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman

Ket: A: Alkaloid; F: Flavonoid; T: Tanin; T/S: Triterpenoid/Steroid; S: Saponin.
 (+):Positif mengandung senyawa tersebut ; (-):Tidak mengandung senyawa tersebut

Lampiran 16. Gambar Uji Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Terhadap *Staphylococcus aureus*

 Autoclave untuk sterilisasi alat dan bahan	 Media NA yang digunakan	 Pembuatan media agar miring
 Media agar miring sebelum diinokulasi kultur murni bakteri	 Peremajaan kultur murni bakteri yang telah diinkubasi 24 jam	



Suspensi bakteri yang dibandingkan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland



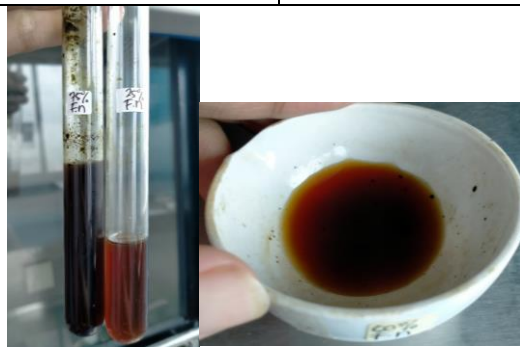
Variabel konsentrasi ekstrak herba sirih cina



Variabel konsentrasi fraksi air herba sirih cina



Variabel konsentrasi fraksi etil asetat herba sirih cina



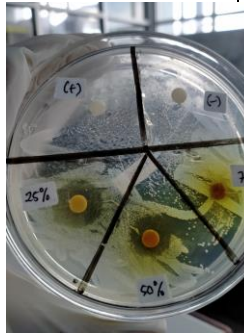
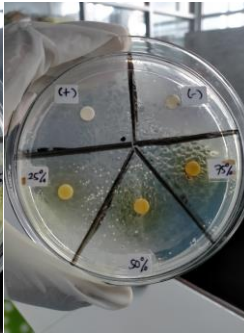
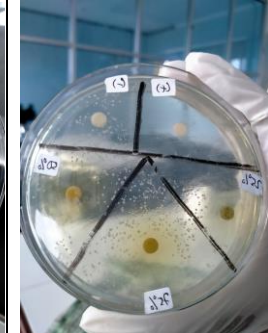
Variabel konsentrasi fraksi n-heksana herba sirih cina



Proses penanaman bakteri dan kertas cakram pada media agar



Proses inkubasi uji efektivitas antibakteri di inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam

Ulangan			I	II	III
Kontrol		(+)			
		(-)			
Perlakuan	Ekstrak	25%			
		50%			
		75%			
	Fraksi air	25%			
		50%			
		75%			
	Fraksi n-heksana	25%			
		50%			
		75%			
	Fraksi etil asetat	25%			
		50%			
		75%			