

Acic S  
ck  
615.10  
11/10

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK BENZENA,  
KLOROFORM DAN METANOL DAUN  
KAMBOJA (*Plumeria acuminata* AIT)

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

3000322963141-9 ✓

Ketua Peneliti :

Dra. Suzana

FAKULTAS FARMASI



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 15

SELESAI

3000322963141

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK BENZENA, KLOOROFORM DAN  
METANOL DAUN KAMBOJA ( *Plumeria acuminata* AIT )

Peneliti :

Dra. S u z a n a

Dr. Gde Nyoman Astika

Drs. Heru Wibowo, MS.

Drs. Bambang Tri Purwanto, MS.

Dra. Nuzul Wahyuning Dyah

FAKULTAS FARMASI



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP-OPF Unair 1995/1996

SK. Rektor Nomor : 6907/PTO3.H/N/1995

Tanggal : 24 Agustus 199



# UNIVERSITAS AIRLANGGA LEMBAGA PENELITIAN

- |                                    |                                 |  |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| 1. Puslit dan Pembangunan Regional | 4. Puslit Lingkungan Hidup      | 8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan |
| 2. Puslit Obat Tradisional         | 5. Puslit dan Pengembangan Gizi | 9. Puslit Bioenergi                    |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum       | 6. Puslit/Studi Wanita          | 10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi  |
|                                    | 7. Puslit Olahraga              |  |

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 42322 Fax. (031) 42322 Surabaya 60286

## IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Benzena, Kloroform Dan Metanol Daun Kamboja (Plumeria acuminata AIT)
- b. Macam Penelitian : (V) Fundamental, ( ) Terapan, ( ) Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Dra. S u z a n a
- b. Jenis Kelamin : W a n i t a
- c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda/IIIa/132 006 224
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas / Jurusan/Puslit : Farmasi/Kimia Farmasi
- f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Farmasi
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Fak. Farmasi Universitas Airlangga
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.000.000,00
8. Hasil Seminar Penelitian :
- a. Dilaksanakan Tanggal : 16 April 1996
- b. Hasil Penelitian : ~~( ) Baik Sekali~~ ~~( ) Baik~~  
(V) Sedang ( ) Kurang

Surabaya, 17 April 1996



Mengetahui/ Mengesahkan :  
a.n. Rektor  
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini  
NIP. 130 355 372

## RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI EKSTRAK BENZENA, KLOOROFORM DAN METANOL DAUN KAMBOJA (*Plumeria acuminata* AIT)

Ketua Peneliti : S u z a n a

Anggota Peneliti : GN Astika  
Heru Wibowo  
Bambang Tri Purwanto  
Nuzul Wahyuning Diyah

Fakultas/Puslit : Fakultas Farmasi

Sumber Biaya : DIP Operasi dan Perawatan Fasilitas Universitas Airlangga tahun 1995/1996  
S.K. Rektor Nomor : 8907/PT03.H/N/1995  
Tanggal 24 Agustus 1995.

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas anti bakteri ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja (*Plumeria acuminata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (gram +) dan *Eschericia coli* (gram -).

Pohon kamboja dari suku Apocynaceae banyak terdapat di Indonesia. Salah satu kandungan tanaman ini adalah plumierida yang merupakan glikosida iridoid. Senyawa ini memiliki struktur mirip dengan glikosida iridoid lain yang telah diketahui memiliki aktivitas anti mikroba. Penggunaan secara tradisional dari daunnya adalah sebagai obat infeksi. Dari hal ini menarik untuk dilakukan penelitian untuk menguji apakah daun kamboja memiliki aktivitas anti bakteri.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi apakah ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja mempunyai aktivitas anti bakteri? khususnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (bakteri gram +) dan *Eschericia coli* (bakteri gram -).

Metode uji aktivitas anti bakteri yang digunakan adalah metode difusi dengan cakram kertas yang mengandung zat/ekstrak yang akan diuji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja memiliki sifat anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (gram +) dan *Eschericia coli* (gram -). Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan bermacam-macam komposisi dan jenis eluen menunjukkan bahwa komposisi dan jenis eluen yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen ekstrak yang diperkirakan aktif adalah :

- Eter : etil asetat : metanol, dengan perbandingan 3:6:1.
- Diklorometana : metanol, dengan perbandingan 5:2.
- Kloroform : metanol, dengan perbandingan 5:2.
- Kloroform : aseton : metanol, dengan perbandingan 3:3:1.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah S.W.T. karena berkat rahmat dan karunia-Nya penelitian ini dapat diselesaikan.

Laporan ini disusun berdasarkan hasil serangkaian penelitian yang bertujuan untuk mengetahui bahan aktif yang terkandung dalam daun kamboja (*Plumeria acuminata*) dan uji aktivitas anti bakterinya.

Dalam kesempatan ini kami ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada : Bapak Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melaksanakan penelitian dengan dana OPF

Kami sampaikan terima kasih pula kepada Bapak Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Bapak Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Bapak Kepala Laboratorium Sintesis Farmasi Universitas Airlangga, Bapak Kepala Laboratorium Analisis Mikrobiologis serta para petugas di Laboratorium Sintesis dan Laboratorium Analisis, atas bantuan dan saran yang diberikan. Semoga Allah S.W.T. melimpah rahmat dan karunia-Nya kepada mereka yang telah membantu kami.

Akhir kata, seperti ungkapan *tak ada gading yang tak retak*, kami yakin bila penelitian ini masih ada kekurangannya. Oleh karena itu saran dan kritik akan kami terima dengan tangan terbuka.

Surabaya, Maret 1996

Penyusun



## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1. Latar belakang masalah .....	1
2. Rumusan masalah .....	2
3. Tujuan penelitian .....	2
4. Sasaran penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
1. Tinjauan tentang peranan bahan alam dalam bidang kefarmasian .....	4
2. Tinjauan tentang pohon kamboja .....	4
3. Tinjauan tentang ekstraksi bahan kimia dari tanaman .....	5
4. Tinjauan tentang uji aktivitas secara mikrobiologik .....	6
5. Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i> ...	7
6. Tinjauan tentang <i>Eschericia coli</i> .....	7
7. Tinjauan tentang kromatografi lapis tipis.	8
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>10</b>
1. Jenis penelitian .....	10
2. Rancangan penelittian .....	10
3. Bahan-bahan .....	10

4. Alat-alat .....	10
5. Cara kerja .....	11
5.1. Pembuatan serbuk daun kamboja .....	11
5.2. Ekstraksi serbuk daun kamboja .....	11
5.3. Uji anti bakteri .....	11
5.3.1. Penyiapan larutan baku .....	11
5.3.2. Penyiapan media padat (nutrient agar) .....	12
5.3.3. Penyiapan media cair (nutrient broth) .....	12
5.3.4. Penyiapan bakteri .....	13
5.3.5. Pembuatan inokulum .....	13
5.4. Tata kerja pengujian .....	13
5.5. Uji kromatografi lapis tipis .....	14
6. Analisa data .....	14
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>16</b>
1. Hasil penelitian .....	16
1.1. Ekstraksi daun kamboja .....	16
1.2. Uji aktivitas anti bakteri .....	16
1.2.1. Uji aktivitas anti bakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
1.2.2. Uji aktivitas anti bakteri terhadap bakteri <i>Eschericia coli</i> .....	22
1.3. Uji kromatografi lapis tipis .....	28
2. Pembahasan .....	29
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
1. Kesimpulan .....	33
2. Saran .....	33

TA



38	.....	LAMPIRAN
35	.....	DAFTAR PUSTAKA



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 : Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
Gambar 2 : Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
Gambar 3 : Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
Gambar 4 : Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	24
Gambar 5 : Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	26
Gambar 6 : Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	28

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 : Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
Gambar 2 : Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
Gambar 3 : Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
Gambar 4 : Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	24
Gambar 5 : Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	26
Gambar 6 : Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan terhadap <i>Eschericia coli</i> .....	28



## BAB I PENDAHULUAN

### 1. LATAR BELAKANG PENELITIAN

Pohon kamboja (*Plumeria acuminata*) dari suku Apocynaceae merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang banyak terdapat di Indonesia. Tanaman ini mengandung plumierida, plumericin, isoplumericin,  $\beta$ -dihidroplumericin,  $\beta$ -dihidro plumericini acid, dan pigmen kuning fluroplumericin. (1,2,3)

Salah satu kandungan tanaman ini adalah plumierida yang merupakan glikosida iridoid. Senyawa ini memiliki struktur mirip dengan glikosida iridoid lain (pulosariosida) yang telah diketahui memiliki aktivitas anti mikroba. (4)

Penggunaan secara tradisional antara lain kulit batangnya sebagai obat kencing nanah, obat sakit belak, obat busung air, atau kejang-kejang saluran kencing (5). Hasil penelitian yang telah dilakukan Rudyanto dkk menunjukkan bahwa dari isolasi kulit batang kamboja menghasilkan bahan aktif glikosida sebesar 5,6%, dan isolat tersebut berkhasiat sebagai anti mikroba yaitu terhadap mikroba *Eschericia coli* (6). Juni Ekowati dkk juga telah melakukan upaya untuk mendapatkan derivatnya dengan melakukan semisintetik terhadap bahan aktif tersebut (7). Upaya untuk mendapatkan derivat lainnya juga sedang dilakukan dengan cara melakukan reaksi semisintetik pula. Dengan didapatkan derivatnya diharapkan bahan aktif tersebut mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih baik (8). Daun kamboja secara tradisional digunakan pula sebagai obat

antara lain obat untuk mematangkan bisul (5,9). Untuk mengetahui apakah daun kamboja juga memiliki aktivitas anti mikroba maka menarik dilakukan penelitian terhadap daunnya. Dengan adanya data tersebut diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut sampai akhirnya bisa dilakukan upaya semisintetik untuk mendapat derivatnya yang mempunyai aktivitas anti mikroba yang lebih baik.

Pada penelitian ini serbuk daun kamboja diekstraksi dengan benzena, kloroform dan metanol. Untuk memprediksi komponen yang aktif dari ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja tersebut perlu dilakukan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan bermacam-macam komposisi dan jenis eluen. Dari kromatografi lapis tipis tersebut akan dapat ditentukan komposisi dan jenis eluen yang manakah yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen yang diperkirakan aktif dalam ekstrak tersebut.

## 2. RUMUSAN MASALAH

Adanya penggunaan daun kamboja secara tradisional sebagai obat anti infeksi menimbulkan pertanyaan :

- 1). Apakah daun kamboja mempunyai aktivitas anti bakteri ?
- 2). Apakah bahan tersebut mempunyai aktivitas terhadap bakteri gram (+) dan gram (-) ?

## 3. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas anti bakteri dari ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun

**kamboja.**

#### **4. MANFAAT PENELITIAN**

**Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang aktivitas anti bakteri ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja.**



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1. Tinjauan tentang peranan bahan alam dalam bidang kefarmasian(10)

Banyak ditemukan tanaman yang menghasilkan bahan-bahan yang berkhasiat dalam pengobatan. Dimana tanaman yang berkhasiat tersebut dapat digunakan secara langsung, sebagai contoh kinina (anti malaria), vinblastin (anti kanker), dan beberapa antibiotika (misalnya penisilina). Bahan-bahan tersebut diperoleh dari tanaman yang ditemukan pada pengobatan tradisional, juga dari skrining dan ekstraksi oleh beberapa industri.

Dalam sejarah pembuatan obat bahan alam dapat digunakan sebagai material awal suatu sintesis, misalnya hormon steroid yang dilakukan dengan cara mengembangkan struktur intinya. Oleh karena itu bahan alam sangat penting dalam bidang ilmu pengetahuan, khususnya berperan dalam perkembangan kimia organik dan biokimia, a.l. dalam penyediaan senyawa dengan struktur kompleks yang jika dibuat dengan cara sintesis akan memerlukan biaya tinggi.

#### 2. Tinjauan tentang pohon kamboja

Pohon kamboja merupakan pohon yang bengkok kecil, tinggi hingga 6 m, selalu dikembang biakkan secara vegetatif karena buahnya jarang tumbuh sempurna. Tanaman ini tempat asalnya dari Amerika tropik, di Jawa banyak ditemukan diperkebunan



umum dari dataran rendah hingga lebih kurang 700 m, terutama di pusara-pusara (5). Bunga kamboja berwarna merah atau putih, wangi, bagian tengahnya kuning, semua bagian tumbuhan mengandung banyak getah (9).

Penggunaan kamboja sebagai obat tradisional antara lain pada getahnya digunakan sebagai obat luar pada sakit gigi (caries dentium), gusi, luka kecil, katimumul, bisul (9,11), pencahar (5,12), penurun panas, perangsang kulit kemasukan duri (13). Air rebusan kulit batangnya digunakan untuk merendam kaki yang bengkak, sebagai obat dalam untuk udem, penyakit kelamin (gonorrhoe) (9,11), peluruh air seni, peluruh haid, pencahar, penurun panas (12), malaria (13). Daunnya digunakan untuk menatangkan bisul dengan meremas-remas sampai seperti bubur (5,9).

### 3. Tinjauan tentang ekstraksi bahan kimia dari tanaman(14)

Cara yang dipilih untuk mengekstraksi bahan kimia dari tanaman tergantung pada tekstur tanaman, kadar air dan jenis senyawa yang diekstraksi.

Cara yang umum digunakan untuk mengambil senyawa organik dari jaringan tanaman kering adalah dengan mengekstraksi serbuk dalam alat *Soxhlete* menggunakan berbagai pelarut mulai dari eter, petroleum eter dan kloroform (untuk memisahkan lemak dan terpenoid) dan kemudian menggunakan alkohol dan etil asetat (untuk senyawa yang lebih polar). Ekstraksi dilakukan sampai pelarut yang digunakan pada serbuk yang direndam tidak berwarna lagi. Ekstraksi dengan alat *Soxhlete*

positif, tidak bergerak, ditemukan satu-satu, berpasangan, berantai pendek atau bergerombol. Susunan bergerombol adalah susunan paling khas. Kata "Staphyle" berasal dari bahasa Yunani yang berarti setangkai buah anggur, menyerupai susunan bergerombol dari kokus tersebut.

Pada isolasi pertama kali dari kuman ini jelas terlihat pembentukan pigmen kuning keemasan, pigmen ini digolongkan sebagai lipokrom. Koloni putih atau kuning muda dari *Staphylococcus aureus* dianggap sebagai varian saja dan bukan suatu species tersendiri. Koloni *Staphylococcus* biasanya keruh, bulat dan licin. Tumbuh baik pada perbenihan biasa.

*Staphylococcus aureus* membentuk berbagai macam toksin dan hasil metabolisme lain. Pada manusia kuman ini menghasilkan eksotosin berikut a.l. lisin alfa dan delta, leukosidin, toksin nekrosa kulit, toksin letal dan suatu enterotoksin. Enterotoksin inilah penyebab keracunan makanan. Sekurang-kurangnya ada tiga type enterotoksin yang semuanya tahan panas dan resisten terhadap pepsin dan tripsin.

Pada dasarnya *Staphylococcus aureus* peka terhadap obat-obatan yang dapat mematikan kuman-kuman gram positif, tetapi kuman ini mudah sekali menjadi resisten.

#### 6. Tinjauan tentang *Eschericia coli*(16,17)

*Eschericia coli* termasuk bakteri gram negatif, selnya berbentuk batang dan dapat tumbuh pada media nutrient sederhana. Bersifat aerobik/fakultatif anaerobik. Umumnya *Eschericia coli* meragikan laktosa dengan membentuk asam dan gas.

positif, tidak bergerak, ditemukan satu-satu, berpasangan, berantai pendek atau bergerombol. Susunan bergerombol adalah susunan paling khas. Kata "Staphyle" berasal dari bahasa Yunani yang berarti setangkai buah anggur, menyerupai susunan bergerombol dari kokus tersebut.

Pada isolasi pertama kali dari kuman ini jelas terlihat pembentukan pigmen kuning keemasan, pigmen ini digolongkan sebagai lipokhrom. Koloni putih atau kuning muda dari *Staphylococcus aureus* dianggap sebagai varian saja dan bukan suatu species tersendiri. Koloni *Staphylococcus* biasanya keruh, bulat dan licin. Tumbuh baik pada perbenihan biasa.

*Staphylococcus aureus* membentuk berbagai macam toksin dan hasil metabolisme lain. Pada manusia kuman ini menghasilkan eksotosin berikut a.l. lisin alfa dan delta, leukosidin, toksin nekrosa kulit, toksin letal dan suatu enterotoksin. Enterotoksin inilah penyebab keracunan makanan. Sekurang-kurangnya ada tiga type enterotoksin yang semuanya tahan panas dan resisten terhadap pepsin dan tripsin.

Pada dasarnya *Staphylococcus aureus* peka terhadap obat-obatan yang dapat menatikan kuman-kuman gram positif, tetapi kuman ini mudah sekali menjadi resisten.

#### 6. Tinjauan tentang *Eschericia coli*(16,17)

*Eschericia coli* termasuk bakteri gram negatif, selnya berbentuk batang dan dapat tumbuh pada media nutrient sederhana. Bersifat aerobik/fakultatif anaerobik. Umumnya *Eschericia coli* meragikan laktosa dengan membentuk asam dan gas.

Adapula *Eschericia coli* yang tidak meragikan atau sangat lambat meragikan laktosa. Ada jenis *Eschericia coli* yang dapat bergerak dan ada yang tidak dapat bergerak. *Eschericia coli* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit pada manusia a.l. :

- Penyakit yang kadang-kadang dapat menjadi fatal seperti sistitis, pielitis, pielonefritis, appendisitis, peritonitis, infeksi kandung empedu, septisemia, meningitis dan endokarditis.
- "Epidemic diarrhea" pada bayi dan neonatus.
- "Summer diarrhea".

#### 7. Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis

Pada kromatografi lapis tipis banyak digunakan adsorbent Silika gel. Dipilihnya Silika gel dikarenakan adsorbent ini umumnya digunakan untuk pengadsorpsi bahan organik dari air. Disamping digunakan sebagai pengadsorpsi yang selektif terhadap bahan organik dalam air, Silika gel digunakan pula untuk membersihkan sampel dari air. Silika gel digunakan pula sebagai adsorbent untuk sampel yang tidak larut dalam pelarut asam lemah; pelarut yang mempunyai polaritas rendah seperti pentana serta campuran-campuran dari pentana dan diklorometana(18).

Pada kromatografi lapis tipis sering dijumpai hasil eluasi kromatogram menghasilkan hanya satu noda. Hal ini tidak berarti zat yang ditotolkan mengandung satu senyawa saja, ada kemungkinan zat yang ditotolkan mengandung lebih

dari satu senyawa yang identik. Untuk mengatasi hal ini eluasi harus dilakukan dengan bermacam-macam komposisi dan jenis eluen.



### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### 1. JENIS PENELITIAN

Jenis metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental.

##### 2. RANCANGAN PENELITIAN

Rancangan yang dipakai dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (completely randomized design).

##### 3. BAHAN-BAHAN

Ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja.

Nutrient Broth (Oxoid) dan Nutrient Agar (Oxoid).

Benzena.

Kloroform.

Metanol.

Etanol 70%.

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri *Escherichia coli* ATCC 1033

Kertas Saring Whatman No.40

##### 4. ALAT-ALAT

Otoklaf All American model no. 25X.

Alat-alat gelas yang umum terdapat dalam laboratorium mikrobiologi.

Mikropipet Socorex



## 5. CARA KERJA

### 5.1. Pembuatan serbuk daun kamboja.

Daun kamboja (*Plumeria acuminata*) diambil dari daerah Mojo Surabaya pada bulan Mei 1995 dikeringkan dengan sinar matahari, kemudian digiling dengan mesin penggiling Arthur H. Thomas Co.

### 5.2. Ekstraksi serbuk daun kamboja.

Serbuk daun kamboja diekstraksi menggunakan alat ekstraktor Soxhlete berturut-turut dengan pelarut benzena, kloroform, dan metanol. Fase benzena, kloroform dan metanol dipisahkan kemudian diuapkan sehingga didapat ekstrak kering.

### 5.3. Uji anti bakteri.

Uji anti bakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (bakteri gram +) dan *Escherichia coli* (bakteri-gram - ) dengan metode cakram pada media Nutrient Agar (Oxoid).

#### 5.3.1. *Penyiapan larutan baku*

##### 5.3.1.1. *Larutan baku 5000 ug/ml*

Ditimbang masing-masing 250 mg ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja, dilarutkan dalam 50 ml pelarut yang sesuai dengan pelarut ekstrak (benzena, kloroform atau metanol), kocok sampai homogen.

##### 5.3.1.2. *Larutan baku 4000 ug/ml*

Pipet dengan teliti masing-masing 12,5 ml larutan baku 5000 ug/ml ekstrak benzena, kloroform dan metanol. Masukkan masing-masing dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ke dalam masing-masing labu ukur ditambahkan pelarut yang sesuai

dengan pelarut ekstrak sampai tanda batas labu, kocok sampai homogen.

#### 5.3.1.3. Larutan baku 2500 ug/ml

Pipet dengan teliti masing-masing 20,0 ml larutan baku 5000 ug/ml ekstrak benzena, kloroform dan metanol. Masukkan masing-masing dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ke dalam masing-masing labu ukur ditambahkan pelarut yang sesuai dengan pelarut ekstrak sampai tanda batas labu, kocok sampai homogen.

#### 5.3.1.4. Larutan baku 1000 ug/ml

Pipet dengan teliti masing-masing 5,0 ml larutan baku 5000 ug/ml ekstrak benzena, kloroform dan metanol. Masukkan masing-masing dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ke dalam masing-masing labu ukur ditambahkan pelarut yang sesuai dengan pelarut ekstrak sampai tanda batas labu, kocok sampai homogen.

#### 5.3.2. *Penyiapan media padat (nutrient agar)*

Nutrient agar sebanyak 28 gram disuspensikan dalam 1 liter air suling kemudian dididihkan sampai larut sempurna. Cairan dituang panas-panas ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 12 ml. Sterilisasi dilakukan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 5.3.3. *Penyiapan media cair (nutrient broth)*

Nutrient broth (Oxoid) sebanyak 13 gram dilarutkan dalam 1 liter air suling. Sterilisasi dilakukan dengan otoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### 5.3.4. *Penyiapan bakteri*

Satu ose bakteri ditanam pada media agar miring, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 24 jam.

#### 5.3.5. *Pembuatan inokulum*

Bakteri dari media agar miring dikerok, kemudian disuspensikan dalam nutrient broth. Inokulum diencerkan dengan nutrient broth sampai didapatkan transmisi 25% pada panjang gelombang 580 nm (16), diukur menggunakan spektrofotometer.

#### 5.4. *Tata kerja pengujian (17)*

1. Dipipet 500 ul inokulum, dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan.
2. Media padat yang sudah disterilkan dipanaskan sampai mencair, kemudian dituang ke dalam cawan petri yang sudah berisi inokulum, digoyang sampai homogen.
3. Siapkan ekstrak masing-masing 1000 ug/ml, 2500 ug/ml, 4000 ug/ml, dan 5000 ug/ml larutkan dalam benzena, kloroform dan metanol.(17)
4. Masukkan kertas saring Whatman No.40 yang telah dibentuk seperti cakram dengan diameter 0,8 cm yang telah disterilkan ke dalam cairan ekstrak yang telah disiapkan biarkan sampai pelarut menguap. Sebagai kontrol digunakan masing-masing benzena, kloroform dan metanol. Untuk kontrol

positif digunakan sodium ampisilin dalam pelarut air.

5. Bila media sudah memadat, masukkan kertas cakram yang telah mengandung ekstrak benzena, kloroform dan metanol ke-dalam masing-masing cawan petri.
6. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 24 jam.
7. Diukur diameter daerah hambatan yang terjadi.

#### 5.5. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Dari ke tiga macam ekstrak yang didapat, dilarutkan dalam pelarut yang sesuai antara lain benzena, kloroform dan metanol. Selanjutnya ditotolkan pada fase diam lempeng Silika gel GF 254 dengan ketebalan 0,02 mm (E.Merok). Sebagai fase gerak digunakan pelarut dalam komposisi sebagai berikut :

1. Eter : Etil asetat : metanol = 3 : 6 : 1
2. Diklorometana : metanol = 5 : 2
3. Kloroform : metanol = 5 : 2
4. Kloroform : metanol = 3 : 4
5. n-Heksana : metanol = 5 : 2
6. Kloroform : aseton : etanol = 3 : 3 : 1
7. n-Heksana : kloroform : metanol = 1 : 1 : 1
8. Aseton : etanol = 6 : 1

Noda diamati dibawah lampu ultraviolet, kemudian  $R_f$  nya ditentukan.

#### 6. ANALISA DATA

Semua parameter diamati dan diukur, kemudian data yang

dihasilkan dari uji aktivitas anti bakteri dari masing-masing ekstrak dan mikroba dianalisis statistik uji regresi.



**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**1. Hasil penelitian**

**1.1. Ekstraksi daun kamboja**

Dari 60 gram serbuk daun kamboja, setelah diekstraksi dengan benzena, kloroform dan metanol diperoleh ekstrak kering sebesar :

- 2,06 gram ekstrak benzena.
- 1.50 gram ekstrak kloroform.
- 8,17 gram ekstrak metanol.

**1.2. Uji Aktivitas antibakteri**

**1.2.1. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.**

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak benzena, kloroform dan metanol terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 1,2,3 dan gambar 1,2,3. Sebagai kontrol + digunakan ampisilin dengan kadar 1000 ug/ml.



**Tabel 1**  
**Diameter daerah hambatan ekstrak benzena**  
**pada uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* (cm).**

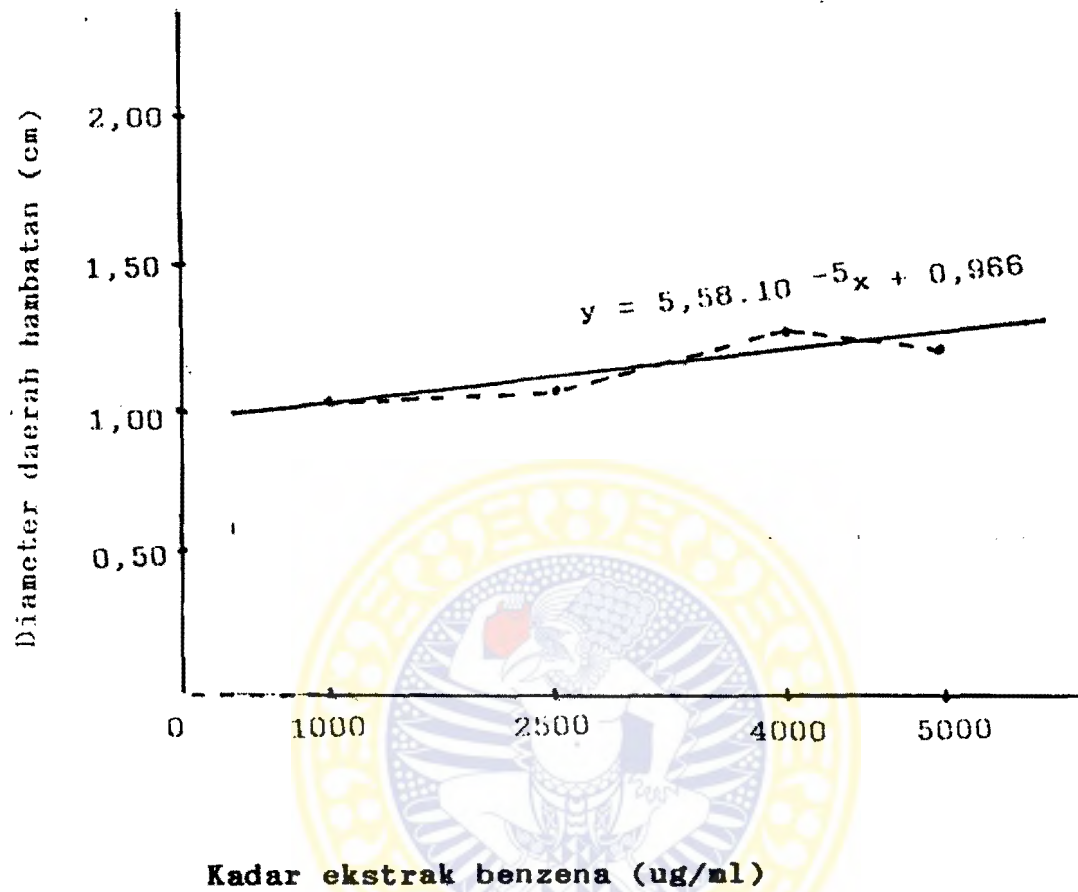
		Diameter daerah hambatan(cm)				
kadar/ replikasi		1000	2500	4000	5000	kontrol +
	ug/ml	ug/ml	ug/ml	ug/ml	ug/ml	
1		1,06	1,10	1,30	1,25	2,38
2		0,95	1,10	1,20	1,15	2,31
3		1,05	1,05	1,25	1,22	2,40
Rata-rata		1,020	1,083	1,250	1,207	2,363
Simp.baku		0,051	0,029	0,050	0,051	0,047

Setelah dilakukan perhitungan regresi linier terhadap rata-rata diameter daerah hambatan, didapat persamaan garis :

$$y = 5,58 \cdot 10^{-5} x + 0,966$$

dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,914

Dari tabel  $r$  didapatkan  $r$  tabel (derajat bebas 2,  $p=0,05$ ) = 0,950 ; sehingga dapat disimpulkan bahwa pada rentang kadar yang diteliti hubungan antara kadar dan diameter hambatan tidak bersifat linier.



**Gambar 1. Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan**

Tabel 2

Diameter daerah hambatan ekstrak kloroform pada uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* (cm).

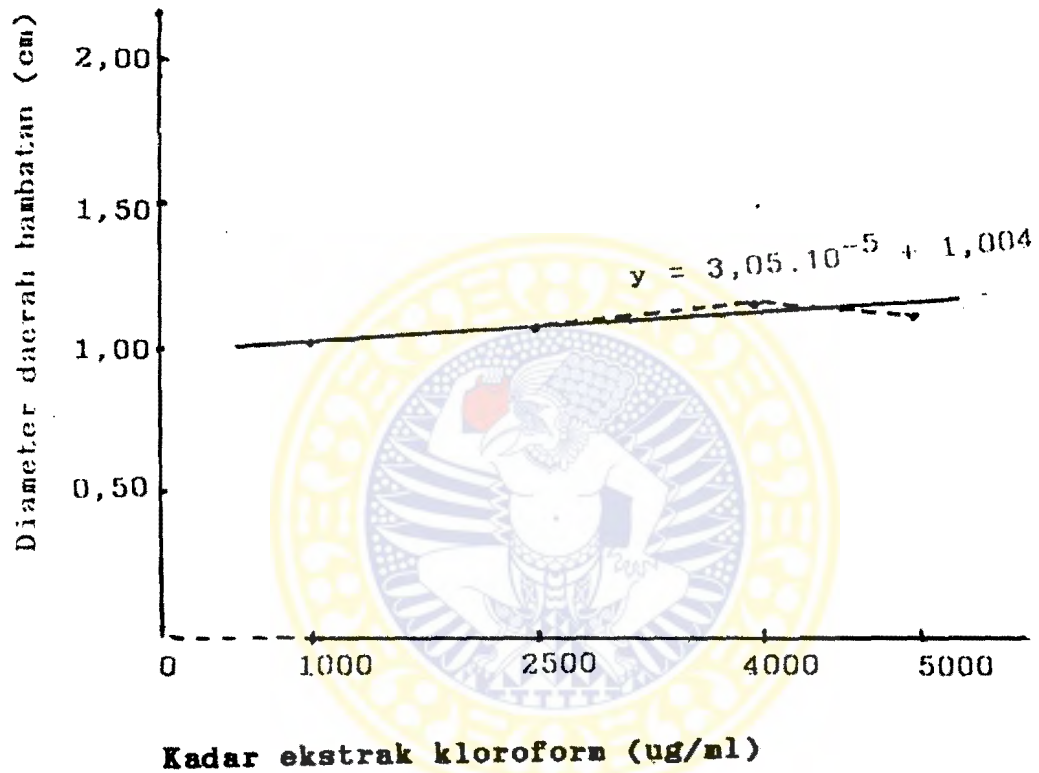
Diameter daerah hambatan (cm)						
kadar / replikasi	1000 ug/ml	2500 ug/ml	4000 ug/ml	5000 ug/ml	kontrol +	
1	1,02	1,10	1,23	1,18	2,30	
2	1,05	1,10	1,15	1,02	2,35	
3	1,00	1,02	1,20	1,15	2,40	
Rata-rata	1,023	1,073	1,193	1,110	2,350	
Simp.baku	0,025	0,048	0,040	0,078	0,050	

Setelah dilakukan perhitungan regresi linier terhadap rata-rata diameter daerah hambatan, didapat persamaan garis :

$$y = 3,05 \cdot 10^{-5}x + 1,004$$

dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,748

Dari tabel  $r$  didapatkan  $r$  tabel (derajat bebas 2,  $p=0,05$ )= 0,950 ; sehingga dapat disimpulkan bahwa pada rentang kadar yang diteliti hubungan antara kadar dan diameter hambatan tidak bersifat linier.



**Gambar 2. Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan**

Tabel 3

Diameter daerah hambatan ekstrak metanol pada uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* (cm).

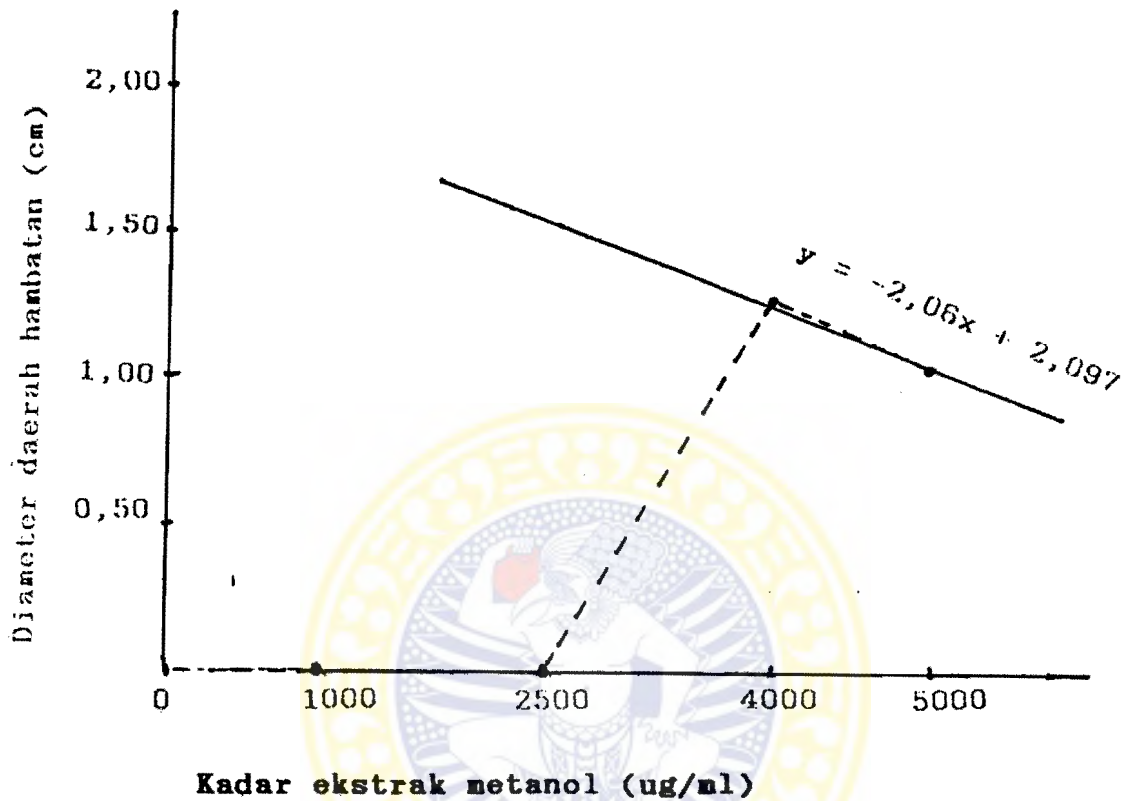
		Diameter daerah hambatan (cm)				
kadar replikasi	1000 ug/ml	2500 ug/ml	4000 ug/ml	5000 ug/ml	kontrol +	
1	0	0	1,30	11,0	2,40	
2	0	0	1,30	1,05	2,30	
3	0	0	1,22	1,05	2,45	
Rata-rata	0	0	1,273	1,067	2,383	
Simp.baku	-	-	0,046	0,029	0,076	

Setelah dilakukan perhitungan regresi linier terhadap rata-rata diameter daerah hambatan, didapat persamaan garis :

$$y = -2,06x + 2,097$$

dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = -1

Dari tabel  $r$  didapatkan  $r$  tabel (derajat bebas 2,  $p=0,05$ ) = 0,095 ; sehingga dapat disimpulkan bahwa pada rentang kadar yang diteliti hubungan antara kadar dan diameter hambatan tidak bersifat linier.



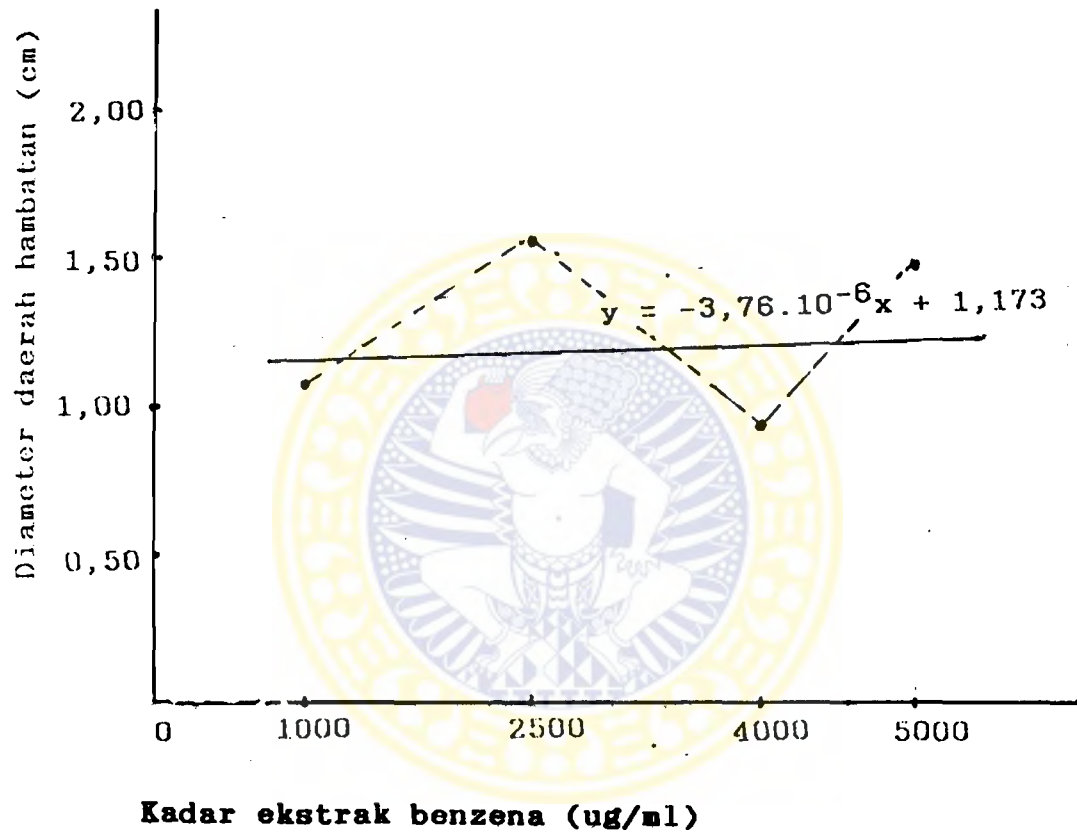
Gambar 3. Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan

### 1.2.2. Uji aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*.

Hasil uji aktivitas anti bakteri ekstrak benzena, kloroform dan metanol terhadap *Eschericia coli* dapat dilihat pada tabel 4,5,6 dan gambar 4,5,6. Sebagai kontrol + digunakan ampisilin dengan kadar 1000 ug/ml.







**Gambar 4. Grafik kadar ekstrak benzena vs diameter daerah hambatan**

**Tabel 5**  
**Diameter daerah hambatan ekstrak kloroform**  
**pada uji aktivitas terhadap *Eschericia coli* (cm).**

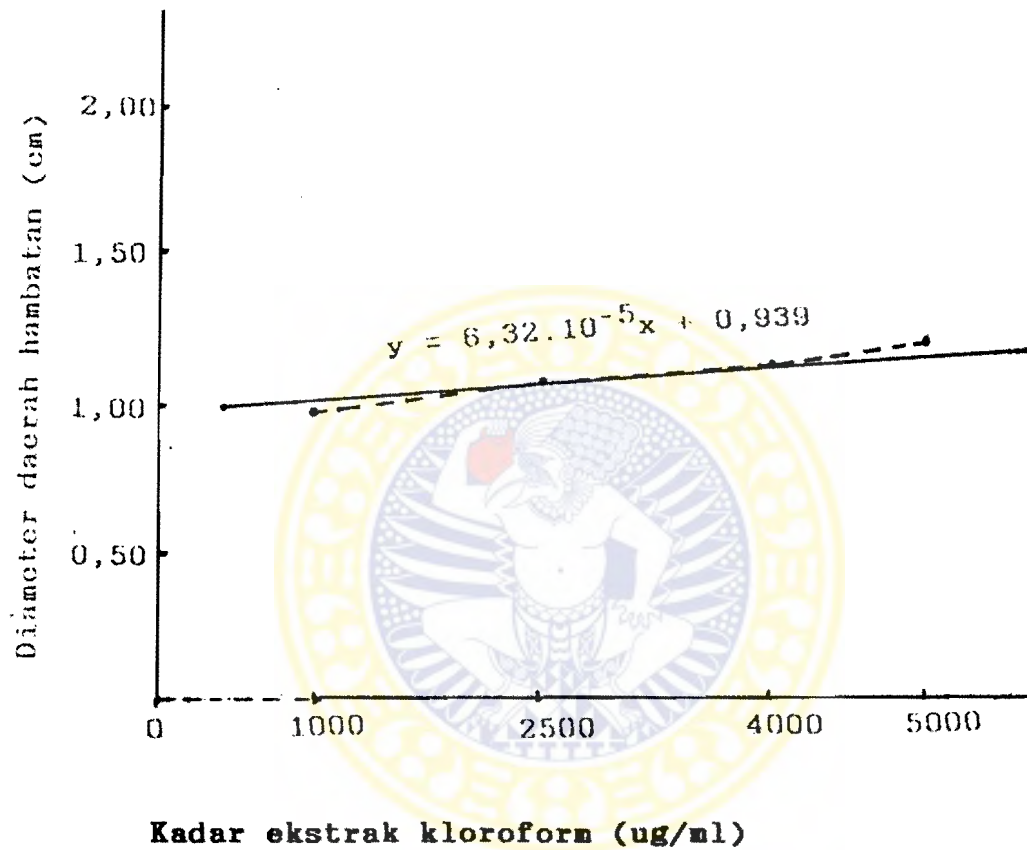
Diameter daerah hambatan (cm)						
kadar replikasi	1000 ug/ml	2500 ug/ml	4000 ug/ml	5000 ug/ml	kontrol +	
1	1,02	1,10	1,15	1,20	1,50	
2	1,00	1,15	1,25	1,30	1,50	
3	0,95	1,10	1,18	1,25	1,45	
Rata-rata	0,990	1,117	1,187	1,250	1,483	
Simp.baku	0,036	0,29	0,055	0,058	0,029	

Setelah dilakukan perhitungan regresi linier terhadap rata-rata diameter daerah hambatan, didapat persamaan garis :

$$y = 6,32.10^{-5}x + 0,939$$

dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,992

Dari tabel  $r$  didapatkan  $r$  tabel (derajat bebas 2,  $p=0,05$ ) = 0,950 ; sehingga dapat disimpulkan bahwa pada rentang kadar yang diteliti hubungan antara kadar dan diameter hambatan bersifat linier.



Gambar 5. Grafik kadar ekstrak kloroform vs diameter daerah hambatan

**Tabel 6**  
**Diameter daerah hambatan ekstrak metanol**  
**pada uji aktivitas terhadap *Eschericia coli* (cm).**

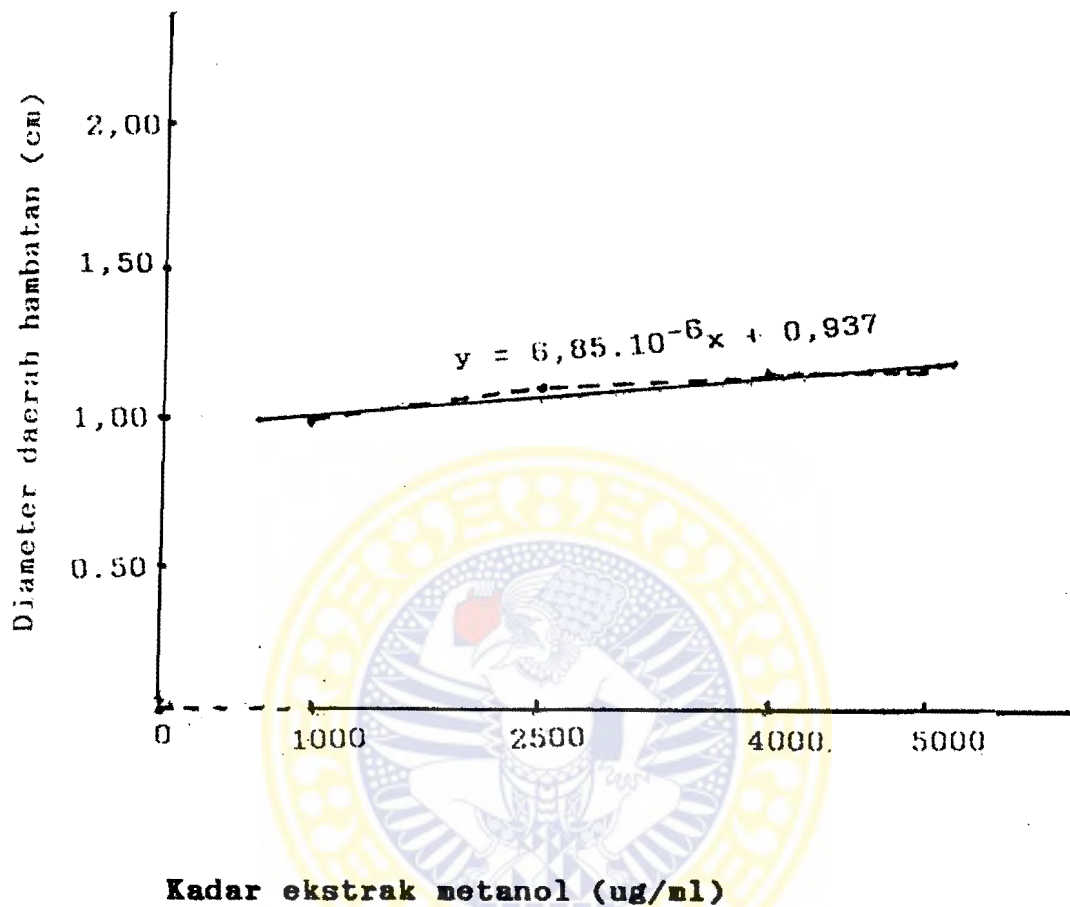
		Diameter daerah hambatan (cm)				
kadar replikasi	1000	2500	4000	5000	kontrol +	
	ug/ml	ug/ml	ug/ml	ug/ml		
1	0,95	1,10	1,22	1,25	1,40	
2	1,02	1,10	1,25	1,30	1,45	
3	1,02	1,15	1,20	1,25	1,50	
Rata-rata	0,997	1,117	1,223	1,267	1,450	
Simp.baku	0,040	0,029	0,025	0,029	0,050	

Setelah dilakukan perhitungan regresi linier terhadap rata-rata diameter daerah hambatan, didapat persamaan garis :

$$y = 6,85 \cdot 10^{-6}x + 0,937$$

dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,995

Dari tabel  $r$  didapatkan  $r$  tabel (derajat bebas 2,  $p=0,05$ )= 0,950 ; sehingga dapat disimpulkan bahwa pada rentang kadar yang diteliti hubungan antara kadar dan diameter hambatan bersifat linier.



Gambar 6. Grafik kadar ekstrak metanol vs diameter daerah hambatan

### 1.3. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Hasil Kromatografi Lapis Tipis terhadap ketiga macam ekstrak dengan menggunakan berbagai komposisi fase gerak dapat dilihat pada tabel 7.



**Tabel 7**  
**Hasil kromatografi lapis tipis**  
**ekstrak benzena, kloroform dan metanol**

No.	KOMPOSISI FASE GERAK	Σ NODA			R <sub>f</sub> b	R <sub>f</sub> k	R <sub>f</sub> m
		E <sub>b</sub>	E <sub>k</sub>	E <sub>m</sub>			
1.	Eter: Etil asetat: metanol 3 : 6 : 1	3	3	1	0,23	0,24	0,04
					0,39	0,35	
					0,75	0,72	
2.	Diklorometana: metanol 5 : 2	3	3	- 8)	0,61	0,64	- 8)
					0,75	0,78	
					0,92	0,92	
3.	Kloroform: metanol 5 : 2	3	3	1	0,54	0,55	0,04
					0,61	0,64	
					0,77	0,79	
4.	Kloroform: metanol 3 : 4	2	2	1	0,75	0,72	0,75
					0,84	0,85	
5.	n-Heksana: metanol 5 : 2	2	-	- 8)	0,12	- 8)	- 8)
					0,92		
6.	Kloroform: aseton: etanol 3 : 3 : 1	3	3	1	0,48	0,46	0,29
					0,59	0,52	
					0,77	0,76	
7.	n-Heksana: kloroform: me- tanol = 1 : 1 : 1	1	1	1	0,89	0,85	0,15
8.	Aseton: etanol 6 : 1	2	2	1	0,59	0,57	0,61
					0,78	0,77	

Keterangan : - E<sub>b</sub> = Ekstrak benzena                      - R<sub>f</sub>b = R<sub>f</sub> ekstrak benzena  
 - E<sub>k</sub> = Ekstrak kloroform                                - R<sub>f</sub>k = R<sub>f</sub> ekstrak kloroform  
 - E<sub>m</sub> = Ekstrak metanol                                 - R<sub>f</sub>m = R<sub>f</sub> ekstrak metanol  
 - 8) = noda totalan tidak bergerak.

## 2. Pembahasan

Daun kamboja diekstraksi dengan benzena, kloroform

dan metanol. Pemilihan ketiga zat cair pengestraksi tersebut berdasarkan perbedaan kepolarannya. Ekstraksi dari daun pohon kamboja didapatkan tiga ekstrak kering yaitu ekstrak benzena, ekstrak kloroform dan ekstrak metanol. Dari ketiga macam ekstrak tersebut setelah dilakukan uji aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* memberikan daerah hambatan pada media pertumbuhan bakteri.

Uji aktivitas anti bakteri ekstrak benzena terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan daerah hambatan mulai kadar 1000 ug/ml. Semakin besar kadar ekstrak maka semakin besar pula daerah hambatan yang terbentuk, tetapi pada kadar 5000ug/ml terjadi penurunan daerah hambatan. Diduga hal ini berkaitan dengan kelarutan dari ekstrak. Adanya daerah hambatan menunjukkan bahwa pada rentang kadar yang ditentukan ekstrak benzena daun kamboja bersifat aktif terhadap *Staphylococcus aureus*. Dari uji regresi didapatkan bahwa hubungan antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan tidak bersifat linier. Sedangkan pada uji aktivitas anti bakteri ekstrak benzena terhadap *Eschericia coli* memberikan daerah hambatan pula. Tetapi pada kadar 4000 ug/ml terjadi penurunan daerah hambatan. Dengan demikian ekstrak benzena daun kamboja juga bersifat aktif terhadap bakteri *Eschericia coli*. Hasil uji regresi menunjukkan hubungan antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan tidak bersifat linier.

Pada uji aktivitas anti bakteri ekstrak kloroform

daun kamboja terhadap *Staphylococcus aureus* memberikan daerah hambatan mulai kadar 1000 ug/ml. Semakin besar kadar ekstrak semakin besar pula daerah hambatan yang terjadi, tetapi pada kadar 5000 ug/ml daerah hambatannya menurun. Hal serupa juga terjadi pada ekstrak benzena. Uji regresi menunjukkan hubungan antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan tidak bersifat linier. Sedangkan uji aktivitas ekstrak kloroform terhadap bakteri *Eschericia coli* memberikan daerah hambatan, semakin besar rentang kadar yang ditentukan semakin besar pula daerah hambatan yang terjadi. Uji regresi ekstrak kloroform terhadap bakteri *Eschericia coli* menunjukkan hubungan yang bersifat linier antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan.

Dari uji aktivitas anti bakteri ekstrak metanol daun kamboja terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memberikan daerah hambatan pada kadar 4000 ug/ml dan 5000 ug/ml, sedangkan pada kadar 1000 ug/ml dan 2500 ug/ml tidak memberikan daerah hambatan. Diduga hal ini disebabkan polaritas dari ekstrak yang terlalu tinggi, sehingga tidak mampu menembus membran sel bakteri gram positif, diperlukan kadar ekstrak yang lebih tinggi agar dapat menembus membran sel tersebut (19). Disamping itu lapisan terluar membran sel bakteri gram positif mengandung lapisan peptidoglikan yang cukup tebal dibandingkan pada gram negatif(20). Dugaan lain bila ditinjau dari lapisan membran sel dari beberapa bakteri gram positif mengandung substansi yang disebut asam teikoit. Asam teikoit ini berikatan dengan asam muramik dari lapisan peptidoglikan

yang merupakan lapisan terluar membran. Asam teikoit disini berfungsi sebagai pemacu bagi sel bakteri untuk membuat antibodi yang spesifik bila ada senyawa asing dari luar yang bereaksi dengan asam teikoit ini(20). Uji regresi menunjukkan hubungan antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan tidak bersifat linier. Sedangkan hasil uji aktivitas anti bakteri ekstrak metanol terhadap *Eschericia coli* memberikan daerah hambatan pada kadar 1000 ug/ml, semakin tinggi rentang kadar yang ditentukan semakin besar pula daerah hambatan yang terjadi. Uji regresinya memberikan hubungan yang bersifat linier antara kadar dan aktivitas pada rentang kadar yang ditentukan.

Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis dengan bermacam-macam sistem eluen pada ke tiga macam ekstrak secara bersamaan pada satu lempeng Silika, diperoleh lebih dari satu noda pada ekstrak benzena dan ekstrak kloroform dengan  $R_f$  yang relatif sama. Sedangkan pada ekstrak metanol didapatkan satu noda. Sistem eluen yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen yang diperkirakan aktif pada ekstrak benzena dan kloroform adalah sistem eluen yang mempunyai tiga noda dari hasil eluasi.

## BAB IV

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 1. Kesimpulan

Dari Penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik suatu kesimpulan :

- 1). Ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja memiliki sifat anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (bakteri gram (+)) dan *Eschericia coli* (bakteri gram (-))
- 2). Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan sistem eluen yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen yang aktif dari masing-masing ekstrak adalah sistem eluen no.1,2,3 dan 6.

#### 2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut diatas disarankan :

- 1). Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas anti bakteri terhadap isolat dari daun kamboja.
- 2). Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas anti bakteri ekstrak benzena, kloroform dan metanol daun kamboja terhadap berbagai spesies bakteri yang lain.
- 3). Dilakukan penelitian penentuan struktur isolat dari daun kamboja.
- 4). Dilakukan pemisahan untuk memprediksi komponen yang aktif dari masing-masing ekstrak dengan sistem eluen

**no.1,2,3 atau 6. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas anti bakteri terhadap zat hasil pemisahan tersebut.**





## DAFTAR PUSTAKA

1. Abe, F., et. al., Minor Iridoids from the Roots of Plumeria acutifolia , Chem. Pharm. Bull., Vol.367(8), 1988. pp.2784-2789.
2. Abe, F., et. al., Iridoid of Apocynaceae , III. Minor Iridoids from Allamanda neriifolia. Chem. Pharm. Bull., Vol.32(8), 1984. pp.2947-2948.
3. Coppen Jihn, J.W., Iridoids with Algicidal Properties from Allamanda catharica, Phytochemistry, Vol.22, No.1, 1983. pp.179-182.
4. Kitagawa, I., et. al., Pulosarioside, A New Bitter Trimeric-Iridoid Diglukosida, From An Indonesia Jamu, The Bark of Alyxia reinwardtii BL. (Apocynaceae), Chem. Pharm. Bull., Vol.36, 1988. pp. 4232-4235.
5. Heyne , K., Tumbuhan Berguna Indonesia , Jilid III, Badan Litbang Kehutanan , Jakarta, 1987. hal. 1624-1625.
6. Rudyanto dkk, Identifikasi Bahan Aktif dari Kulit Batang Pohon Kamboja (Plumeria acuminata AIT) dan Uji Aktivitas Anti Bakterinya terhadap Eschericia coli, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, 1994. hal. 26.
7. Juni E. dkk, Uji aktivitas anti bakteri hasil hidrolisis bahan aktif dari kulit batang kamboja (Plumeria acuminata AIT), Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, 1994.
8. Daniel T.C., Jogerson E.C., Physico Chemical Properties in Relation to Biological Action, Doerge R.F. (Ed.), Wilson and Gisvold's Text Book of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry, 8th Ed., J.B. Lippincort Company, Philadelphia, Toronto, 1982. pp. 5-38.

9. **Seno Sastroamidjojo A., Obat Asli Indonesia, Dian Rakyat, 1967. hal. 214-215.**
10. **Birh A.J., Some Scientific and Social Implications of Research on Natural Product, Impact of Science on Society, 1984, pp. 136,322.**
11. **Klopenburg-Versteegh, J., Petunjuk Lengkap mengenai Tanaman-tanaman di Indonesia dan Khasiatnya sebagai Obat Tradisional, Jil.1, CD. R.S. Bethesda Andi Offset, Yogyakarta 1988, hal.150.**
12. **Djoko Hargono dkk, Tanaman Obat Indonesia, Ji.1, Dep.Kes. R.I., 1985, hal.35.**
13. **Sudarman Mardisiswojo, Harsono Radjakmangunsudarso, Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang, Jil. 2, Karya Wreda, 1988, hal. 87.**
14. **Harborne J.B., Phytochemical Methods, Toppan Co. Ltd., Tokyo, 1973, pp. 4-26.**
15. **Bonang, G., E.S. Koeswardono, Mikrobiologi Kedokteran, Gramedia, Jakarta, 1982, hal.71-72.**
16. **Departemen Kesehatan R.I., Farmakope Indonesia Ed. III, 1979. hal. 888,889.**
17. **Santos, A.C., Phytochemical, Microbiological and Pharmacological Screening of Medical Plants, University of Santo Thomas, Manila, 1976. pp. 25-35.**
18. **Ravindranath, B., Principles and Practice of Chromatography, Ellis Horwood Limited. 1989. pp.409.**
19. **Wilson C.O., et.al., Text Book of Organic Medical and**

**Pharmaceutical Chemistry, sixth ed. ,J.B. Lippincott Co.,  
1971. pp.16-17.**

**20. Wesley A.V., et.al., Basic Microbiology, seventh ed.,  
Harper Collins Publishers Inc., 1992. pp.44-46.**



## Lampiran 1

Tabel r

Df	r				
	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,988	0,997	0,999	1,000	1,000
2	0,900	0,950	0,980	0,990	0,999
3	0,805	0,878	0,934	0,959	0,992
4	0,729	0,811	0,882	0,917	0,974
5	0,669	0,754	0,833	0,874	0,951
6	0,621	0,707	0,789	0,834	0,925
7	0,582	0,664	0,750	0,798	0,898
8	0,549	0,632	0,716	0,765	0,877
9	0,521	0,602	0,685	0,735	0,847
10	0,497	0,576	0,658	0,706	0,823
11	0,476	0,553	0,634	0,684	0,801
12	0,457	0,532	0,612	0,661	0,780
13	0,441	0,514	0,592	0,641	0,760
14	0,426	0,497	0,574	0,623	0,742
15	0,412	0,482	0,558	0,606	0,725
16	0,400	0,468	0,543	0,590	0,708
17	0,389	0,456	0,528	0,575	0,693
18	0,378	0,444	0,514	0,561	0,679
19	0,369	0,433	0,503	0,549	0,665
20	0,360	0,423	0,492	0,537	0,652

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA