

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK, FRAKSI *n*-HEKSAN,
ETIL ASETAT, DAN AIR PADA KULIT SINGKONG (*Manihot
esculenta* Crantz) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa* SERTA PENETAPAN KADAR FENOLIK**

SKRIPSI



Ulfi Amalia

1042011145

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI SEKOLAH TINGGI ILMU
FARMASI YAYASAN PHARMASI SEMARANG**

2024

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL
ASETAT, DAN AIR PADA KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)
TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA PENETAPAN
KADAR FENOLIK**

Oleh :

Ulfi Amalia

1042011145

Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi

Semarang Pada tanggal :

Mengrtahui

Program Studi S1 Farmasi

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi

Yayasan Pharmasi Semarang

Pembimbing I

Ketua

Indah Sulistyarini.M. Si.

Dr. apt. Dwi Hadi Setya Palupi, M.Si.

Pembimbing II

apt. Wulandari, M.Sc.

Penguji :

1. Dr. apt. Endang Dwi Wulansari, S.Si., M.Si.

2. apt. Yuvianti Dwi Franyoto, M.Sc.

3. Indah Sulistyarini, M. Si.

4. apt. Wulandari, M.Sc.

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ulfi Amalia

NIM : 1042011145

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi *n*-heksan, Etil Etil Asetat, dan Air Pada Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Serta Penetapan Kadar Fenolik

Tahun Pembuatan : 2024

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka. Serta memenuhi syarat batas maksimal plagiasi kurang dari pada setiap sub bab naskah skripsi yang disusun.

Apabila pernyataan ini terbukti tidak benar maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Semarang, Januari 2025

Ulfi Amalia

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Bukan kita yang hebat, tapi Allah yang memudahkan. Bukan kita yang mampu tapi Allah yang mampukan

يُسِّرُ أَمْرَهُ مِنْ لَدُنْهُ يَجْعَلُ اللَّهُ يَتَّقِ وَمَنْ

Dan barang siapa yang bertakwa kepada Allah, niscaya Allah menjadikan baginya kemudahan dalam urusannya

(Q.S At-Talaq: 4)

Percayalah, disaat kamu ikhlas dengan keadaanmu, disitu Allah merencanakan kebahagiaan untukmu”

“Bila kau mendapat cobaan jangan melihat apa yang hilang darimu, tapi fokuslah pada apa yang masih ada untukmu, maka kau akan tau kadar sebuah nikmat”

-Syeikh Mutawali Sya'rawi-

Dengan segenap rasa syukur kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala,

Saya persembahkan hasil skripsi ini untuk :

Bapak, mamak, adik-adikku dan keluarga besarku tercinta sebagai wujud hormat, baktiku dan rasa terima kasih yang telah memberikan kasih sayang, doa dan segala dukungan yang tiada terhingga untukku,

Ibu Indah Sulistyarini, M.Si. dan Ibu apt. Wulandari, M.Sc. selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan arahan dan masukan serta selalu sabar dalam membimbing guna menyelesaikan skripsi secara tuntas,

Kepada sahabat dan teman-temanku yang tidak bisa disebutkan satu persatu Terima kasih atas segala bantuan, doa dan dukungannya selama proses pembuatan skripsi ini.

Dan Almamaterku yang selalu kubanggakan

STIFAR YAYASAN PHARMASI SEMARANG

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi *n*-heksan, Etil Asetat, dan Air Pada Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Serta Penetapan Kadar Fenolik”.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan Pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Penyelesaian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari kerja sama dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. apt. Sri Haryanti, M.Si., ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.
2. Dr. apt. Dwi Hadi Setya Palupi, M.Si., ketua Program Studi S1 Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.
3. Ibu Indah Sulistyarini, M.Si., dosen pembimbing I yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, masukan, petunjuk, motivasi, kritik dan saran yang bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu apt. Wulandari, M.Sc., dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, masukan, petunjuk, motivasi, kritik, dan saran yang bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Ibu Dr. apt. Endang Dwi Wulansari, S.Si., M.Si., dosen penguji I yang telah memberikan nasihat, kritik dan saran yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
6. Ibu apt. Yuvianti Dwi Franyoto, M.Sc., dosen penguji II yang telah memberikan nasihat, kritik dan saran yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh Bapak/Ibu dosen, staf dan karyawan laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang yang telah memberikan bantuan selama penelitian ini berlangsung.
8. Kedua orang tuaku tercinta (Bapak Ahmad Sumber Riyanto & Ibu Nailin Nikmah), Adik-adikku (Agna & Afif), serta keluarga besarku yang senantiasa memberikan do'a, semangat dan dukungan dalam menyelesaikan Studi S1 Farmasi.
9. Teman-teman Angkatan 2020, khususnya kelas C yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Dan seluruh pihak yang telah membantu penulis hingga terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semuanya. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat dan inspirasi dalam penelitian selanjutnya.

Semarang, Januari 2024

Penulis

SARI

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu patogen paling umum dari golongan jenis bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan infeksi saluran pernapasan, infeksi luka pada kulit, baik luka sayatan, luka lecet maupun luka bakar. Infeksi dari bakteri ini bisa sampai menimbulkan nanah berwarna hijau kebiruan akibat pigmen piosianin.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, serta untuk mengetahui kadar senyawa fenolik dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

Ekstrak kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) diperoleh melalui proses maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji bebas etanol dan dilakukan fraksinasi. Setelah didapatkan hasil dari fraksinasi, dilakukan uji pendahuluan serta uji penegasan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan siproflaksasin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Hasil diameter zona hambat dari pengujian aktivitas antibakteri diukur menggunakan jangka sorong, dan data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS dengan uji anava dua jalan.

Kata kunci : Kulit singkong, ekstrak, fraksi, *Pseudomonas aeruginosa*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN MOTTO PERSEMBAHAN.....	iv
PRAKATA.....	v
SARI.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	0
1.1 Latar Belakang Masalah.....	0
1.2 Rumusan Masalah	1
1.3 Batasan Masalah.....	1
1.4 Tujuan Penelitian.....	2
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS.....	4
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Singkong (<i>Manihot esculenta</i> Crantz).....	4
2.1.1 Klasifikasi Singkong.....	4
2.1.2 Nama Daerah dan Sinonim	4
2.1.3 Morfologi Tanaman Singkong	5
2.1.4 Khasiat dan Kegunaan	5
2.1.5 Kandungan Kimia Kulit Singkong	6
2.2 Tinjauan Tentang Ekstraksi	7
2.3 Tinjauan Tentang Fraksinasi.....	10

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	10
2.5 Tinjauan Tentang Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.5.1 Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.5.2 Patogenesis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.5.3 Antibakteri	12
2.5.4 Mekanisme Kerja Antibakteri	12
2.5.5 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	13
2.5.6 Kriteria Kekuatan Daya Hambat Bakteri	Error! Bookmark not defined.
2.6 Tinjauan Tentang Media	14
2.6.1 Pengertian Media	14
2.6.2 Media Pertumbuhan Bakteri	14
2.7 Tinjauan Tentang Ciprofloxacin	14
2.7.1 Mekanisme Kerja Ciprofloxacin	15
2.9 Hipotesis	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Objek Penelitian	16
3.2 Sampel dan Teknik Sampling	16
3.2.1 Sampel	16
3.2.2 Teknik Sampling	16
3.3 Variabel Penelitian	16
3.3.1 Variabel Bebas	16
3.3.2 Variabel Terikat	16
3.3.3 Variabel Kontrol	16
3.4 Teknik Pengumpulan Data	17
3.5 Alat dan Bahan	17

3.5.1 Alat yang Digunakan	17
3.5.2 Bahan yang Digunakan.....	17
3.6 Cara Kerja	18
3.6.1 Determinasi Tanaman	18
3.6.2 Pengumpulan Bahan	18
3.6.3 Penyiapan Simplisia.....	18
3.6.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Singkong.....	18
3.6.5 Fraksinasi Ekstrak.....	19
3.6.6 Uji Bebas Etanol.....	21
3.6.7 Uji Pendahuluan Fitokimia	20
3.6.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	21
3.6.9 Pengujian Aktivitas Antibakteri	22
3.6.10 Uji Penetapan Kadar Fenolik.....	24
3.7 Skema Kerja	26
3.8 Cara Analisis	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	35
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman singkong.....	4
2. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
3. Skema kerja secara umum.....	26
4. Skema kerja ekstraksi kulit singkong.....	27
5. Skema kerja fraksinasi kulit singkong.....	28
6. Skema kerja uji pendahuluan kulit singkong.....	29
7. Skema kerja uji KLT kulit singkong.....	30
8. Skema kerja uji aktivitas antibakteri kulit singkong.....	31
9. Skema kerja pembuatan larutan baku asam galat.....	32
10. Skema kerja penetapan kadar fenolik.....	33
11. Kurva baku asam galat.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Indeks polaritas.....	10
2. Uji bebas etanol.....	37
3. Uji skrining fitokimia.....	38
4. Hasil uji KLT.....	41
5. Absorbansi asam galat.....	43
6. Hasil kadar fenolik total sampel ekstrak dan fraksi kulit singkong.....	44
7. Hasil uji antibakteri.....	47
8. Hasil uji anova.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman singkong.....	58
2. Sertifikat <i>Ethical Approval</i>	59
3. Sertifikat bakteri.....	60
4. Pembuatan serbuk simplisia kering kulit singkong.....	61
5. Proses ekstraksi kulit singkong.....	62
6. Proses fraksinasi ekstrak kulit singkong.....	63
7. Hasil randemen ekstrak dan fraksi kulit singkong.....	64
8. Hasil uji pendahuluan dan uji bebas etanol.....	65
9. Hasil uji KLT.....	68
10. Perhitungan deret baku asam galat.....	74
11. Penentuan panjang gelombang maksimal fenolik total.....	76
12. Penentuan Operating time fenolik total.....	77
13. Deret baku dan kurva regresi linear baku asam galat.....	78
14. Perhitungan kadar fenolik total dan pembacaan absorbansi sampel ekstrak, fraksi n heksan, etil asetat, dan air kulit singkong.....	79
15. Absorbansi sampel ekstrak, fraksi n heksan ,etil asetat, dan air.....	83
16. Instrumen penelitian.....	84
17. Perhitungan dan pembuatan media.....	85
18. Bakteri pseudomonas aeruginosa.....	86
19. Pembuatan larutan kontrol positif dan larutan uji.....	87
20. Uji antibakteri.....	91
21. Uji spss.....	92

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di alam dan biasanya ditemukan pada lingkungan yang lembab. Bakteri tersebut dapat menimbulkan penyakit pada manusia saat pertahanan tubuh menurun. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang multiresistant sehingga tidak boleh diterapi dengan obat antibiotik tunggal karena angka keberhasilannya rendah (Brooks dkk., 2014). *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogenik jika hanya berada pada tempat dengan daya tahan yang tidak normal, misalnya pada kulit yang rusak akibat adanya kerusakan jaringan sehingga dapat menimbulkan infeksi (Anggita dkk., 2018).

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu patogen paling umum yang menyebabkan infeksi saluran pernapasan pada pasien rawat inap. Infeksi saluran napas sering diklasifikasikan menjadi dua jenis, akut atau kronis, dan penularannya dapat terjadi di rumah sakit atau di masyarakat, meskipun penyakit ini jarang terjadi dan hampir selalu dikaitkan dengan kelainan mendasar pada imunitas (Arancibia dkk., 2002). Selain itu, bakteri ini juga sering menjadi penyebab infeksi luka pada kulit, baik luka sayatan, luka lecet maupun luka bakar. Infeksi dari bakteri ini bisa sampai menimbulkan nanah berwarna hijau kebiruan akibat pigmen piosianin (Rostinawati, 2009).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diatasi dengan cara memberikan terapi antibiotik, namun angka keberhasilannya rendah karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap berbagai jenis obat antibiotik seperti obat *ampicillin-sulbactam*, *amoxicillin-clavulanic acid*, *cefotacime*, *ceftriaxone*, *ertapenem*, *tetracyclines*, *trimethoprim*, *trimethoprim-sulfamethoxazole*, *chloramphenicol* dan *fosfomycin* sehingga mempersulit pemilihan terapi untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut (Lisa, 2008).

Oleh karena itu perlu dicari alternatif pengobatan dari sumber lain seperti dari bahan alam. Salah satu bahan tanaman yang dapat di manfaatkan sebagai

antibakteri yaitu limbah kulit singkong. Singkong merupakan tanaman yang sangat familiar di tengah masyarakat Indonesia. Banyak berbagai macam makanan olahan yang terbuat dari singkong. Produksi makanan olahan dari singkong biasanya hanya menggunakan bagian umbinya saja, sedangkan bagian kulit singkong seringkali terbuang. Hal ini dikarenakan kulit singkong di masyarakat masih belum dimanfaatkan secara optimal (Asiah dkk., 2019).

Menurut penelitian Yuniarti dkk (2016), kulit singkong memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, kuinon, tanin dan saponin. Menurut penelitian Asiah dkk (2019), dari hasil pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, kulit singkong memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan jenis bakteri gram positif. Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri jenis gram negatif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
3. Berapakah kadar fenolik ekstrak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz)?

1.3 Batasan Masalah

1. Bagian tanaman yang digunakan adalah limbah kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) berwarna putih yang diperoleh dari produksi keripik singkong di Kecamatan Mijen, Kabupaten Demak.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96 %.

3. Proses fraksinasi dengan corong pisah menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air.
4. Identifikasi senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin, saponin, steroid, terpenoid dari ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dengan uji pendahuluan dan uji kromatografi lapis tipis (KLT).
5. Bakteri yang digunakan pada uji antibakteri adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Medis Sarana Medika Semarang.
6. Sampel yang digunakan untuk pengujian antibakteri adalah ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz)
7. Metode yang digunakan untuk pengujian antibakteri adalah metode sumuran. hasil pengamatan berupa zona bening di sekeliling lubang sumuran, dan diukur menggunakan jangka sorong.
8. Penetapan kadar fenolik dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan alat spektrofotometri Uv-Vis.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada konsentrasi 5%, 10%, 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Mengetahui kadar fenolik ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada Masyarakat tentang manfaat kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz).
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri dari kulit singkong terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga kulit singkong dapat dimanfaatkan lebih luas di bidang farmasi dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan antiinfeksi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

2.1.1 Klasifikasi Singkong



Gambar 1. Tanaman Singkong (Dokumentasi pribadi)

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan dari Herbarium Medanense 2016, klasifikasi tanaman singkong yaitu sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae atau tumbuh-tumbuhan
- Divisi : Spermatophyta atau tumbuhan berbiji
- Sub divisi : Angiospermae atau berbiji tertutup
- Kelas : Dicotyledoneae atau biji berkeping dua
- Ordo : Euphorbiales
- Famili : Euphorbiaceae
- Genus : *Manihot*
- Spesies : *Manihot esculenta*

2.1.2 Nama Daerah dan Sinonim

Tanaman singkong memiliki nama-nama yang berbeda di berbagai daerah dan wilayah di negara Indonesia, diantaranya yaitu seperti ketela, keutila, ubi kayee (Aceh), ubi parancih (Minangkabau), ubi singkung (Jakarta), batata kayu (Manado), bistugkel (Sunda), bolet, kasawe, kaspas, kaspas, ketela budin, katela jendral, katela kaspas, katela mantri, katela marikan, katela menyog, katela poug, katela prasman,

katela sabekong, katela samunah, katela tapah, katela cengkol, telo pohung (Jawa), blandong, manggala menyok, puhung, pohog, sabhrang balandha, sawe, sawi, tela balandha, tengsag (Madura), kesawi, ketela kayu, sabrang sawi (Bali), kasubi (Gorontalo), lame kayyu (Makasar), lame aju (Bugis), kasibi (Ternate, Tidore) (Purwono, 2009).

2.1.3 Morfologi Tanaman Singkong

Singkong termasuk dalam famili Euphorbiaceae, mempunyai batang yang lurus dengan tinggi sekitar 1,5 m sampai 4 m. Batang singkong berbentuk bulat dengan diameter 2,5 cm sampai 4 cm. Batang pohon singkong memiliki warna coklat atau keunguan dan bisa bercabang ganda bahkan sampai tiga (Fitriani, 2017).

Daun pada tanaman singkong termasuk daun majemuk dengan anak daun yang berbentuk elips dengan ujungnya yang runcing. Daun singkong memiliki warna hijau muda, hijau kekuningan, bahkan sampai hijau keunguan mempunyai tangkai daun yang panjang dengan warna hijau, merah, kuning sampai bisa kombinasi dari ketiganya (Mayosi, 2019).

Akar tumbuhan masuk dalam tanah dengan kedalaman 0,5 sampai 0,6 m. Sebagian akar ubi kayu dimanfaatkan untuk menyimpan bahan makanan seperti karbohidrat. Warna dari umbi singkong yaitu coklat atau kelabu. Kulit dalamnya memiliki warna kuning kemerahan agak putih dengan warna daging kuning serta putih (Mayosi, 2019).

2.1.4 Khasiat dan Kegunaan

Manfaat dan kegunaan ubi kayu cukup luas terutama untuk industri makanan, produk antara (intermediate product) seperti gablek, sawut/chips, pellet, tepung tapioka, dan tepung kasava memungkinkan ditumbuhkembangkan di daerah-daerah sentral produksi ubi kayu (Garjito dkk., 2013). Menurut Suparni dkk (2013), manfaat kulit singkong yaitu menyembuhkan rematik, mengatasi sakit kepala, menyembuhkan demam, menyembuhkan luka, menyembuhkan cacingan, mengatasi disentri, menyembuhkan rabun senja, mengatasi penyakit beri-beri, dan meningkatkan stamina tubuh.

2.1.5 Kandungan Kimia Kulit Singkong

Kulit singkong memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti Flavonoid, kuinon, tanin, dan saponin (Yuniarti dkk., 2016).

1. Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mengandung gugus C_{15} yang terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, yang artinya kerangka karbonnya tersusun atas dua gugus C_6 (Cincin benzena) dan dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (C_3) (Robinson, 1991).

Flavonoid bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang kemudian terlarut, lalu menyebabkan membran sel bakteri rusak sehingga terjadi perubahan fluiditas membran pada bakteri sehingga beberapa komponen intraseluler dari bakteri keluar (Othman dkk., 2019).

2. Fenolik

Fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Fenolik sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol (Vermerris dan Nicholson, 2006). Dalam aktivitas antibakteri, Senyawa fenolik memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel. Fenolik berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak (Singh, 2005).

Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dan sel bakteri menjadi terganggu yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul dan ion dari sel sehingga sel bakteri kehilangan bentuknya dan terjadilah lisis (Susanti, 2008).

3. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik

yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016).

Tanin dapat menembus dinding sel bakteri hingga mencapai membran dalam, berinteraksi dengan protein pada lapisan peptidoglikan, dan menyebabkan dinding sel bakteri rusak, kemudian bakteri akan lisis karena tekanan osmotik dalam sel bakteri yang tinggi (Sartika dkk., 2021).

4. Saponin

Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatilen dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik (Chapagain, 2005).

Dalam aktivitas antibakteri, saponin memiliki molekul hidrofilik dan lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel bakteri yang pada akhirnya mengakibatkan membran sel rusak (Akinpelu dkk., 2014).

2.2 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Metode ekstraksi bahan alam dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi 2 cara yaitu cara dingin (*cold processing*) dan cara panas (*heat processing*).

a. Cara dingin

Metode ekstraksi ini adalah yang paling sederhana. Prinsip dari metode ini yaitu mengekstraksi bahan kering pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi. Keuntungan cara ini merupakan metode ekstraksi yang mudah karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan-bahan alam berdasarkan kelarutannya dan polaritasnya dalam

pelarut ekstraksi. Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi. Berikut ini yang termasuk dalam ekstraksi dingin :

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus) Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Hanani, 2014).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (DepKes RI, 2000).

b. Cara Panas

Ekstraksi cara panas merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang suhunya ditingkatkan. Berikut ini adalah yang termasuk ke dalam metode ekstraksi cara panas. Berikut ini yang termasuk dalam ekstraksi panas :

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga termasuk proses ekstraksi sempurna.

2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring. melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soklet akan mengkosongkan isinya kedalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomassa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik yaitu dengan pengadukan kontinu pada temperatur ruangan atau kamar, secara umum dilakukan pada temperatur 40°C-50°C.

4. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air dipanaskan dengan menggunakan panci penangas air selama 15 menit, dengan suhu 90°C-98°C Proses infus digunakan untuk memperoleh zat kandungan aktif yang larut dalam air (DepKes RI, 2000).

2.3 Tinjauan Tentang Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu senyawa polar dengan pelarut polar dan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar (Harbone, 1987). Salah satu metode fraksinasi yang sering digunakan yaitu ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut atau yang biasanya disebut dengan prinsip *solve dissolve like*.

Teknik pemisahan ekstraksi cair-cair ini biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian digojok dan didiamkan. Solut atau senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasanya masing-masing tergantung

pada kelarutannya terhadap fase tersebut. Kemudian akan terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Odugbemi, 2008).

Berdasarkan sifat polaritas, cairan pelarut dapat dikelompokkan berdasarkan indeks polaritas yang dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 1. Indeks Polaritas

Pelarut	Indeks Polaritas	Titik Didih (C°)	Viskositas (ePoise)	Kelarutan dalam Air
n-heksan (C ₆ H ₁₄)	0,0	69	0,33	0,001
Diklorometan	3,1	41	0,44	1,6
n-butanol	3,9	118	2,98	7,81
Isopropanol	3,9	82	2,30	100
n-propanool	4,0	92	2,27	100
Klorofom	4,1	61	0,57	0,815
Etil Asetat	4,4	77	0,45	8,7
Aseton	5,1	56	0,32	100
Metanol	5,1	65	0,60	100
Etanol	5,2	78	1,20	100
Air	9,0	100	1,00	100

(Nugroho, 2017).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan yang memiliki fase diam berupa zat padat dengan fase gerakanya berupa zat cair. Prinsip dari pemisahan kromatografi lapis tipis adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk larut dalam cairan pelarut, kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan.

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu analisis sederhana yang dapat digunakan untuk melakukan penegasan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan. Nilai R_f dan warna noda yang diperoleh pada KLT

dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung dalam tumbuhan (Saifudin, 2011).

Menurut Stahl (1985), jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf. Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00. Nilai Rf dipengaruhi oleh sifat bahan penyerap dan aktivitasnya, ketebalan lapisan absorbent, kemurnian fase gerak, suhu, kejenuhan, dan kesetimbangan.

2.5 Tinjauan Tentang Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.5.1 Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2. Basilus *Pseudomonas aeruginosa* berwarna merah muda dalam pewarnaan Gram (Banarjee dkk., 2017)

Spesies bakteri *Pseudomonas* mempunyai ukuran sedang ($0,5-1 \mu\text{m} \times 1,5-5 \mu\text{m}$) dengan batang Gram negatif, yang berbentuk lurus atau sedikit melengkung. Jenis bakteri ini motil dibantu dengan alat gerak oleh satu atau lebih flagella polar. Bakteri ini dapat berbentuk tunggal, berpasangan atau kadang-kadang berbentuk rantai pendek (Isabelita, 2018).

Berbentuk datar, menyebar, dengan tepi bergerigi dan bentukan yang khas mirip anggur merupakan koloni dari *Pseudomonas aeruginosa*. Bentuk kolonial terlihat halus, lunak dan juga mengkilap. Bakteri ini adalah bakteri Gram negatif aerob (Markey dkk., 2013).

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam taksonomi sebagai berikut :

- Kingdom : Procaryotae (Bacteria)
- Filum : Proteobacteria
- Klas : Gamma Proteobacteria

- Ordo : Pseudomonadales
- Famili : Pseudomonadaceae
- Genus : Pseudomonas
- Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Brook dkk., 2001).

2.5.2 Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama bagi manusia dan hewan, karena bakteri ini mengkoloni dan dapat menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan abnormal. *Pseudomonas aeruginosa* disebut patogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan mekanisme pada inang untuk memulai infeksi. Berbagai penyakit yang dapat di sebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu infeksi pada saluran kemih, infeksi pada saluran pernapasan yang menyebabkan pneumonia, dan infeksi luka biasa maupun luka bakar yang menimbulkan nanah hijau kebiruan (Mayasari, 2006).

2.5.3 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia baik alami maupun sintetis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas antibakteri. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat yang selektif yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak bagi inangnya (Nurhayati dkk., 2020).

2.5.4 Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dapat digolongkan sebagai berikut (Buldani dkk., 2017) :

a. Antibakteri yang bisa menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan, sintesis peptidoglikan yang akan dihalangi oleh antibiotik. Sikloserin akan mengganggu reaksi paling muda dalam proses sintesis dinding sel, sedangkan penyusun lainnya akan menghambat sintesis peptidoglikan diakhir. Hal tersebut akan menimbulkan rusaknya pada dinding sel sehingga menjadi tidak sempurna dan tidak dapat mempertahankan pertumbuhan sel secara normal.

b. Antibakteri yang dapat mengganggu metabolisme sel

Antibakteri yang bergolongan sulfonamide, sulfon, asam p-aminosalisilat, dan trimetoprim memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat pembentukan asam folat, bakteri memerlukan asam folat sebagai kelangsungan hidupnya dan bakteri mendapatkan asam folat dengan cara mensintesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA).

c. Antibakteri yang dapat merusak asam nukleat

Bakteri memerlukan DNA, Protein, RNA dalam kelangsungan hidupnya. Apabila terdapat gangguan pada pembentukan dari zat-zat tersebut maka akan mengakibatkan matinya sel pada bakteri.

d. Antibakteri yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel

Membran sitoplasma sebagai penghalang dengan cara permeabilitas selektif. Membran sitoplasma akan menjaga bahan-bahan tertentu di selnya dan mengatur keluar masuknya bahan yang lain. Jika ada kerusakan pada membran akan berakibat terhalangnya pertumbuhan hingga matinya sel bakteri.

e. Antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein

Pada kondisi terdenaturasinya protein dan asam nukleat bisa merusak sel tanpa bisa diperbaiki lagi, suhu tinggi pada konsentrasi dari beberapa zat kimia akan mengakibatkan koagulasi (denaturasi) yang bersifat irreversible.

2.5.5 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode sumuran dan metode cakram kertas. Metode sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Dewi, 2010). Kelebihan metode difusi sumuran yaitu mudah dilakukan, biaya relatif murah, peralatan yang digunakan lebih mudah (Prayoga, 2013).

2.6 Tinjauan Tentang Media

2.6.1 Pengertian Media

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran zat-zat (nutrisi) yang berguna untuk menumbuhkan mikroorganisme. Selain digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme, media juga digunakan untuk isolasi, pengujian sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Media pertumbuhan mengandung makronutrien seperti C (karbon), O (oksigen), N (nitrogen), P (phosphor), serta mengandung mikro seperti Fe (besi) dan Magnesium (Rakhmawati, 2012).

2.6.2 Media Pertumbuhan Bakteri

Media yang digunakan dalam pertumbuhan bakteri sangat beraneka macam. Menurut Rakhmawati (2012), berdasarkan konsistensinya media dibedakan menjadi tiga yaitu :

1. Media cair (*Liquid Media*), yaitu media berbentuk cair mengandung nutrisi yang dilarutkan dengan aquadest contohnya seperti *Nutrient Broth* (NB), *Alkali Pepton Water* (APW), *Brain Heart Infusion* (BHI).
2. Media semi solid, yaitu media yang digunakan untuk uji motilitas karena memiliki tekstur setengah padat guna memudahkan pergerakan bakteri.
3. Media padat, yaitu media berbentuk padat mengandung nutrisi yang dilarutkan dengan aquadest dan ditambah dengan bahan pematat seperti agar.

2.7 Tinjauan Tentang Ciprofloxacin

Nama lain : Ciprofloxacin Hydrochloride

Rumus kimia : $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$

BM : 331,3 g/mol

Pemerian : Ciprofloxacin berbentuk serbuk hablur, berwarna putih atau kuning pucat, dan sedikit higroskopik.

Kelarutan : Ciprofloxacin memiliki kelarutan yang praktis tidak larut dalam air, larut dalam dehidrat alkohol dan diklorometan, disimpan dalam suhu kedap udara dengan suhu 25°C serta stabil selama 14 hari bila disimpan pada suhu ruang dan harus disimpan pada suhu kurang

dari 30°C (Gerald, 2005).

2.7.1 Mekanisme Kerja Ciprofloxacin

Salah satu obat aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu Ciprofloxacin yang merupakan golongan kuinolon. Ciprofloxacin merupakan obat dengan spektrum luas dan mempunyai mekanisme kerja dengan cara memblok sintesis DNA bakteri sehingga dapat mencegah proses transkripsi dan replikasi normal bakteri. Obat ini bekerja dengan cara menghambat enzim topoisomerase IV dan DNA gyrase yang diperlukan oleh bakteri untuk memperbanyak diri. Dengan begitu, bakteri tidak dapat berkembang biak dan lebih mudah untuk dibasmi oleh sistem kekebalan tubuh (Gilman, 2008).

2.9 Hipotesis

1. Ekstrak fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
3. Terdapat kadar fenolik pada ekstrak dan fraksi etil asetat, *n*-heksan, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri yang didapat dari ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai antibakteri pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* serta penetapan kadar fenolik yang terdapat pada ekstrak dan fraksinya.

3.2 Sampel dan Teknik Sampling

3.2.1 Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) berwarna putih yang diambil dari Kecamatan Boja, Kabupaten Kendal.

3.2.2 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Purposive Sampling*, pengambilan sampel berdasarkan pertimbangan peneliti yaitu sampel yang digunakan kulit singkong bagian dalam berwarna putih.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksan, etil asetat, air yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Serta penetapan kadar fenolik pada ekstrak dan fraksinya.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang menunjukkan adanya daya hambat dari ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat, air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* serta hasil penetapan kadar fenolik nya.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu pembuatan simplisia dari kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz), metode ekstraksi yang digunakan yaitu

maserasi dengan pelarut etanol 96%, fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air, media CETA, volume suspensi bakteri, lama inkubasi bakteri 24 jam dan suhu inkubasi 37°C, jenis bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, volume sampel yang digunakan, konsentrasi ekstrak dan fraksi untuk uji aktivitas antibakteri adalah difusi sumuran, baku pembandingan yang digunakan untuk penetapan kadar fenolik adalah asam galat dan spektrofotometer yang digunakan yaitu spektrofotometri UV-Vis.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan metode eksperimental. Teknik pengumpulan data dengan melakukan identifikasi pendahuluan terhadap senyawa hasil ekstraksi dan fraksinasi yaitu uji pendahuluan kualitatif sederhana secara spesifik untuk masing-masing senyawa kimia. Identifikasi secara KLT terhadap senyawa hasil ekstraksi dan fraksinasi dari kulit singkong. Uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran, serta uji penetapan kadar fenolik.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat yang Digunakan

Alat-alat yang dipakai dalam penelitian ini meliputi blender, ayakan, timbangan analitik, seperangkat alat gelas, *rotary evaporator*, *waterbath*, batang pengaduk, kain kasa, statif, klem ring, corong pisah, rak dan tabung reaksi, corong kaca, sudip, pipet volume, filler, pipet tetes, lempeng KLT silika GF 254, pipa kapiler, bejana pengembang, botol penyemprot, lampu UV 254 dan 366 nm, cawan petri, pinset, jarum ose, inkubator, api bunsen, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), jangka sorong, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.2 Bahan yang Digunakan

Bahan utama yang digunakan yaitu kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang telah dikeringkan dan diserbukkan. Bahan yang digunakan dalam ekstraksi simplisia yaitu etanol 96%. Bahan untuk fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat, dan air. Bahan untuk uji bebas etanol yaitu asam sulfanilat, HCl, NaNO₂, NaOH, asam asetat, H₂SO₄. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia dan KLT yaitu FeCl₃, serbuk Mg, HCl, Kloroform, amonia, pereaksi dragendorff,

pereaksi wagner, pereaksi mayer, H₂SO₄, *n*-butanol, asam asetat, air, etil asetat, *n*-heksan, methanol, pereaksi *Liebermann Burchard*.

Bahan yang digunakan dalam mikrobiologi yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, media CETA, media NB, larutan Mc Farland, larutan kontrol positif (Ciprofloxacin), dan kontrol negatif DMSO. Bahan untuk penetapan kadar fenolik yaitu baku asam galat, etanol, *aquadest*, pereaksi *Folin- Ciocalteu*, larutan natrium karbonat (Na₂CO₃).

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan guna menghindari adanya kesalahan dalam pengambilan sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian. Determinasi dilakukan terhadap tumbuhan singkong (*Manihot esculenta* Crantz) di Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.

3.6.2 Pengumpulan Bahan

Sampel kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang dipilih yaitu bagaian kulit singkong yang berwarna putih, berasal dari Kecamatan Mijen, Kabupaten Demak. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari Laboratorium Medis Sarana Medika Semarang.

3.6.3 Penyiapan Simplisia

Limbah kulit singkong yang diperoleh dari Kecamatan Mijen, Kabupaten Demak kemudian dikumpulkan untuk disortasi basah, dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dilakukan perajangan dan dikeringkan diudara terbuka tidak terkena sinar matahari secara langsung dengan ditutup kain hitam. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan sortasi kering, lalu diblender dan diayak dengan ayakan mesh 30-40. Serbuk simplisia yang digunakan yaitu yang lolos ayakan no 30.

3.6.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Singkong

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% pada perbandingan 1:5. Serbuk kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) ditimbang seksama 500 gram, di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan sesekali disertai

pengadukan. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak yang agak kental. Ekstrak yang agak kental kemudian dipekatkan kembali dengan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang kental (Uzma dkk., 2023). Langkah selanjutnya ditimbang dan dihitung randemennya dengan rumus :

$$\% \text{ Randemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot hasil ekstrak}}{\text{Bobot serbuk simplisia}} \times 100\%$$

3.6.5 Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kulit singkong kemudian dilarutkan dengan pelarut air 100 mL sampai terdispersi sempurna, kemudian dilakukan fraksinasi dengan n-heksana 100 mL dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Fraksi n-heksana merupakan filtrat yang terletak di atas dan fraksi air merupakan filtrat yang terletak di bawah. Fraksi n-heksana kemudian dipisahkan dari fraksi air dan dipekatkan di evaporator pada suhu 40°C (Rahmawati dkk., 2015).

Fraksi air sisa dari fraksi n-heksana kemudian difraksinasi kembali dengan 100 mL etil asetat sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Fraksi etil asetat merupakan filtrat yang terletak di atas dan fraksi air merupakan filtrat yang terletak di bawah. Fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi air kemudian dipekatkan di evaporator pada suhu 40°C (Rahmawati dkk., 2015). Filtrat sisa fraksinasi dengan etil asetat adalah fraksi air yang kemudian ditampung dan diuapkan hingga masing-masing terbentuk fraksi kental. Hasil semua fraksi selanjutnya ditimbang dan dihitung rendemennya (Kherid dkk., 2020).

3.6.6 Uji Bebas Etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara yaitu ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambah dengan 2 mL H₂SO₄ dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terdapat bau ester dan etanol yang khas (Aquariushinta, 2015).

3.6.7 Uji Pendahuluan Fitokimia

1. Uji Fenolik

Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambah 3 tetes FeCl_3 5%. Diamati perubahan warnanya, hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna biru kehitam (Uzma dkk., 2023).

2. Uji Flavonoid

Sampel ditambahkan serbuk Mg, 2 tetes HCl pekat dan 2 tetes amil alkohol. Hasil positif akan menunjukkan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Nasution, 2020).

3. Uji Alkaloid

Sampel ditambahkan 2 mL HCl 2N dan larutan dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung 1 ditambah 2-3 tetes reagen mayer, tabung 2 ditambah reagen dragendorf, tabung 3 ditambah reagen wagner. Penambahan pereaksi dragendorf ditandai dengan terbentuknya endapan merah/jingga, pada penambahan reagen wagner terbentuknya endapan coklat, dan pada penambahan reagen mayer hasil positif akan menunjukkan terbentuknya endapan putih (Muthmainnah, 2017).

4. Uji Saponin

Sampel ditambahkan 10 mL air panas, dinginkan kemudian digojog hingga muncul buih dan tambahkan 1 tetes HCl 2N. Hasil positif akan menunjukkan buih tidak menghilang (Wulandari dkk., 2020).

5. Uji Tanin

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 20 mL air panas lalu disaring. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%, hasil positif menunjukkan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman. Tabung kedua ditambahkan sedikit larutan gelatin dan 5 mL NaCl 10%, hasil positif akan menunjukkan terbentuknya endapan putih (Ikalinus dkk., 2015).

6. Uji Steroid/Triterpenoid

Sampel dicampur dengan anhidrida asetat dan ditambahkan 1 mL H_2SO_4 pekat pada tabung reaksi. Apabila terbentuk warna hijau menandakan positif steroid, dan apabila terbentuk warna merah atau ungu menandakan positif triterpenoid (Ikalinus dkk, 2015).

3.6.8 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1. Uji Fenolik

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi menggunakan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (3 : 7) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering. Kemudian diamati dibawah sinar UV 254 nm, dan disemprot menggunakan penampak bercak FeCl₃. Dihitung harga RF serta diamati warna noda yang dihasilkan. Hasil positif akan menunjukkan terbentuknya warna hitam atau biru kehitaman (Saxena dkk., 2012).

2. Uji Flavonoid

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi dengan fase gerak toluen : asam asetat : asam format (5 : 4 : 1)) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering dan diamati dibawah sinar UV 254 nm. Selanjutnya plat disemprot dengan penampak bercak ammonia dan diamati Kembali dibawah sinar UV 254 nm. Dihitung harga RF, hasil positif akan menunjukkan terbentuknya noda berwarna kuning, jingga, atau coklat (Saputri dkk., 2021).

3. Uji Alkaloid

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 16,5 : 13,5) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering, amati dibawah sinar UV 254 nm. Dilakukan penyemprotan penampak bercak menggunakan pereaksi dragendorf, hasil positif akan menunjukkan terbentuknya noda berwarna coklat atau jingga (Yanty dkk., 2019).

4. Tanin

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (100 : 16,5 : 13,5) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering. Amati lempeng KLT dibawah sinar UV 254 lalu dilakukan penyemprotan penampak bercak menggunakan FeCl₃ 5%, hasil positif akan menunjukkan adanya noda berwarna hitam (Yuda dkk., 2017).

5. Saponin

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi dengan fase Kloroform : methanol (9 : 1) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari chamber dan dikeringkan. Amati dibawah sinar UV 254 nm. Disemprot dengan pereaksi darah, hasil positif akan menunjukkan adanya noda berwarna putih dengan latar belakang merah muda (Wagner dkk., 1996).

6. Triterpenoid/steroid

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT silika GF 254 nm. Dielusi dengan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (6 : 4) hingga batas elusi. Lempeng diangkat dari chamber dan dikeringkan, amati dibawah sinar UV 254 nm. Hitung harga RF dan semprot lempeng KLT dengan penampak bercak Libermann-Burchard, hasil positif akan menunjukkan adanya noda berwarna ungu (Mustikawati dkk., 2020).

3.6.9 Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu sampai bersih dan dikeringkan. Cawan petri dan alat-alat gelas dibungkus dengan kertas payung dan plastik, kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C. Sterilisasi peralatan yang lain adalah jarum ose yaitu di sterilkan dengan dibakar langsung pada api bunsen (Mpila dkk.,2012).

2. Pembuatan Media CETA

Ditimbang Media CETA (*Cetrimide Agar*) sebanyak 11,325 gram menggunakan *beaker glass*, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga 250 mL. Media yang telah dilarutkan kemudian di tuang ke dalam erlenmeyer 250 mL. Larutan tersebut dipanaskan hingga mendidih dan diaduk hingga homogen. Erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan kasa steril dan disterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit (Akmalia dkk., 2020).

3. Pembuatan Media NB

Ditimbang Media NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 0,65 gram menggunakan *beaker glass*, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga 50 mL. Media yang telah dilarutkan kemudian di tuang ke dalam erlenmeyer 50 mL. Larutan tersebut

dipanaskan hingga mendidih dan diaduk hingga homogen. Erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan kasa steril dan disterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit (Mahmudah dkk., 2017).

4. Pembuatan standar $\frac{1}{2}$ Mc Farland

Komposisi *Mc Farland* :

- Larutan H₂SO₄ 0,18 M 0,5 mL

-Larutan BaCl₂ 0,048 M 0,5 mL

Pembuatan larutan BaCl₂ 0,048 M. Serbuk BaCl₂ ditimbang sebanyak 0,47 gram, kemudian dilarutkan dengan akuades 10 mL. Larutan H₂SO₄ 0,8 M diukur 1 mL dan dilarutkan dengan akuades 100 mL. Larutan BaCl₂ dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan di add menggunakan H₂SO₄ sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

Pembuatan $\frac{1}{2}$ *Mc Farland*. Larutan campuran BaCl₂ dan H₂SO₄ diukur sebanyak 5 mL, masukkan ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan dengan media NB steril sampai tanda batas (Rosmania dkk., 2020).

5. Peremajaan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Kultur murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasikan sebanyak 1 ose bulat diinokulasikan pada media NA miring dalam tabung reaksi dengan cara digoreskan secara aseptik, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C (Mpila dkk.,2012).

6. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri uji yang telah diremajakan dengan jarum ose steril lalu disuspensikan dengan media NB 10 ml didalam tabung reaksi hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan $\frac{1}{2}$ Mc Farland yakni setara dengan kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Assidqi dkk., 2012). Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 625 nm (Nuria dkk., 2010).

7. Pembuatan Kontrol Positif Ciprofloxacin

Larutan kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg, dengan cara satu tablet Ciprofloxacin digerus. Setelah itu ditimbang 34,05 mg dan dilarutkan dalam 5 mL DMSO untuk memperoleh larutan ciprofloxacin 0,5%,

kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* (Wangkanusa dkk., 2016).

8. Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji ekstrak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dari kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dilakukan dengan menimbang dan diencerkan menggunakan larutan DMSO hingga diperoleh konsentrasi 5%, 10% dan 15%.

9. Pengujian Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Sumuran

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode Sumuran. Media CETA yang sebelumnya sudah disterilisasi dituang ke dalam cawan petri dengan cara 10 mL media dituang ke dalam cawan petri sebagai lapisan pertama ditunggu memadat. Lima cylinder cup diletakkan pada media yang sudah memadat, kemudian dituang 20 mL media CETA yang telah dicampur dengan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 5 µl sebagai lapisan ke dua, dibiarkan sampai memadat. *Cylinder cup* diambil pada media yang telah padat dan dimasukkan masing-masing sampel larutan uji 50 µl pada lubang sumuran.

Kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif DMSO diletakkan pada media pengujian antibakteri. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong (Cahyani dkk., 2017). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang menunjukkan daerah hambat di sekitar sumur diukur mulai dari tepi sumur menggunakan alat ukur jangka sorong (Nurjannah dkk., 2018). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak lima kali replikasi.

3.6.10 Uji Penetapan Kadar Fenolik

1. Pembuatan Larutan baku asam galat

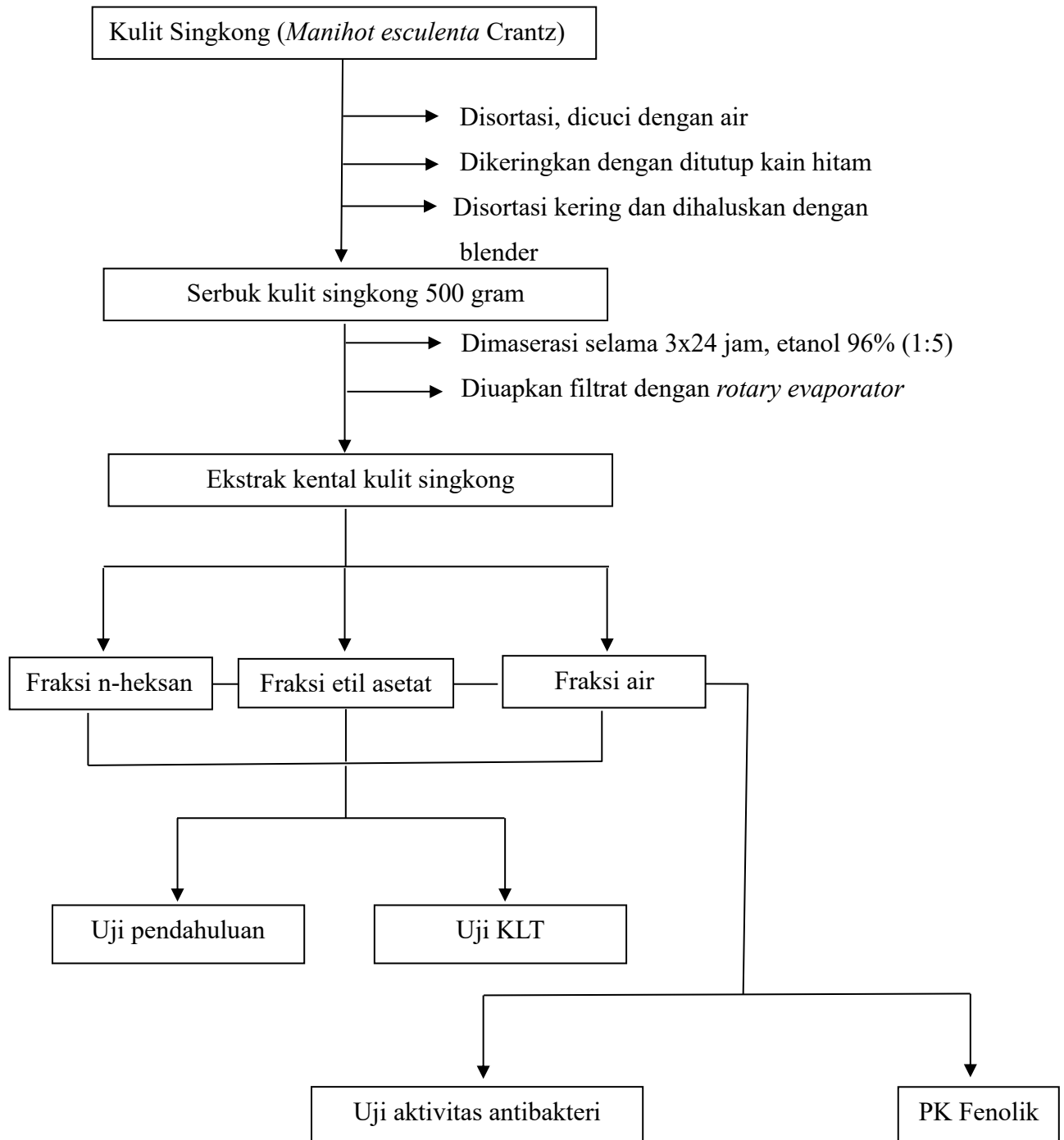
Ditimbang 10 mg asam galat, masukkan ke dalam labu takar 10 mL, larutkan dan tambahkan methanol sampai tanda batas. Seri larutan baku dibuat dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm dalam labu takar 10 mL. Pipet masing-masing larutan deret baku sebanyak 1 mL ke dalam labu takar 10 mL, kemudian tambahkan 0,4 mL larutan *Folin-Ciocalteu* dan larutan Na₂CO₃ 7,5% sebanyak 4,0 mL kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas. Ukur serapan pada lamda max 761 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

2. Penetapan kadar fenolik

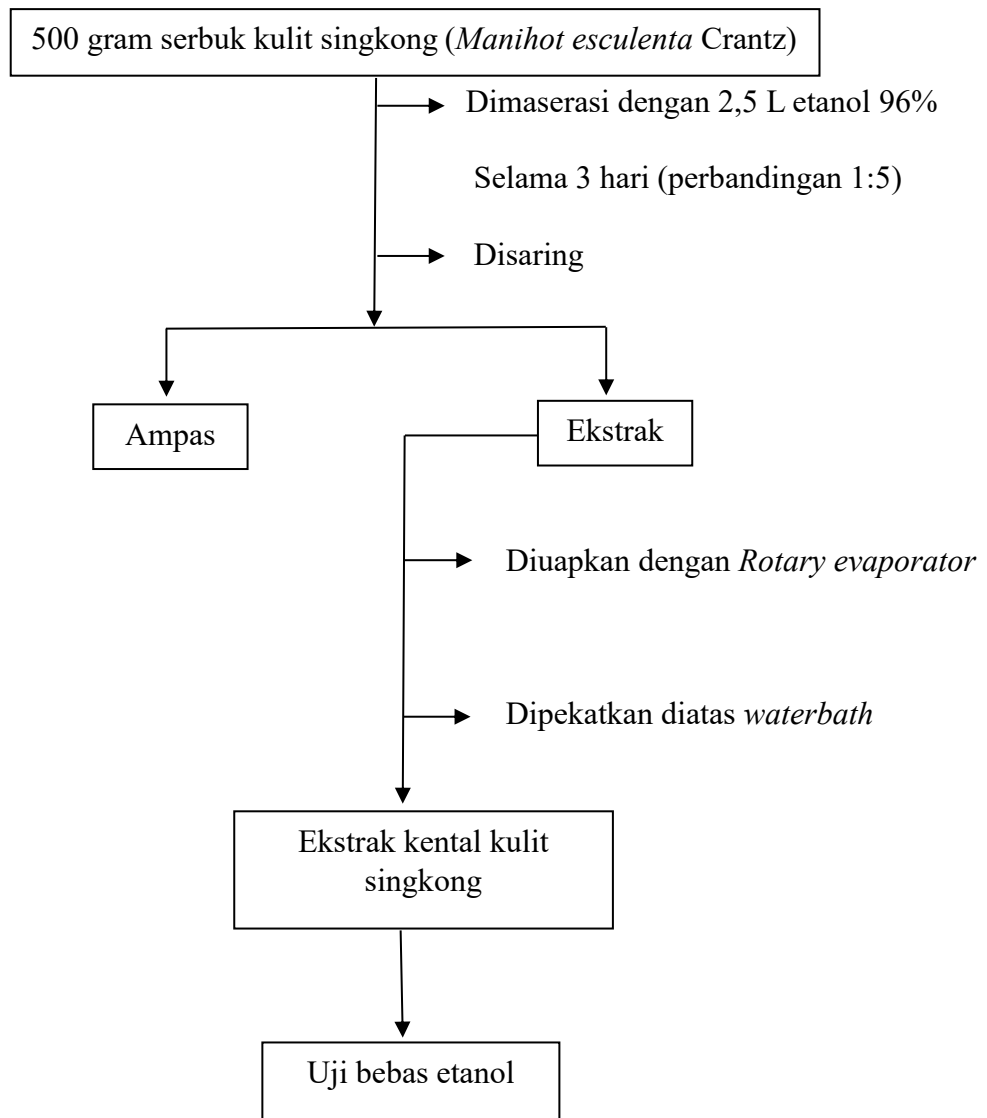
Ditimbang sampel sebanyak 100 mg, dimasukkan ke dalam labu takar, larutkan dan tambahkan dengan 10 mL etanol (10.000 ppm), kemudian disonikasi pada suhu 50°C hingga seluruh sampel terlarut secara homogen. Saring larutan ke dalam labu takar 10 mL, tambahkan etanol melalui saringan sampai tanda batas, kemudian larutan dipipet 2 mL dan masukkan ke dalam labu takar 10 mL (2.000 ppm).

Pipet 1 mL larutan sampel 2.000 ppm ke dalam labu takar 10 mL, kemudian tambahkan 0,4 mL larutan *Folin-Ciocalteu* dan larutan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 4,0 mL kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas. Ukur serapan pada lamda max 761 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

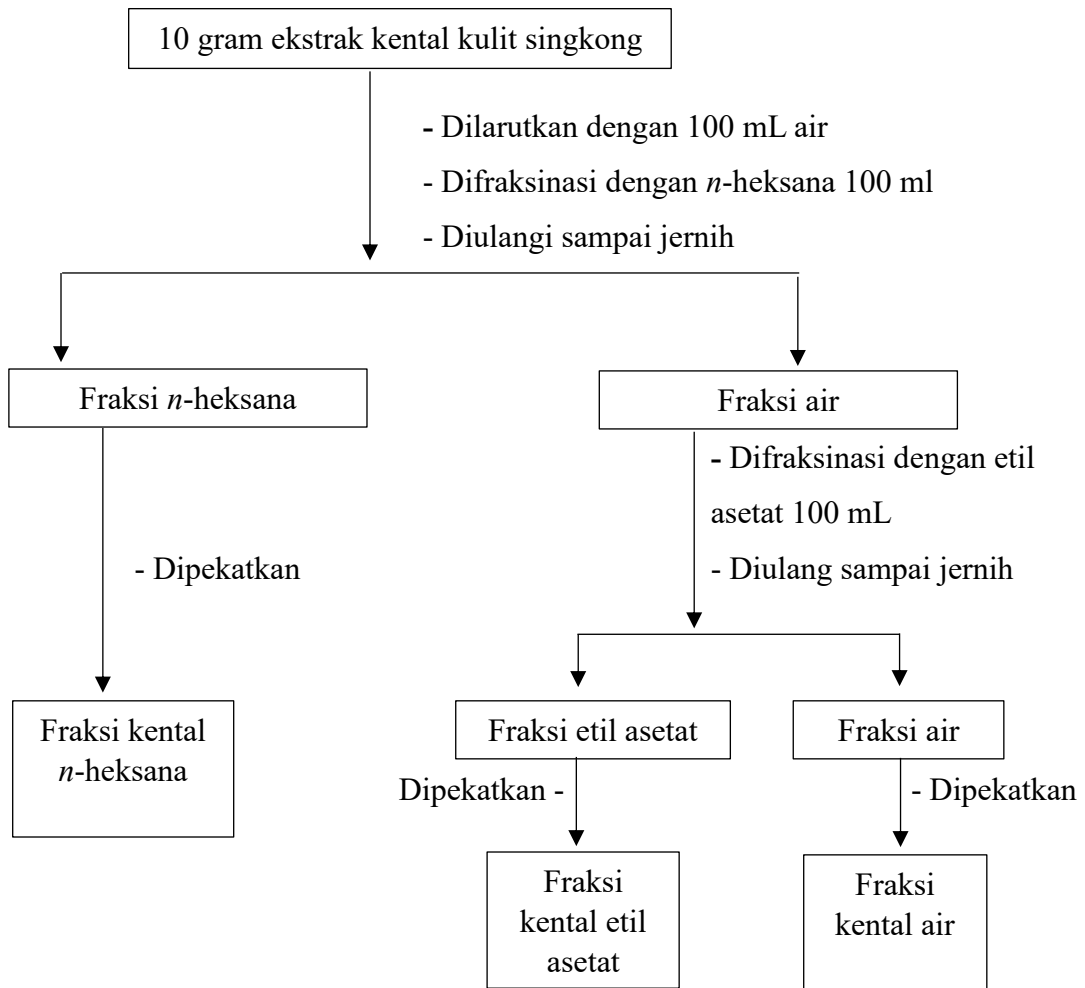
3.7 Skema Kerja



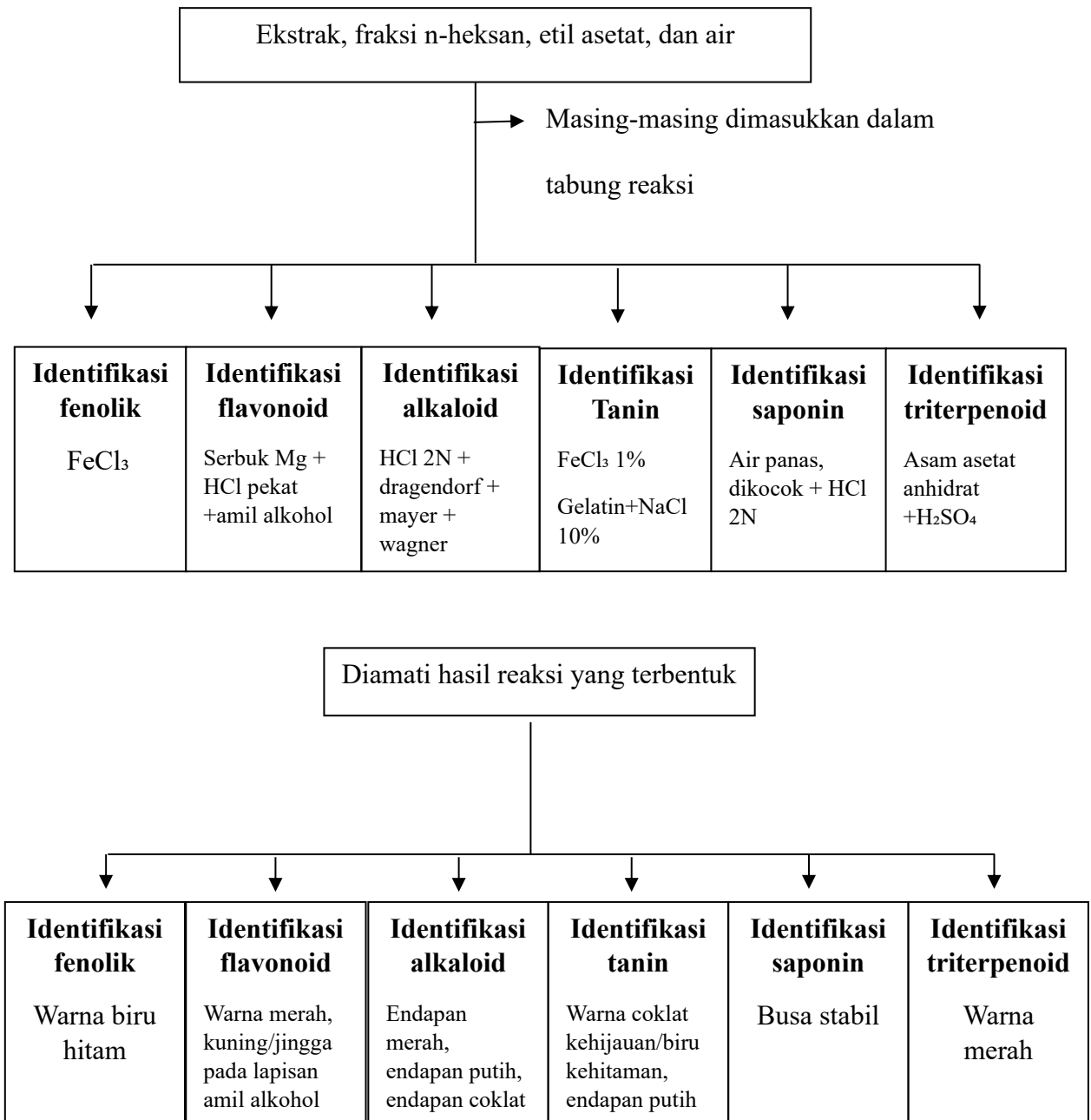
Gambar 3. Skema Kerja Secara umum



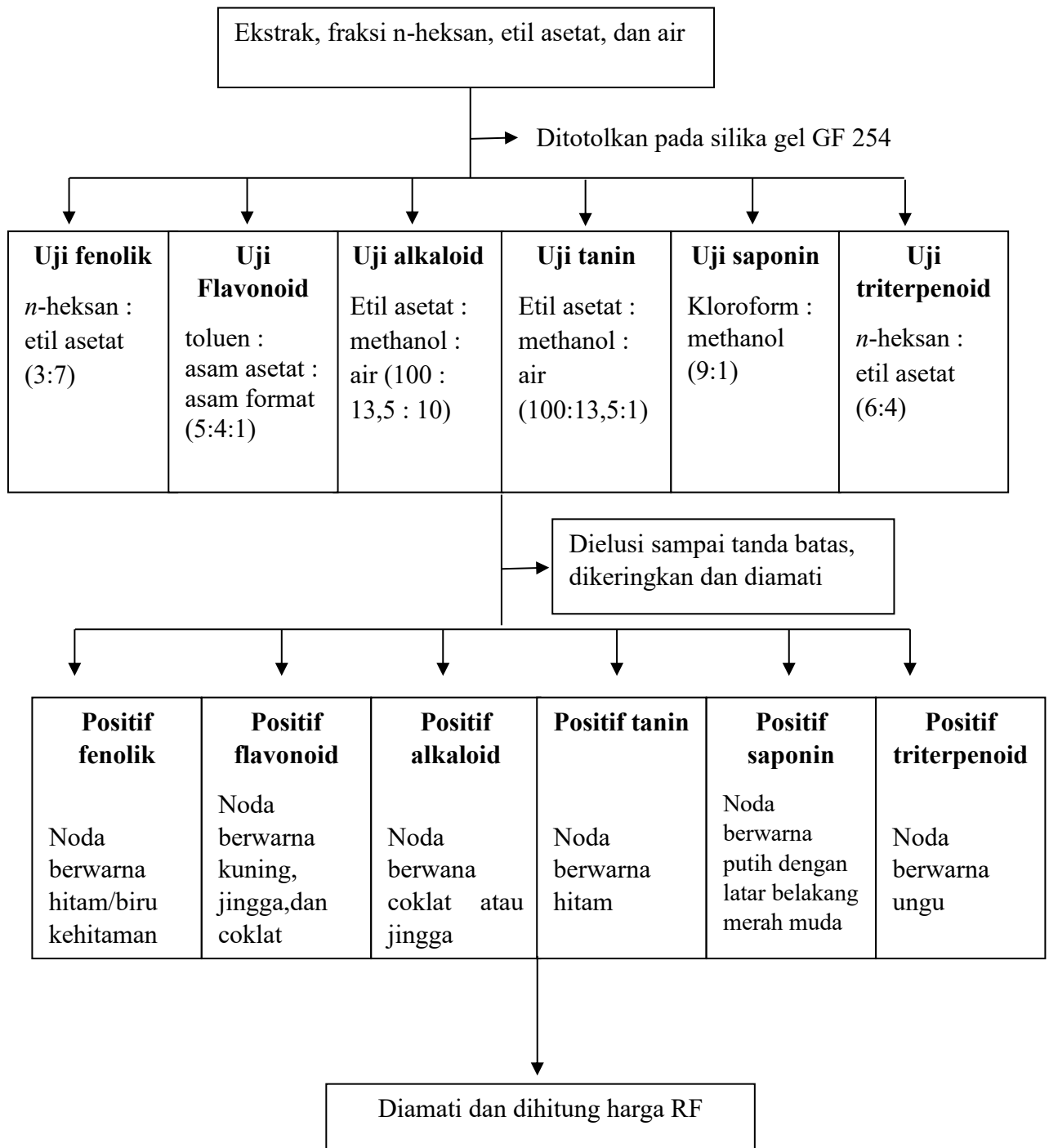
Gambar 4. Skema Kerja Ekstraksi Kulit Singkong



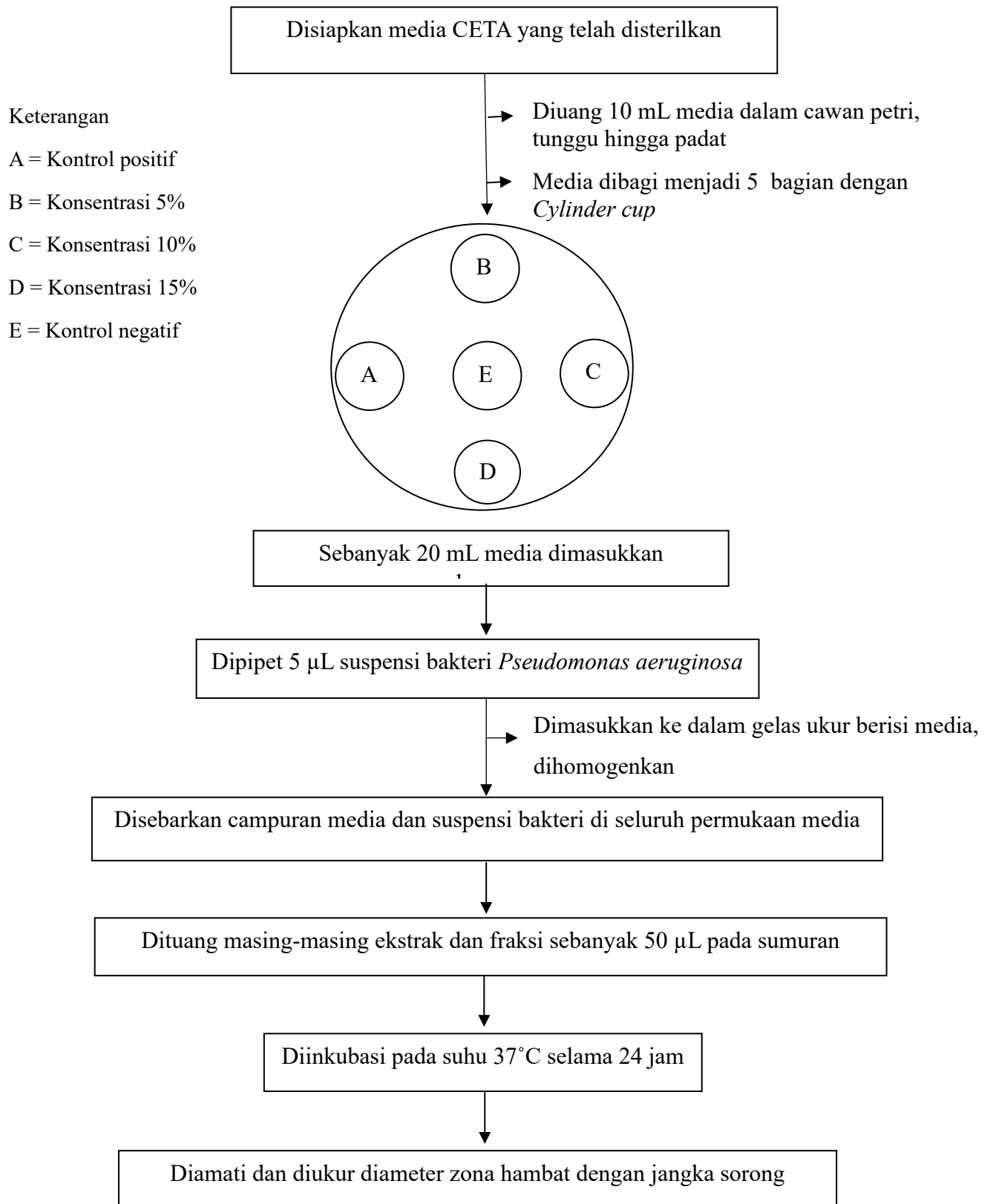
Gambar 5. Skema Kerja Fraksinasi Kulit Singkong



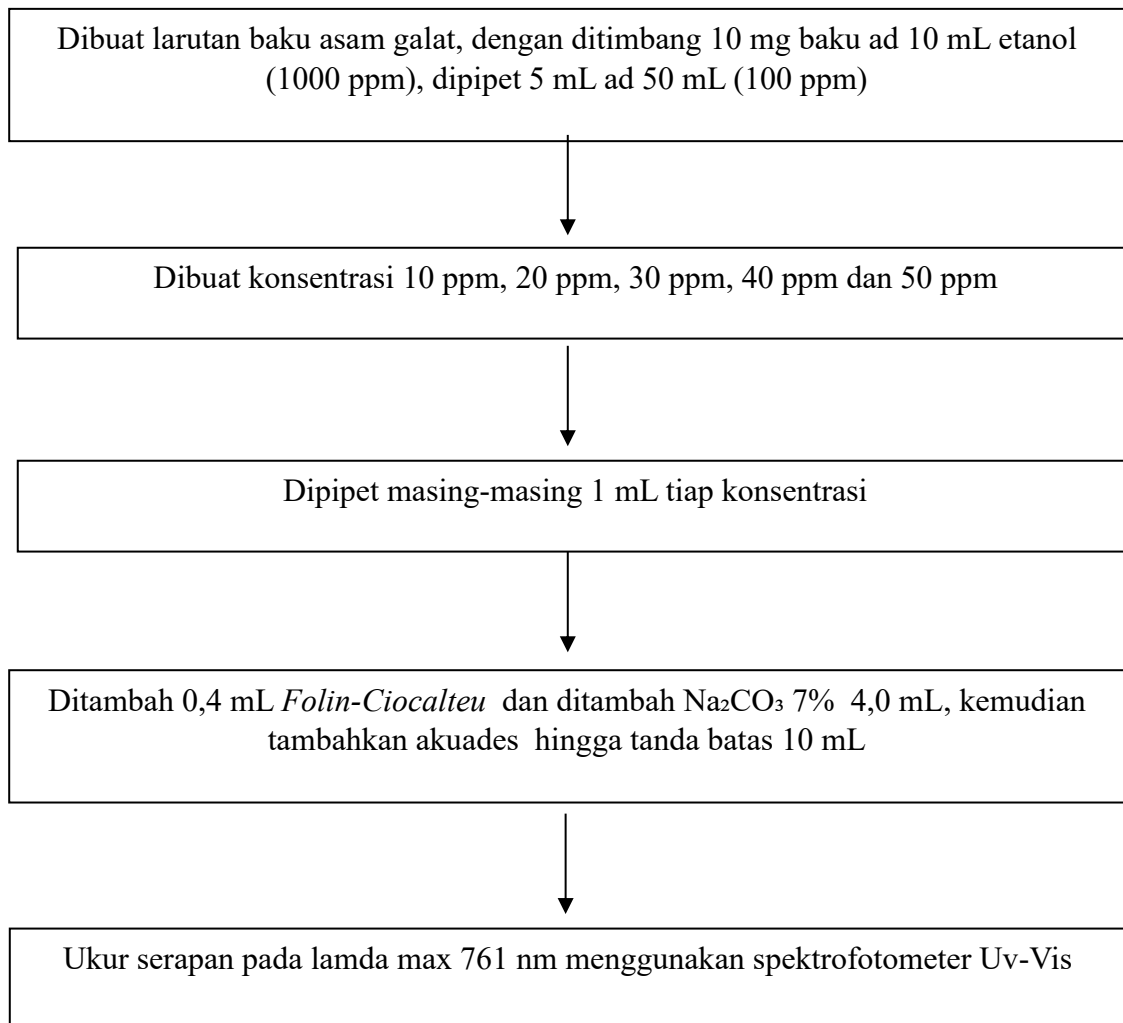
Gambar 6. Skema Kerja Uji Pendahuluan Kulit Singkong



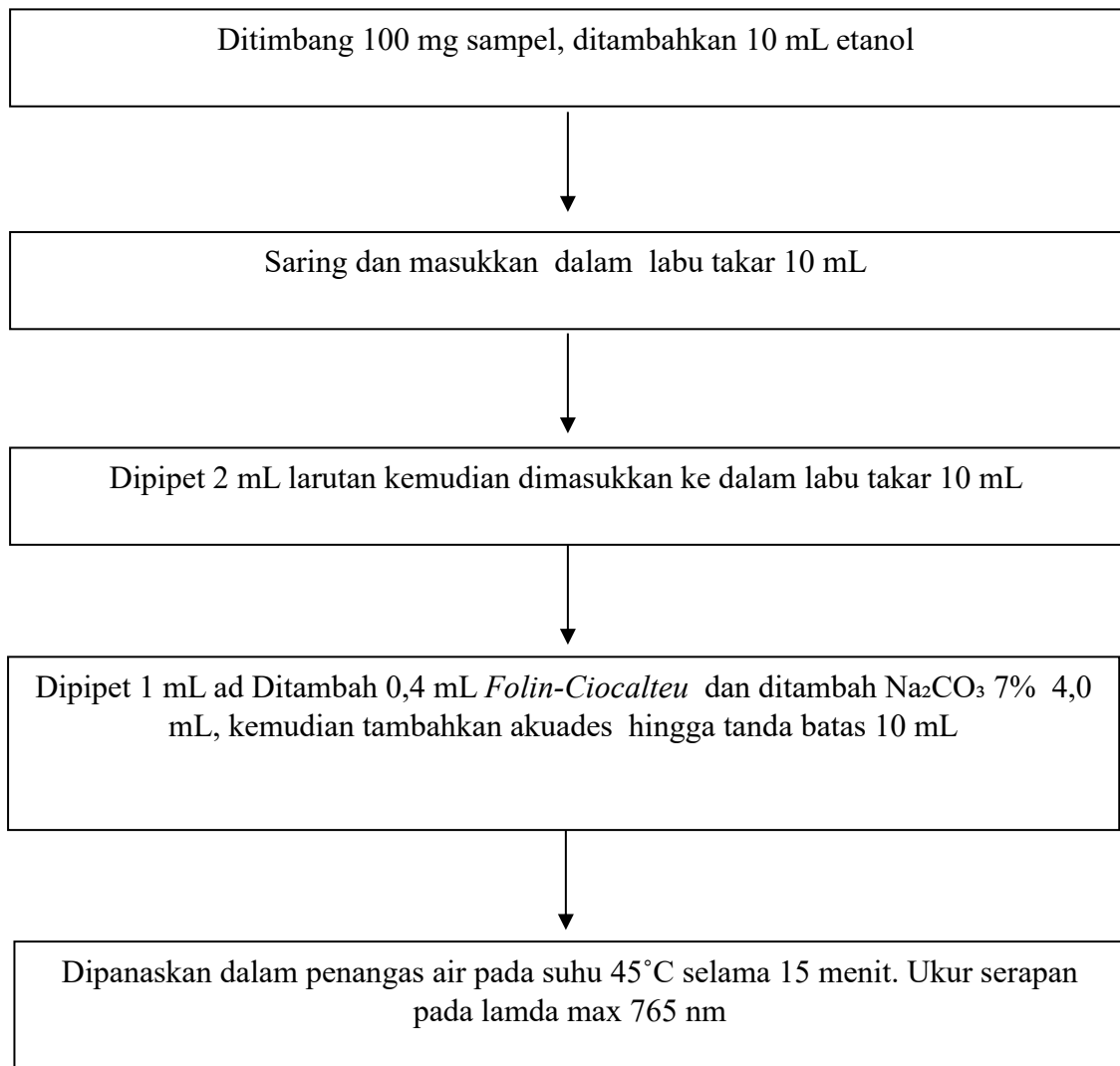
Gambar 7. Skema Kerja Uji KLT Kulit Singkong



Gambar 8. Skema Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Singkong



Gambar 9. Skema Kerja Pembuatan Larutan Baku Asam Galat



Gambar 10. Skema Kerja Penetapan Kadar Fenoliik

3.8 Cara Analisis

Data yang diperoleh dari hasil uji aktivitas antibakteri yang berupa zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari ekstrak dan fraksi kulit singkong yang diukur menggunakan jangka sorong dianalisis secara statistika dengan uji anava dua jalan, jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji pasca anava (*post hoc*). Apabila data tidak homogen, tidak terdistribusi normal atau tidak keduanya maka dilakukan analisis statistika non parametik uji *Kruskall Wallis*, jika terdapat perbedaan maka dilanjut uji 2 independen yaitu *mann-whitney* menggunakan SPSS 22.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air pada kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit singkong putih yang didapat dari daerah Mijen kabupaten Demak provinsi Jawa Tengah. Tanaman kulit singkong putih dideterminasi oleh bagian Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Semarang. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

Kulit singkong yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit singkong yang berwarna putih. Kulit singkong yang telah dipisahkan dengan umbinya kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan senyawa pengotor. Setelah itu kulit singkong dicuci bersih, dilakukan proses pengeringan secara alami yaitu dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Tujuan dilakukannya penutupan kain hitam yaitu untuk dapat menghindari kontak langsung dengan sinar ultraviolet yang dipancarkan sinar matahari yang dapat merusak senyawa aktif yang terkandung dalam kulit singkong (Mariah dkk., 2017). Pada proses pengeringan bertujuan untuk mencegah pertumbuhan mikroba, serta untuk menghindari terganggunya penetrasi dengan pelarut saat proses penyaringan.

Kulit singkong yang telah dikeringkan kemudian dilakukan pemisahan lagi yaitu dengan cara sortasi kering, pada sortasi kering bertujuan untuk memisahkan sampel dari bagian yang sudah kering dengan yang belum kering. Tahap akhir yaitu proses penyerbukan dan pengayakan simplisia, simplisia diserbukkan dan diayak dengan menggunakan ayakan 30 dan 40, yang bertujuan memperoleh serbuk dengan ukuran yang tidak terlalu besar ataupun tidak terlalu kecil sehingga dapat memaksimalkan proses penyarian, namun simplisia yang terlalu halus, dapat memberikan kesulitan pada proses penyarian. Hal ini terjadi karena pada serbuk

yang terlalu halus, ruang antar sel akan menjadi lebih sempit, sehingga mempersulit masuknya cairan penyari ke dalam serbuk (Dyah dkk., 2014).

Penelitian ini digunakan etanol 96% sebagai cairan penyari karena pelarut etanol 96% bersifat universal dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena selektif, tidak beracun, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga mampu menyari senyawa yang bersifat nonpolar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt dkk., 2021).

Serbuk kulit singkong diekstraksi menggunakan metode maserasi, yaitu direndam dengan menggunakan etanol 96% selama 3 hari dan dilakukan pengadukan secara kontinyu yang bertujuan agar pelarut dapat masuk kedalam sel serbuk kulit singkong sehingga dapat menyari secara maksimal zat-zat aktif yang terkandung dalam serbuk kulit singkong.

Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan dengan menggunakan *evaporator* dan *waterbath* pada suhu 50°C. Menurut Sa'adah dkk., (2017) suhu 50°C relatif aman serta mencegah terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder. Penguapan cairan penyari bertujuan untuk menghilangkan pelarut 96% sehingga akan didapatkan ekstrak kental yang murni tanpa sisa pelarut yang dapat mempengaruhi pengujian aktivitas antibakteri. Ekstrak kental kulit singkong yang didapatkan sebanyak 74,51 gram dengan rendemen 14,90%. Perhitungan rendemen dilakukan untuk menentukan perbandingan berat simplisia atau ekstrak yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Menurut Aji dkk (2018), syarat umum rendemen suatu bahan baku adalah lebih 10%, oleh karena itu ekstrak kulit singkong dinyatakan telah memenuhi syarat (Rizki, 2023).

Ekstrak kental yang telah didapatkan kemudian dilakukan uji bebas etanol. Uji bebas etanol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak kulit singkong tidak mengandung sisa pelarut yang dapat mempengaruhi pada pengujian aktivitas antibakteri sehingga hasil yang diperoleh dari uji antibakteri murni dari senyawa-

senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Hasil uji bebas etanol kulit singkong dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Bebas Etanol

Pereaksi	Hasil	Keterangan	Kesimpulan
Asam asetat + H ₂ SO ₄	Bau khas ekstrak kulit singkong	Positif (+) tidak terdapat bau ester dan etanol yang khas (Aquariushinta, 2015).	Bebas etanol

Ekstrak kental kulit singkong kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode partisi cair-cair. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Penelitian ini menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Pelarut *n*-heksan bersifat non polar sehingga akan menarik senyawa yang bersifat non polar, pelarut etil asetat bersifat semipolar sehingga mampu menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar sementara pelarut air yang bersifat polar digunakan untuk menarik senyawa bersifat polar yang terdapat pada ekstrak kulit singkong. Rendemen yang didapat pada masing-masing fraksi adalah *n*-heksan sebanyak 6,09%, rendemen fraksi etil asetat 2,91%, dan rendemen fraksi air 82,76%.

Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong selanjutnya dilakukan uji pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi kulit singkong. Data hasil uji pendahuluan ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Skrining Fitokimia

Senyawa	Reagen	Hasil Positif (Pustaka)	Sampel	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl + amil alkohol	warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Nasution, 2020)	Ekstrak	Lapisan amil alkohol berwarna jingga	Positif
			FNH	Lapisan amil alkohol berwarna jingga	Positif
			FEA	Lapisan amil alkohol berwarna jingga	Positif
			FA	Tidak terbentuk lapisan amil alkohol	Negatif
Fenolik	3 tetes FeCl ₃ 1%	Warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Harborne, 1987)	Ekstrak	Warna biru kehitaman	Positif
			FNH	Warna biru kehitaman	Positif
			FEA	Warna biru kehitaman	Positif
			FA	Warna hijau kehitaman	Positif
Tanin	3 tetes larutan gelatin+3 ml NaCl 10%	Terbentuk endapan putih (Ikalinus dkk., 2015).	Ekstrak	Terdapat endapan putih	Positif
			FNH	Tidak terdapat endapan putih	Negatif
			FEA	Terdapat endapan putih	Positif
			FA	Terdapat endapan putih	Positif
Saponin	Air + HCl	Busa Stabil (Wulandari dkk., 2020)	Ekstrak	Busa stabil	Positif
			FNH	Busa tidak stabil	Negatif
			FEA	Busa stabil	Positif
			FA	Busa stabil	Positif
Steroid/ Triterpenoid	Asam asetat+H ₂ SO ₄	Warna hijau menandakan Steroid, warna merah atau ungu menandakan triterpenoid (Ikalinus dkk., 2015)	Ekstrak	Warna merah	Positif
			FNH	Warna hijau	Positif
			FEA	Warna merah	Positif
			FA	Warna coklat muda	Negatif
Alkaloid	Wagner	Endapan coklat (Muthmainnah, 2017)	Ekstrak	Terbentuk endapan coklat	Positif
			FNH	Tidak terbentuk endapan coklat	Negatif
			FEA	Terbentuk endapan coklat	Positif
			FA	Terbentuk endapan coklat	Positif
Alkaloid	Mayer	Endapan putih (Muthmainnah, 2017)	Ekstrak	Terbentuk endapan putih	Positif
			FNH	Terbentuk endapan putih	Positif
			FEA	Terbentuk endapan putih	Positif
			FA	Terbentuk endapan putih	Positif
Alkaloid	Dragendorff	Terbentuknya endapan merah atau jingga (Muthmainnah, 2017)	Ekstrak	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FNH	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FEA	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FA	Tidak terbentuk endapan	Negatif
Alkaloid	Hager	Terbentuknya Endapan kuning (Depkes, 1995)	Ekstrak	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FNH	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FEA	Tidak terbentuk endapan	Negatif
			FA	Tidak terbentuk endapan	Negatif

Keterangan :

FNH = Fraksi *n*-heksan
 FEA = Fraksi Etil Asetat
 FA = Fraksi Air

Pengujian flavonoid menggunakan serbuk Mg dan HCl(p) dan amil alkohol. Tujuan penambahan logam Mg dan HCl(p) adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Reiza dkk., 2019).

Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat yaitu positif senyawa flavonoid, kecuali sampel fraksi air negatif senyawa flavonoid karena terbentuk warna kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Pengujian identifikasi senyawa fenolik pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan hasil positif fenolik dengan terbentuknya warna hijau hingga biru kehitaman. Sampel dilarutkan dalam air dan direaksikan dengan FeCl_3 1% menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi biru kehitaman dan pada fraksi *n*-heksan menunjukkan warna hijau kehitaman. Fenolik bereaksi dengan FeCl_3 1% membentuk warna merah, ungu, biru, atau hitam yang pekat karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus -OH aromatis (Habibi dkk., 2018).

Identifikasi senyawa tanin merupakan golongan fenolik, yang dapat ditandai dengan terbentuk larutan berwarna hijau kehitaman, dengan penambahan larutan FeCl_3 1%. Penambahan larutan NaCl 10% dan larutan gelatin 1% menunjukkan positif senyawa tanin apabila mempunyai kemampuan mengendapkan protein karena mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang kemudian dapat menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin (Sulistyarini dkk., 2020). Hasil dari identifikasi senyawa tanin pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong yaitu positif, karena adanya endapan berwarna putih.

Uji identifikasi senyawa saponin, sampel dinyatakan positif apabila terbentuk busa yang stabil (Sulistyarini dkk., 2020). Buih yang terdapat pada sampel dapat terbentuk pada penggojokan karena adanya gugus hidrofilik yang berikatan dengan air dan gugus hidrofobik yang berikatan dengan udara. Penambahan HCl bertujuan untuk mengetahui kestabilan busa yang terbentuk. Hasil dari identifikasi senyawa saponin pada ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong yaitu positif, karena terbentuk busa yang stabil.

Uji golongan terpenoid menunjukkan hasil positif triterpen jika terbentuk warna ungu atau merah dan jika terbentuk warna hijau berarti positif steroid

(Hanani, 2015). Ekstrak dan fraksi etil asetat menunjukkan hasil berwarna merah yang berarti positif mengandung senyawa triterpenoid, sedangkan pada fraksi *n*-heksan menunjukkan warna hijau yang berarti positif mengandung steroid. Perubahan warna dapat didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna dengan penambahan asam asetat dan penambahan H₂SO₄(P) (Romansyah dkk., 2019).

Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan 4 pereaksi yaitu pereaksi wagner, mayer, dragendrof, dan hager. Hasil positif alkaloid ditunjukkan oleh reaksi pembentukan pada dua golongan dari tiga atau empat golongan yang dipergunakan dalam pengujian alkaloid. Adapun pada golongan II yaitu Wagner, golongan III dragendroff dan mayer, dan golongan IV Hager (Prayoga dkk., 2019).

Identifikasi senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi wagner hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan coklat, pada pereaksi mayer hasil positif menunjukkan terbentuknya endapan putih, pada pereaksi dragendoff hasil positif alkaloid ditunjukkan endapan warna jingga atau merah bata, dan pada pereaksi hager hasil positif alkaloid adanya endapan berwarna kuning. Hasil dari identifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong yang menunjukkan positif alkaloid yaitu pada pereaksi wagner dan mayer.

Hasil uji pendahuluan atau skrining fitokimia pada ekstrak mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid. Fraksi *n*-heksan mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan steroid. Fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, saponin, triterpenoid, dan alkaloid. Pada fraksi air mengandung fenolik, tanin, saponin dan alkaloid. Adanya senyawa tersebut pada ekstrak dan fraksi kulit singkong ditegaskan dengan uji penegasan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil uji KLT dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji KLT

Senyawa	Sampel	Hasil RF			Warna noda	Puataka
		Visual	UV 254	Penampak bercak		
Flavonoid	Ekstrak	-	0,63	-	Kuning kecoklatan	(+)Noda berwarna kuning kecoklatan (Harborne, 1987)
	FNH	-	-	0,27		
	FEA	-	0,22	0,27		
	FA	-	0,60	-		
Fenolik	Ekstrak	-	0,73	-	Biru kehitaman	(+) Noda berwarna merah, hijau, biru atau hitam kuat (Harborne, 1996)
	FNH	-	0,73	-		
	FEA	0,15	0,06	0,11		
	FA	-	0,20	0,25		
Tanin	Ekstrak	0,31	0,12	0,31	Biru kehitaman	(+) Noda berwarna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Hanani, 2015)
	FNH	-	-	-		
	FEA	-	0,80	0,82		
	FA	0,30	0,13	0,31		
Saponin	Ekstrak	-	0,83	0,76	Biru	(+) Noda berwarna biru, ungu, hijau (Wagner, 1996)
	FNH	-	-	0,93		
	FEA	-	0,84	0,20		
	FA	-	0,98	0,93		
Steroid/Triterpenoid	Ekstrak	-	-	0,83	Ungu	(+) Steroid noda berwarna hijau atau biru (+) Triterpenoid noda berwarna merah atau ungu (Wagner, 1996)
	FNH	-	-	0,26		
	FEA	-	-	0,58		
	FA	-	-	0,92		
Alkaloid	Ekstrak	-	0,30	0,81	Jingga	(+) Noda berwarna jingga atau merah tua (Depkes RI, 1987)
	FNH	-	-	-		
	FEA	-	0,80	-		
	FA	-	0,87	-		

Keterangan :

FNH = Fraksi *n*-heksan

FEA = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk memastikan kandungan senyawa yang positif pada uji pendahuluan. Identifikasi senyawa pada metode KLT menggunakan fase diam silica GF254 dan dengan fase gerak yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Berdasarkan tabel 4, menunjukkan

bahwa ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan hasil positif yang sama dengan hasil uji pendahuluan.

Identifikasi senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak, fraksi n heksan, dan fraksi etil asetat. Uji senyawa flavonoid dengan metode KLT menggunakan uap ammonia sebagai penampak bercak, menghasilkan noda kuning kecoklatan yang berarti positif mengandung flavonoid. Dengan uap amonia, garam dan struktur flavonoid pada cincin B yang akan membuat ikatan rangkap terkonjugasi menjadi lebih panjang sehingga meningkatkan intensitas warna (Hanani, 2015).

Identifikasi uji senyawa fenolik menunjukkan hasil positif pada ekstrak, fraksi n heksan, dan fraksi etil asetat, namun memiliki ketebalan warna yang berbeda. Pada fraksi air tidak terdapat noda kemungkinan karena fraksi air pada hasil uji skirining fitokimia menunjukkan warna yang berbeda dari ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat.

Identifikasi uji senyawa tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Uji tanin pada KLT, hasil positif tanin terbentuk noda berwarna biru kehitaman, hijau atau hijau kehitaman (Hanani,2015). Senyawa tanin akan bereaksi dengan ion $FeCl_3$ membentuk senyawa kompleks menghasilkan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman.

Identifikasi uji senyawa saponin menunjukkan hasil positif pada ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Uji senyawa saponin dengan KLT, hasil positif saponin apabila terbentuk noda berwarna biru, ungu, hijau (Wagner, 1996).

Identifikasi senyawa steroid/triterpenoid secara KLT menunjukkan hasil positif senyawa triterpenoid pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya noda yang berwarna ungu. Menurut Wagner (1996), positif senyawa Steroid apabila noda berwarna hijau atau biru dan positif senyawa triterpenoid apabila noda berwarna merah atau ungu.

Identifikasi senyawa alkaloid secara KLT menunjukkan hasil positif senyawa alkaloid pada ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air. . Hal ini ditunjukkan

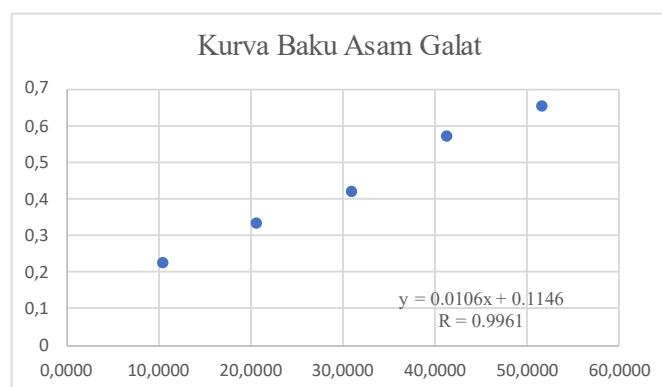
dengan terbentuknya noda yang berwarna jingga (Depkes RI, 1987). Positif senyawa alkaloid apabila noda berwarna jingga atau merah.

Setelah dilakukan uji pendahuluan dan uji KLT dilanjutkan dengan pengujian penetapan kadar fenolik total. Pada proses penetapan kadar fenolik total, diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum ditetapkan untuk mengetahui daerah panjang gelombang dengan serapan yang optimum. Pada panjang gelombang maksimum dihasilkan data yang akurat dan dapat mengurangi terjadinya kesalahan. Panjang gelombang maksimum yang didapat pada penelitian ini yaitu 761 nm dengan nilai absorbansi senyawa asam galat 0,453. Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa yang lain hingga membentuk senyawa yang stabil. *Operating time* asam galat ditetapkan berdasarkan optimasi pada 0-25 menit. Hasil pengamatan menunjukkan nilai stabil pada menit ke-25 dengan nilai absorbansi 0,427.

Tabel 5. Absorbansi Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10,3000	0,229
10,6000	0,335
30,9000	0,423
41,2000	0,575
51,5000	0,658

Gambar 11. Kurva Baku Asam Galat



Hasil pengukuran pada tabel dan gambar dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka absorbansi yang diperoleh akan semakin tinggi juga. Persamaan regresi linear kurva baku asam galat didapatkan $y = 0,0106x + 0,1146$. Nilai koefisien korelasi yaitu (r) 0,9961. Menurut Azizah dkk (2017) syarat linearitas yaitu memiliki nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1 atau sama dengan 1. Kadar fenolik total yang diperoleh pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 6.

Pengukuran kadar fenolik, larutan sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa sampel mengandung fenol, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 menghasilkan warna biru. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat, sehingga ditambahkan larutan Na_2CO_3 untuk memaksimalkan pengukuran intensitas warna yang dihasilkan pada tabel 6 (Apsari & Susanti, 2011).

Tabel 6. Hasil Kadar Fenolik Total Sampel Ekstrak dan fraksi Kulit Singkong

Replikasi	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g)			
	Ekstrak	Frasi <i>n</i> -heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
1	24,9938	19,2984	21,8218	15,7420
2	24,2627	20,3142	22,5294	16,9961
3	25,3455	20,0740	21,4211	16,2890
4	24,0264	21,1912	20,8840	15,3055
5	25,8845	18,8210	20,8317	14,5831
Rata-rata	24,9025	19,8210	20,8317	14,5831
SD	±0,7658	±0,9202	±0,7063	±0,9215

Hasil penetapan kadar fenolik total menunjukkan kadar fenolik dalam sampel ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada kulit singkong. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fenolik pada sampel ekstrak lebih tinggi dibandingkan sampel fraksi. Hal tersebut disebabkan fenolik yang terdapat pada ekstrak terpisah pada ketiga fraksi tersebut. Kadar fenolik pada fraksi etil asetat lebih tinggi daripada fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Hal ini dikarenakan

kemampuan sampel ekstrak dan fraksi etil asetat untuk menarik senyawa golongan fenolik yang didominasi oleh senyawa golongan semipolar (Rizki dkk., 2022).

Setelah dilakukan uji penetapan kadar fenolik total dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri masing-masing adalah 5%, 10% dan 15%. Konsentrasi diperoleh dari orientasi konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong dilarutkan dengan *Dimethyl sulphoxide* (DMSO), karena DMSO mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar yang terkandung dalam kulit singkong. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air yang telah dilarutkan dengan DMSO diharapkan dapat berdifusi dengan baik ke dalam media yang ditumbuhi oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sehingga senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. DMSO yang digunakan sebagai pelarut tidak memiliki sifat antimikroba sehingga aktivitas antibakteri yang muncul berasal dari senyawa yang terkandung dalam kulit singkong. DMSO juga digunakan sebagai kontrol negatif yang berfungsi sebagai pembanding dan membuktikan bahwa DMSO benar-benar tidak memiliki aktivitas antimikroba yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat disekitar lubang sumuran.

Kontrol positif yang digunakan adalah Siprofloksacin karena merupakan antibiotik yang umum digunakan pada infeksi oral. Siprofloksacin digunakan sebagai kontrol positif karena siprofloksacin merupakan antibakteri spektrum luas yang sudah teruji klinis maupun nonklinis, dan juga mudah didapat di lingkungan masyarakat. Fungsi kontrol positif adalah sebagai pembanding untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada sampel.

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah difusi sumuran. Metode difusi sumuran dipilih karena volume sampel yang digunakan

lebih banyak daripada metode yang lainnya, sehingga senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang berdifusi ke dalam media juga lebih banyak, sehingga diharapkan dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara optimal, Media yang digunakan adalah media CETA karena media ini dirancang khusus untuk isolasi *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga efektif untuk membedakannya dari mikroorganisme lain. Volume media yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri tiap replikasi sama yaitu 25 mL.

Kultur murni *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari Laboratorium medis sarana medika Semarang. Peremajaan bakteri dilakukan sebelum bakteri ditambahkan pada media dengan cara menginokulasikan bakteri dari biakan murni ke dalam media CETA padat lalu diinkubasi 24 jam. Peremajaan bakteri bertujuan agar pada saat ditambahkan pada media uji, pertumbuhan bakteri berada pada fase logaritmik. Fase logaritmik adalah fase bakteri berkembang sangat cepat sehingga menjadi sangat peka terhadap bakteri.

Bakteri hasil peremajaan dibuat suspensi bakteri dalam media Nutrient Broth (NB) untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 625 nm. Absorbansi suspensi bakteri disesuaikan dengan absorbansi 1×10^8 CFU/mL hasil pengukuran absorbansi suspensi bakteri sebesar 0,095. Hasil kekeruhan tersebut masuk rentang absorbansi larutan $\frac{1}{2}$ MC Farland yang berkisar antara 0,08-0,1. Standar kekeruhan $\frac{1}{2}$ MC Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong direplikasikan 5 kali, kemudian hasil inokulasi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Hasil yang diperoleh berupa zona bening yang dihitung dengan menggunakan jangka sorong. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 7. Hasil Uji Antibakteri

Sampel	Rerata diameter zona hambat(cm)				
	Konsentrasi			Kontrol	
	5%	10%	15%	+	-
Ekstrak	1,221	1,325	1,423	1,722	0,000
	±0,002	±0,013	±0,014	±0,005	±0,000
Fraksi <i>n</i> -heksan	0,929	1,046	1,133	1,716	0,000
	±0,013	±0,017	±0,022	±0,007	±0,000
Fraksi Etil Asetat	1,114	1,214	1,304	1,719	0,000
	±0,003	±0,003	±0,001	±0,007	±0,000
Fraksi Air	1,114	1,214	1,304	1,719	0,000
	±0,005	±0,006	±0,004	±0,002	±0,000

Berdasarkan hasil pengujian antibakteri, ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong konsentrasi 5%, 10% dan 15% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dari hasil rata rata diameter zona hambat dapat disimpulkan bahwa ekstrak memiliki diameter zona hambat tertinggi. Perbedaan besarnya diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air salah satunya disebabkan oleh besar kecilnya konsentrasi senyawa atau zat aktif yang terkandung dalam sampel. Pada fraksi air memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil karena kemungkinan fraksi air memiliki senyawa yang sedikit sehingga menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* lebih rendah.

Besarnya hasil diameter zona hambat ekstrak dan fraksi dipengaruhi oleh konsentrasi uji yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi uji yang digunakan maka semakin besar hasil diameter zona hambat. Ekstrak kulit singkong memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Masing-masing sampel memiliki aktivitas yang berbeda dalam menghambat bakteri ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk.

Langkah selanjutnya dilakukan pengujian statistika menggunakan aplikasi SPSS, pengujian ini bertujuan untuk menyimpulkan hasil penelitian yang telah dilakukan. Pengujian statistika terdiri dari uji normalitas, homogenitas dan

dilanjutkan dengan uji parameter. Pengujian normalitas bertujuan untuk mengetahui sifat distribusi dari hasil data yang telah didapatkan selama penelitian, berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa data yang didapatkan berdistribusi secara normal yang ditunjukkan oleh nilai signifikansi ($P>0,05$).

Pengujian selanjutnya adalah uji homogenitas yang bertujuan untuk mengetahui data yang didapatkan bersifat homogen, berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa data yang didapatkan bersifat homogen yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($P>0,05$). Berdasarkan kedua uji yang dilakukan data dapat diuji menggunakan pengujian parametrik yaitu uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* atau uji pasca ANOVA. Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diantara kelompok data yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($P<0,05$). Hasil pengujian pasca ANOVA dapat dilihat pada table 8.

Tabel 8. Hasil uji anova

Kelompok	Ket	Ekstrak			n-Heksan			Air			Etil Asetat			Kontrol Positif
		5%	10%	15%	5%	10%	15%	5%	10%	15%	5%	10%	15%	
Ekstrak	5%	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	TBS	BS	BS
	10%	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS
	15%	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS
n-Heksan	5%	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS
	10%	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS
	15%	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS
Air	5%	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS	BS
	10%	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS	BS
	15%	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS	BS
Etil Asetat	5%	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS	BS
	10%	TBS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS	BS
	15%	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■	BS
Kontrol Positif		BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	BS	■

Hasil pengujian pasca ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan di semua kelompok data kecuali pada kelompok Etil Asetat 10% dengan kelompok Ekstrak 5%. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa perubahan konsentrasi mempengaruhi secara signifikan terhadap hasil antibakteri dari masing-masing sampel. Selain itu, berdasarkan hasil pengujian statistika dapat disimpulkan bahwa seluruh data memiliki fungsi sebagai antibakteri tetapi belum ada yang sebanding dengan kontrol positif yang digunakan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Ada perbedaan aktivitas antibakteri pada ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air kulit singkong berdasarkan uji statistika, namun ada juga yang tidak berbeda signifikan.
3. Sampel ekstrak kulit singkong memiliki kadar fenolik total 24,9025 mgGAE/g, Fraksi *n*-heksan memiliki kadar fenolik total 19,8210 mgGAE/g, fraksi etil asetat memiliki kadar fenolik total 20,8317 mgGAE/g, dan fraksi air memiliki kadar fenolik total 14,5831 mgGAE/g.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai bahan antibakteri dengan metode yang digunakan berbeda untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Perlu dilakukan pengembangan dalam bentuk sediaan farmasi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita., Ratulangi, S. A. D., Malik, A. 2015. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala. *Jurnal Ilmu dan Penelitian Farmasi*. **2**(1): 1-10.
- Aji, A., Bahri, S., dan Tantalia, T. 2018. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Hcl Untuk Pembuatan Pektin dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, **6**: 33.
- Akinpelu, B. A. et al. (2014) 'Antioxidant and Antibacterial Activities of Saponin Fractions of *Erythropheleum suaveolens* (Guill and Perri.) Stem Bark Extract', *Scientific Research and Essays*, pp. 826–833.
- Akmalia, H. Zulfitri dan Ridwan, 2020. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Craniz) Varietas Mentega Terhadap Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara in Vitro. **3**: 11-22.
- Alibi, S., Crespo, D. and Navas, J. (2021) 'Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity', *Antibiotics*. **10**(231), pp. 1–19.
- Anggita A., Fakhurrizi, dan Harris A., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Putri Malu (*Minosa pudica*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Jimvet*. **2** (3), 411-418.
- Apsari, Pramudita Dwi., & Susanti, H. (2011). Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Kefarmasian*, **2**:73-80
- Aquariushinta SN. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)
- Arancibia F, Bauer TT, Ewig S, Mensa J, Gonzalez J, Niederman MS & Torres A (2002) Community-acquired pneumonia due to gram-negative bacteria and *Pseudomonas aeruginosa* : incidence, risk, and prognosis. *Arch Intern Med* **162**: 1849–1858.
- Aria Saputri, R., & Susilo, J. (2021). Kajian Flavonoid Total dan Aktivitas

- Antioksidan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
Doctoral dissertation, Universitas Ngudi Waluyo.
- Asiah, N., Mulkiya, K. Y., & Syafnir, L. (2019). Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Prosiding Farmasi*. **5**(2), 645–652.
- Assidqi K., Tjahjaningsih W., Sigit S., 2012, Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro, *Journal of Marine and Coastal Science*. **1**(2), 113 – 124.
- Banerjee M, Moulick S, Bhattacharya KK, Parai D, Chattopadhyay S, Mukherjee SK. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing, virulence and biofilm formation by extracts of *Andrographis paniculata*. *Microb Pathog*. 2017 Dec;113:85-93. doi: 10.1016/j.micpath.2017.10.023. Epub 2017 Oct 14. PMID: 29042302.
- Br.Naibaho T.H., Antara N.S. dan Arnata LW, 2023, Pengaruh Konsentrasi Minyak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Jamur, *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*.**11** (2), 283-292.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2004. Jawetz, Melnick & Adelberg's. *Medical Microbiology twenty second edition Lange Medical Books/McGraw-hill*. Medical publishing division.
- Buldani A., Yulianti R. dan Soedomo P., 2017, Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*), 2nd Seminar Nasional Iptek Terapan (Senit), 15-17.
- Cahyani, I.M. dan Artiyani, R. 2017. Efektifitas Minyak Atsiri Kulit Jeruk Bergamot (*Citrus bergamia*) Dalam Masker Gel Peel-Off Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **3**: 192-196.
- Chapagain, B.P, and Wiesman, Z. 2005. Larvicidal Activity Of The Fruit Mesocarp Extract Of *Balanites Aegyptiaca* And Its Saponin Fractions .Against *Aedes Aegypti*. *Dengue Bulletin* No.29.
- Corey, Gerald. 2005. Teori dan Praktek Konseling & Psikoterapi. Bandung: Refika

Aditama.

Davis W.W. dan Stout TR., 1971, Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay, *Applied Microbiology*. **22** (4), 659-665.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Dewi F. K., 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, *Linnaeus*) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Universitas Sebelas Maret. *Skripsi*. Surakarta.

Dyah, A.P., Balai, S., Litbang, B., Obat, T., Obat, D., Badan, T., dkk. 2014. Analisis Ukuran Partikel Bahan Penyusun Ramuan Jamu Dan Volume Air Penyari Terhadap Mutu Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, **0**: 111–115.

Fadillah, EA. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Sumuran. *Skripsi*. Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda.

Fitriani, H., & Ciptandi, F. (2017). Pengolahan Kulit Umbi Singkong (*Manihot utilissima*) Di Kawasan Kampung Adat Cireundeu Sebagai Bahan Baku Alternatif Perintang Warna Pada Kain. *eProceedings of Art & Design*, 4(3).

Fitri, D. R., & Mustikawati, H. 2020. Formulasi Sediaan Sabun Mandi Cair Ekstrak Etanol Buah Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *ISTA Online Technologi Journal*. **1** (1), 26-32.

Gardjito, Murdijati, dkk. 2013. Pangan Nusantara Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan. Jakarta: Kencana Prenada Media Group.

Gilman AG. 2008. Goodman & Gilman *Dasar Farmako Terapi Volume 2*. Jakarta: ECG medica l Publisher.

Habibi, A.I., Firmansyah, R.A., dan Setyawati, S.M. 2018. Skrining fitokimia ekstrak n-Heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, **7**: 1–4.

- Hanani E., 2014, *Analisis Fitokimia*, Penerbit Buku Egc, Jakarta.
- Henaulu A.H. dan Kaihena M., 2020, Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* in vitro', *Biofaal Journal*. **1** (1), pp. 44–54.
- Herbarium Medanense. 2016. Hasil Identifikasi Herbarium Medanense (MEDA). Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Edisi ke Dua*. Yogyakarta: ITB.
- Hidayah, N. 2016. Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. **11**(2): 89-98.
- Ikalinus, R., Wisyaatuti K. Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. **4**(1): 71-79.
- Imansyah M. dan Hamdayani S., 2022, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Cima (*Peperomia pellucida* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Jurnal Kesehatan Yamsi Makassar*. **6** (1), 40-47.
- Isabelita, T. 2018. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* L.) Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah malang : Malang.
- Kherid, M. T., Sari, D. diana, & Nuri, N. (2020). m Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta* Merr.) dan Fraksinya Terhadap *Salmonella typhi*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 005(02), 97102.
- Kusumaningtyas, E., Astuti, E., & Darmono, 2008, Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **6** (2), 75-79.
- Lisa, N. 2008. Uji Aktivitas In Vitro Levofloksasin Terhadap Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Resisten Multiobat Di RSUD Soetomo Surabaya: Isolat Dari Pasien Infeksi Kulit Dan Infeksi Saluran Kemih. *Skripsi Tidak Diterbitkan* Surabaya: Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya.

- Mahmudah, F.L. dan Atun, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Temukunci (*Boesenbergia pandurata*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*. **22**: 59-66
- Mariah Ulfa, Pratiwi Apridamayanti, R.S. 2017. Penentuan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bambu (*Bambusa vulgaris*) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. Universitas Tanjungpura.
- Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. 2013. *Clinical Veterinary Microbiology*. 2nd ed. Amsterdam.Elsevier. Hlm. 241, 254.
- Mayasari, E. 2006. *Pseudomonas aeruginosa*, Karakteristik, Infeksi dan penanganan. *Tesis*. (universitas Sumatera Utara Medan). pp. 1–16.
- Mayosi Dwi., 2019 Pengaruh Penambahan Daun Singkong (*Manihot utilissima*) Terhadap Kadar Protein Dari Tempe. *Tesis*. UIN Raden Intan Lampung.
- Mpila, D.A., Fatimawali, dan Wiyono, W.I., 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus (L) Benth.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In - Vitro. *Skripsi*. Manado: Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi.
- Muthmainnah, B. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*. XIII (2).
- Nasution, M. R., Permata Sari, A. R., Utami, I. P., & Halianti, T. (2020). Penentuan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Marpuyan (*Rhodamnia cinerea* Jack.) secara In Vitro. *Jurnal Dunia Farmasi*, **4**(2), 59-67.
- Nugroho A., 2017, *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*, Lambung Mangkurat, University Press, Banjarmasin.
- Nurhayati S. L., Yahdyani N. dan Hakim A., 2020, Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Difusi Cakram, *Teknologi Hasil Peternakan*, **1** (2), 41-46.
- Nuria MC, Astuti EP, S. (2010). Antibacterial Activities Of Ethyl Acetate Fraction Of Methanol Extract From Sosor Bebek Leaves (*Kalanchoe pinnata Pers.*). *Jurnal Mediagro*, **6**(2), 51–61.

- Odugbemi, 2008, Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Syzygium aromaticum* (Clove), *African Journal of Microbiology Research*, 2, pp. 162-166.
- Othman, L., Sleiman, A. and Abdel-Massih, R. M. (2019) 'Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants', *Front Microbiol*, 10(911), pp. 1–28.
- Prayoga, D.G.E., Nocianitri, K.A., dan Puspawati, N.N. 2019. Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8: 111.
- Prayoga E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. *Skripsi*. Jakarta.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 27-28, 158-159, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Prihatman, K. 2017. Ketela pohon singkong (*Manihot utilissima pohl*). Teknologi tepat guna budidaya pertanian. Sistem informasi manajemen pembangunan di Pedesaan, proyek PEMD,BAPPENAS. Jakarta. Hlm:/1/14.
- Purwono. 2009. Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rahmawati I, Samsumaharto RA, W Iryanto EZ. 2015. Uji aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Kloroform dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Zodia(*Evodia sauveolens*, Scheff.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi. Surakarta.
- Reiza, I.A., Rijai, L., dan Mahmudah, F. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10: 104–108.
- Ristyana Putranti. 2013. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum Duplicatum* Dan *Turbinaria Ornata* Dari Jepara. *Tesis*. Universitas Diponegoro.
- Rizki Nisfi Ramdhini, 2023. Standarisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Etanol

- Bungan Telang (*Clitoria ternatea L.*). *Jurnal Kesehatan : Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, **13**: 32–38.
- Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi*, Diterjemahkan Oleh Kokasih Padmawinata, 191-193, ITB, Bandung.
- Salem, M., Nazir, M., Ali, M.S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaz, N., et al. (2010). Antimicrobial natural products: An update on future antibiotic drug candidates. *Natural Products Report*, **27**, 238-254.
- Rostinawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Padjadjaran Fakultas Farmasi, Jatinangor.
- Safitri, E. R., Rohama, & Vidiyari, P. (2020). Skrining Lisi, A., Runtuwene, M., & Wewengkang, D. (2017). Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga soyogik (*Saurauia bracteosa DC.*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, **10**(1), 53-61.
- Saifuddin A, Rahayu V, Teruna HY. (2011). *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sartika, D., Astuti, S. and Iswandari., R. (2021) ‘Inhibitory Study of Cassava Leather Ethanol Extract as Natural Antimicrobial in Reducing *Salmonella sp.* and *Escherichia coli* on Contamination Chicken Meat (*Gallus domesticus*)’, *Journal of Physics: Conference Series*, pp. 1–11.
- Saxena, M., Saxena, J., & Pradhan, A. (2012). Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **16**(2), 130-134.
- Singh, I.P.bharate.2005.Anti HIV Natural Product. *Journal Current Science*
- Stahl, 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Bandung: Penerbit ITB, Hlm. 7-9.
- Susanti. 2008. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Universitas Airlangga*.
- Taufiqurrahman M. dan Pijaryani 1., 2023, Uji Mutu Fisik Formula Sampo Ekstrak Kulit Markisa (*Passiflora edulis*) sebagai Antiketombe, *Jurnal Ilmu*

- Kefarmasian*, **4** (1), 224-228.
- Uzma, S. F., Anam, K., & Utami, W. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Research in Pharmacy*, **3**(2), 100–111.
- Vermerris W, Nicholson R. Phenolic Compound. Netherlands: Springer, 2006.
- Wagner, H., and Bladt, S., 1996, Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas, 6, 151-152, 196-197, 306, Springer Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Wangkanusa D., Lolo WA dan Wewengkang D S., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve Vahl.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **5** (4), 203-210.
- Wendersteyt, N.V., Wewengkang, D.S., dan Abdullah, S.S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian (*Herdmania momus*) Dari Perairan Pulau Bangka Lingkupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, **10**: 706.
- Wulandari, L., Nugraha, A. S., Azhari, N. P. 2020. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa Muell. Arg*) Secara In Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. **&(1)**: 60-66.
- Yanty, Y.N, Densi S, Sopianti, Cindy V. 2017. Fraksinasi Dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc (L) Roxb*) Dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). *Borneo journal Pharmascientech*. **03**(01) : 56-58.
- Yuda PESK, Cahyaningsih E, Winariyanthi NLPY. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta L.*). *Medicamento*. 2017;**3**(2): 61-70.
- Yuniarti, R., Syahputra, R.A. (2016). Studi Pendahuluan Limbah Kulit Singkong Sebagai Eksipien Sediaan Farmasi. Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan.
- Zablotowicz, R.M., Hoagland, R.E., Wagner, S.C. 1996. Effect of Saponin on The Growth and activity of Rizosphere Bacteria. CRC Press. USA. Pp 83-95.

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Singkong



SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI YAYASAN PHARMASI PUSAT LABORATORIUM

Jalan Letnan Jendral Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Plamongansari – Pucanggading – Semarang – 50193
Telepon : 024 – 6706147 ; 6725272 ; Faksimile : 024 – 6706148
Email : stifar_yaphar@yahoo.com
stifar_yaphar@hotmail.com

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No: 020/ EL- AFM/ V/ 2024

Bersama surat ini kami sampaikan hasil identifikasi dan determinasi tanaman yang digunakan untuk penelitian Sdr/ Sdri:

Nama : Ulfi Amalia
NIM : 1042011145
Prodi : S1 Farmasi

Identifikasi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Divisio : Magnoliophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Euphorbiales
Familia : Euphorbiaceae
Genus : Manihot
Spesies : *Manihot esculenta* Crantz;

Syn *Manihot utilissima* Pohl.
Nama Indonesia : Singkong, ketela pohon, ubi kayu
Acuan : 1. PlanNet Plant Identification (Diakses pada tanggal
18 Mei 2024 pukul 07.35 WIB)
2. Backer, C. A., Van Den Brink Jr, R. C. 1965. *Flora of Java*
(Spermatophytes only). Vol 1. N. P. Noordhoff.
Groningen- Netherlands

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Kepala Pusat Laboratorium




Yuliana Purwaningsih, S. Si., M. Si

Semarang, 21 Mei 2024

Ketua Tim Determinasi

Ahmad Fuad Masduqi, M. Si

Lampiran 2. Sertifikat *Ethical Approval*



SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI YAYASAN PHARMASI SEMARANG
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
Jalan Letnan Jendral Sarwo Edie Wibowo Km. 1 Plamongansari - Pucanggading - Semarang - 50193
 Telepon : 024 - 6706147 ; 6725272 ; Faksimile : 024 - 6706148
 Email : kepkestifaryaphar@gmail.com
 Website : www.stifar.ac.id

PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL

NOMOR : 695/EVM-NA/KEPK/STIFAR/EC/IX/2024

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komite Etik Penelitian Kesehatan Stifar Yayasan Pharmasi Semarang, setelah dilaksanakan telaah, pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

The undersigned, Chairperson of the Stifar Yayasan Pharmasi Semarang Health Research Ethics Committee, after a thorough review, discussion, and assessment, hereby decides on a research protocol entitled :

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR PADA KULLIT SINGKONG (*Manihot esculenta Crantz*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SERTA PENETAPAN KADAR FENOLIK

Ketua Peneliti : Ulfi Amalia
Chief Researcher


Anggota : -
 Member

Telah menyetujui protokol tersebut dan disetujui pelaksanaannya
Have agreed to the protocol and approved the implementer

Pada Akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK Stifar Yayasan Pharmasi Semarang. Persetujuan ini berlaku selama 1 (satu) tahun setelah *Ethical Approval* dikeluarkan. Jika ada perubahan protokol dan /atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).


At the end of the study, a report on the implementation of the study must be submitted to KEPK Stifar Yayasan Pharmasi Semarang. This approval is valid for 1 (one) year after the Ethical Approval is issued. If there is a change in protocol and / or extension of research, you must re-submit a request for a study of research ethics (protocol amendment).

Semarang, 30 September 2024
 Ketua Komite Etik Penelitian Kesehatan
 Stifar Yayasan Pharmasi Semarang



Drpt. Dra. Erlita Verdia M. M.Si

Lampiran 3. Sertifikat Bakteri

 LABORATORIUM MEDIS
Sarana Medika

Semarang, 03 Oktober 2024

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Ulfi Amalia



NIM : 1042011145

Institusi : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

Telah menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari Unit Mikrobiologi Laboratorium Sarana Medika Semarang untuk keperluan penelitian.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Unit Mikrobiologi
Laboratorium Sarana Medika


 (Seno Ari, S.Km)

Jl. K.H Achmad Dahlan No.6, Telp. (024) 831 7971 SEMARANG - Jl. Laut No. 47A, Telp. (0294) 383 781 KENDAL - Jl. Mojito No.55 Telp. (0291) 291 7866 KUDUS - Jl. D.1 Panjaitan No. 14, Telp. (0292) 428 3519 PURWODADI - Jl. Panglima Sudirman No. 43, Telp. (0351) 451 887 MADIUN - Jl. Pahlawan No. 11B, Telp. (0351) 893 964 MAGETAN - Jl. Honggowongso No. 79, Telp. (0271) 662 004 SURAKARTA - Jl. Perintis Kemerdekaan No. 301, Telp. (0276) 329 5231 BOYOLALI - Jl. Dr. Mowardi No. 81, Telp. (0271) 662 004 SUKOHARJO

Lampiran 4. Pembuatan Serbuk Simplisia Kering Kulit Singkong



Pengumpulan bahan



Sortasi basah



Perajangan



Sortasi kering



Pengerinan dengan sinar matahari



Penyerbukan



Pengayakan



Serbuk simplisia

Lampiran 5. Proses Ekstraksi Kulit Singkong



Penimbangan serbuk



Maserasi 3x24 jam, disaring



Filtrat di evaporator



Penimbangan ekstrak



Ekstrak kental

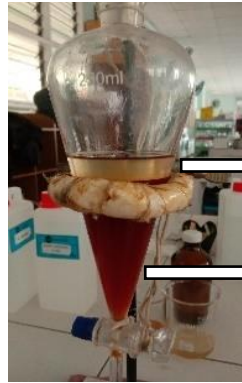


penguapan *waterbath*

Lampiran 6. Proses fraksinasi Ekstrak Kulit Singkong



Penimbangan ekstrak



Fraksinasi *n*-heksan : air

Fase *n*-heksana
(Nonpolar)

Fase air
(Polar)



Fraksi air



Fraksinasi etil asetat : air

Fase etil asetat
(Semi polar)

Fase air
(Polar)



Fraksi kental *n*-heksan



Fraksi kental etil asetat



Fraksi kental air

Lampiran 7. Hasil Rendemen Ekstrak dan Fraksi Kulit Singkong

Ekstrak Kulit singkong

Ekstrak Kental	Perhitungan Rendemen
Cawan kosong = 237,83 gram	$\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$ $\frac{74,51 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$ $= 14,90 \%$
Cawan+ekstrak = 312,39 gram	
Cawan+sisa = 237,88 gram	
Ekstrak = 74,51 gram	









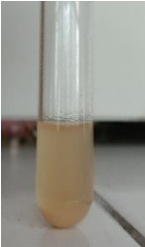



Penimbangan Ekstrak Kental Kulit Singkong





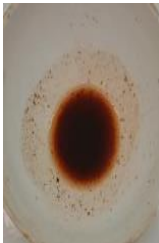











Fraksinasi	Berat kaca arloji kosong (g)	Berat kaca + ekstrak (g)	Berat kaca + sisa (g)	Berat ekstrak (g)
I	27,4013	37,4693	27,4615	10,0078
II	27,4028	37,4058	27,4615	9,9443
III	27,3980	37,5589	27,4160	10,1429






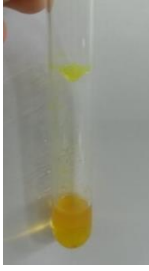


Perhitungan Rendemen Fraksi

Jenis Fraksi	Fraksi	Berat ekstrak (g)	Berat Fraksi (g)	Rendemen (%) $\frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$	Rata-rata Rendemen (%)
Fraksi <i>n</i> -heksan	I	10,0078	0,5027	5,02	6,09
	II	9,9443	0,4600	4,62	
	III	10,1429	0,8772	8,64	
Fraksi etil asetat	I	10,0078	0,2922	2,91	2,91
	II	9,9443	0,3300	3,31	
	III	10,1429	0,2546	2,51	
Fraksi air	I	10,0078	7,8800	78	82,76
	II	9,9443	8,8790	89,28	
	III	10,1429	8,2327	81	


Lampiran 8. Hasil Uji Pendahuluan dan Uji Bebas Etanol

Senyawa	Hasil (+) menurut literatur	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
<p>Flavonoid</p> <p>(Sampel+serbuk Mg+2 tetes HCl pekat+2 tetes amil alkohol)</p>	<p>Terbentuk warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Nasutio, 2020)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(-)</p>
<p>Fenolik</p> <p>(Sampel+3 tetes FeCl₃ 1%)</p>	<p>Terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Harborne, 1987)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>
<p>Tanin</p> <p>(Sampel+3 tetes larutan gelatin+3 ml NaCl 10%)</p>	<p>Terbentuk endapan putih</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(-)</p>	 <p>(+)</p>	 <p>(+)</p>

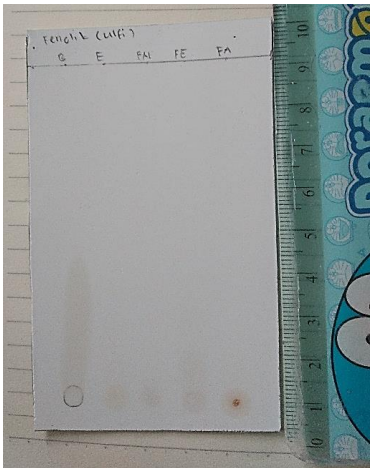
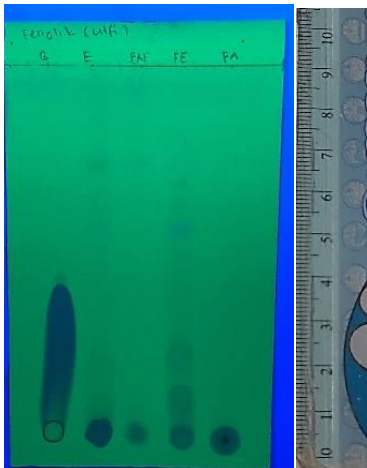

<p>Saponin</p> <p>(Sampel+10 ml akuades panas, digojog hingga muncul buih+ 1 tetes HCl 2N)</p>	<p>Terbentuk buih stabil (Wulandari dkk., 2020)</p>	 (+)	 (-)	 (+)	 (+)
<p>Steroid atau Triterpenoid</p> <p>(Sampel+asam asetat anhidrat+ 1 ml H₂SO₄)</p>	<p>Apabila terbentuk warna hijau menandakan (+) Steroid, apabila terbentuk warna merah atau ungu menandakan (+) triterpenoid (Ikalinus dkk., 2015)</p>	 (+)	 (+)	 (+)	 (-)
<p>Alkaloid (Wagner)</p> <p>(Sampel+3 tetes HCl 2N+3 tetes pereaksi wagner)</p>	<p>Terbentuknya endapan coklat (Muthmainna h, 2017)</p>	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)
<p>Alkaloid (Mayer)</p> <p>(Sampel+3 tetes HCl 2N+3 tetes</p>	<p>endapan putih (Muthmainna h, 2017)</p>	 (+)	 (+)	 (+)	 (+)

<p>Alkaloid (Dragendorf) (Sampel+3 tetes HCl 2N+3 tetes pereaksi Dragendorf)</p>	<p>Terbentuknya endapan merah atau jingga (Muthmainnah, 2017)</p>	 (-)	 (-)	 (-)	 (-)
<p>Alkaloid (Hager) (Sampel+3 tetes HCl 2N+3 tetes pereaksi Hager)</p>	<p>Terbentuknya Endapan kuning (Depkes, 1995)</p>	 (-)	 (-)	 (-)	 (-)

Uji bebas etanol

Pereaksi	Hasil	Keterangan	Kesimpulan
Asam asetat + H ₂ SO ₄	 Bau khas ekstrak kulit singkong	Positif (+) tidak terdapat bau ester dan etanol yang khas (Aquariushinta, 2015).	Bebas etanol

Lampiran 9. Hasil Uji KLT

FENOLIK														
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄ Fase gerak : <i>n</i> -heksan : etil asetat (3 : 7) Penampak bercak : FeCl ₃ 5% (+) Noda berwarna merah, hijau, biru atau hitam kuat (Harborne, 1996)														
VISUAL					UV					PENAMPAK BERCAK				
														
Perhitungan RF														
VISUAL					UV					PENAMPAK BERCAK				
B	E	FN	FE	FA	B	E	FN	FE	FA	B	E	FN	FE	FA
0,23	-	-	0,15	-	0,13	0,73	0,73	0,06	-	0,21	-	-	0,11	-
								0,20					0,25	
								0,53						

Keterangan :


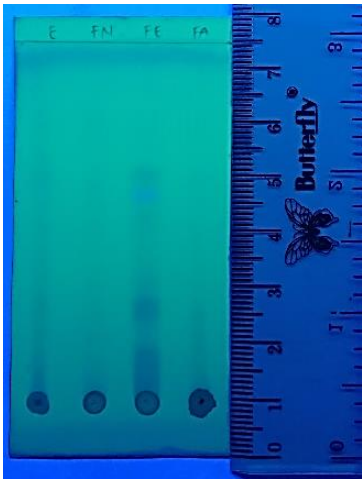
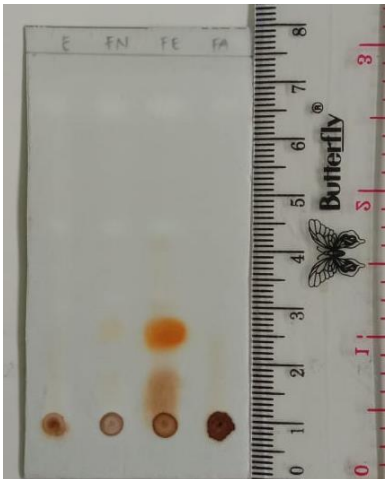
B = Baku

E = Ekstrak

FN = Fraksi *n*-heksan

FE = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

FLAVONOID											
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄ Fase gerak : toluen : asam asetat : asam format (5 : 4 : 1) Penampak bercak : Uap amonia (+) Noda berwarna kuning kecoklatan (Harborne, 1987)											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
											
Perhitungan RF											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA
-	-	-	-	0,63	-	0,22	-	-	0,27	0,27	-
						0,60					

Keterangan :


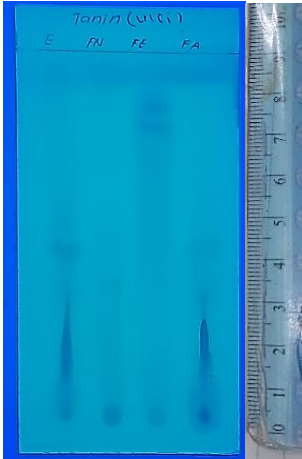

B = Baku

E = Ekstrak

FN = Fraksi *n*-heksan

FE = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

TANIN											
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄											
Fase grtak : etil asetat : methanol : air (100 : 13,5 : 10)											
Penampak bercak : FeCl ₃ 5%											
(+) Noda berwarna hijau kehitaman (Hanani, 2015)											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
											
Perhitungan RF											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA
0,31	-	-	0,30	0,12	-	0,80	0,13	0,31	-	0,82	0,31
				0,45		0,86	0,43			0,86	

Keterangan :


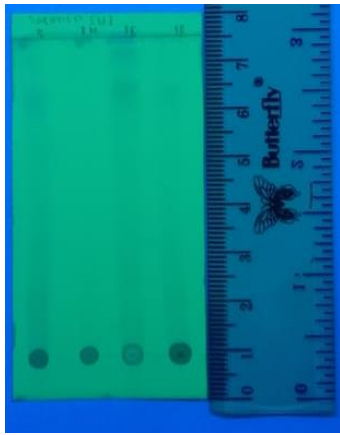
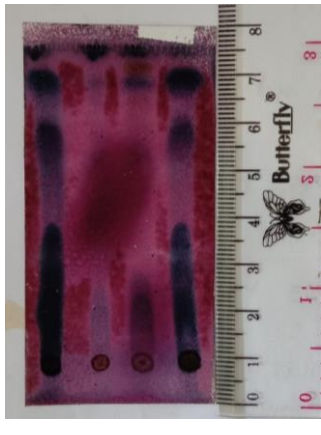
B = Baku

E = Ekstrak


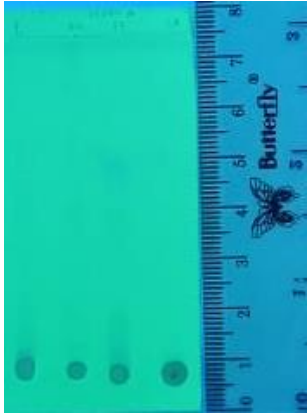

FN = Fraksi *n*-heksan

FE = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

SAPONIN											
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄											
Fase grtak : Kloroform : methanol (9 : 1)											
Penampak bercak : Anisaldehyd-asam sulfat											
(+) Noda berwarna biru, ungu, hijau (Wagner, 1996)											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
											
Perhitungan RF											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA
-	-	-	-	0,83	-	0,84	-	0,76	-	0,20	0,78
						0,98		0,93		0,93	0,93

Keterangan :**B** = Baku**E** = Ekstrak**FN** = Fraksi *n*-heksan**FE** = Fraksi Etil Asetat**FA** = Fraksi Air

STEROID/TRITERPENOID											
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄ Fase grtak : <i>n</i> -heksan : etil asetat (6 : 4) Penampak bercak : Anisaldehyd-asam sulfat (+) Noda berwarna biru atau ungu (Wagner, 1996)											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
											
Perhitungan RF											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA
-	-	-	-	-	-	-	-	0,83	0,26	0,89	-
								0,92	0,58		
									0,92		

Keterangan :


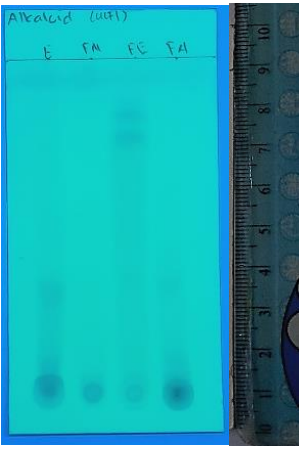

B = Baku

E = Ekstrak

FN = Fraksi *n*-heksan

FE = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

Alkaloid											
Fase diam : Lempeng Silika gel GF ₂₅₄											
Fase grtak : : etil asetat : methanol : air (100 : 16,5 : 13,5)											
Penampak bercak : Dragendrof											
(+) Noda berwarna jingga atau merah tua (Depkes RI, 1987)											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
											
Perhitungan RF											
VISUAL				UV				PENAMPAK BERCAK			
E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA	E	FN	FE	FA
-	-	-	-	0,30	-	0,80	0,37	0,81	-	-	-
						0,87					

Keterangan :

B = Baku

E = Ekstrak

FN = Fraksi *n*-heksan

FE = Fraksi Etil Asetat

FA = Fraksi Air

Lampiran 10. Perhitungan Deret Baku Asam Galat

1. Penimbangan baku kuersetin (± 10 mg)

$$\text{Berat kaca + zat} = 30,3845 \text{ gram}$$

$$\text{Berat kaca kosong} = 30,3945 \text{ gram} \quad \underline{\quad}$$

$$\text{Berat zat} = 0,0103 \text{ gram} \sim 10,3 \text{ mg}$$

Pembuatan konsentrasi 1000 ppm dalam 10 ml etanol pa

$$C = \frac{mg}{L} = \frac{10,3 \text{ mg}}{0,01 L} = 1030 \text{ ppm}$$

Pengenceran 10x (100 ppm)

Pengenceran	Koreksi kadar
$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 1030 = 50 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}$ $V_1 = 4,85 \text{ ml} \sim 5 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $5 \text{ ml} \times 1030 = 50 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 103,0000 \text{ ppm}$

2. Perhitungan deret baku

Konsentrasi	Deret Baku	Koreksi Kadar
10 ppm	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm}$ $V_1 = 0,97 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $1 \text{ ml} \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 10,3000 \text{ ppm}$
20 ppm	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}$ $V_1 = 1,94 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $2 \text{ ml} \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 20,6000 \text{ ppm}$
30 ppm	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 30 \text{ ppm}$ $V_1 = 2,91 \text{ ml} \sim 3 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $3 \text{ ml} \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 30,9000 \text{ ppm}$
40 ppm	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 40 \text{ ppm}$ $V_1 = 3,88 \text{ ml} \sim 4 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $4 \text{ ml} \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 41,2000 \text{ ppm}$
50 ppm	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm}$ $V_1 = 4,85 \text{ ml} \sim 5 \text{ ml}$	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $8 \text{ ml} \times 103,0000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times C_2$ $C_2 = 51,5000 \text{ ppm}$

3. Absorbansi deret baku asam galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10,3000	0,229
20,6000	0,335
30,9000	0,423
41,2000	0,575
51,5000	0,658

Regresi konsentrasi vs absorbansi menghasilkan nilai :

$$a = 0,1146$$

$$b = 0,0106$$

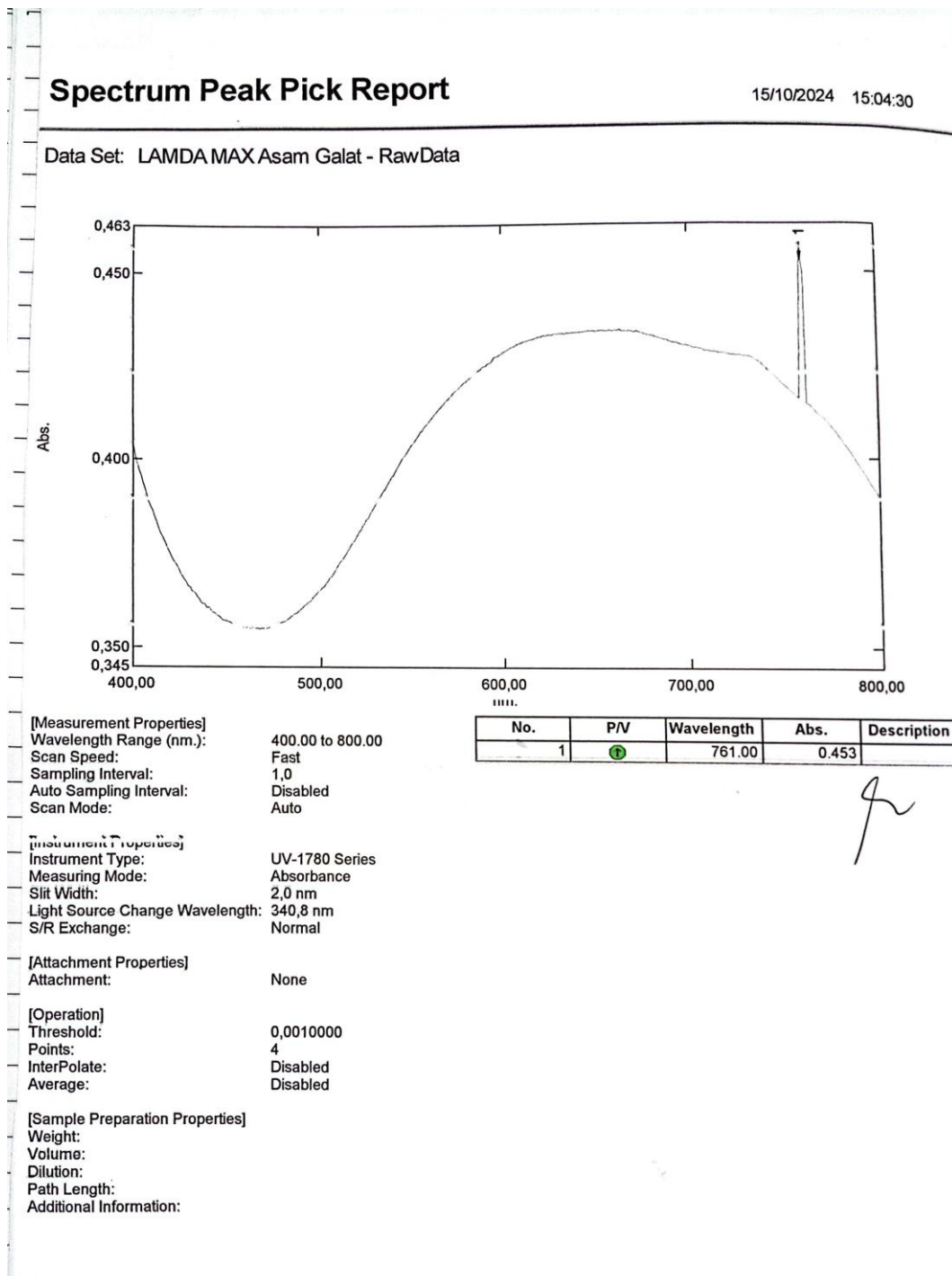
$$r = 0,9961$$

Persamaan regresi linear :

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

Lampiran 11. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Fenolik Total

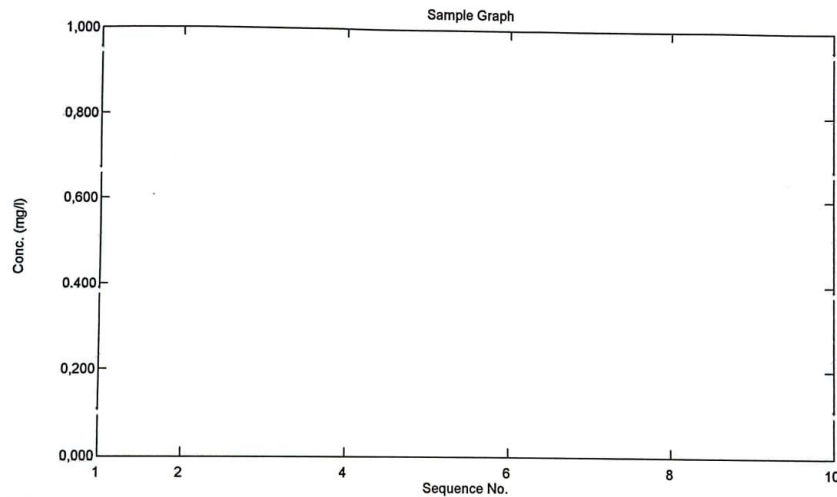


Lampiran 12. Penentuan *Operating Time* Fenolik Total

Sample Table Report

15/10/2024 15:05:02

File Name: D:\ulfi\OT.pho



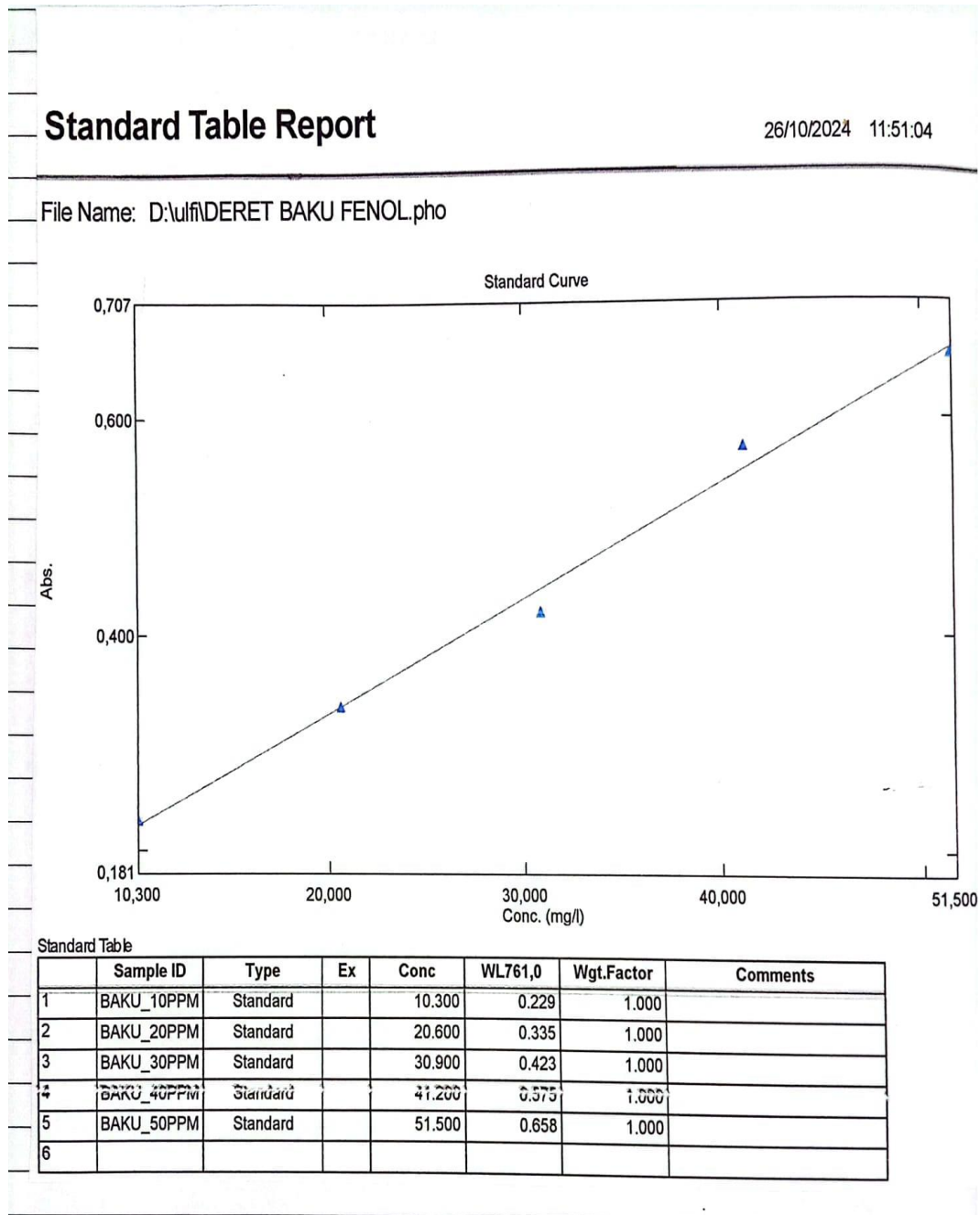
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761.0	Comments
1	MENIT1	Unknown		*****	0.522	
2	MENIT2	Unknown		*****	0.516	
3	MENIT3	Unknown		*****	0.513	
4	MENIT4	Unknown		*****	0.506	
5	MENIT5	Unknown		*****	0.495	
6	MENIT6	Unknown		*****	0.482	
7	MENIT7	Unknown		*****	0.472	
8	MENIT8	Unknown		*****	0.471	
9	MENIT9	Unknown		*****	0.470	
10	MENIT10	Unknown		*****	0.468	
11	MENIT11	Unknown		*****	0.465	
12	MENIT12	Unknown		*****	0.461	
13	MENIT13	Unknown		*****	0.460	
14	MENIT14	Unknown		*****	0.459	
15	MENIT15	Unknown		*****	0.458	
16	MENIT16	Unknown		*****	0.457	
17	MENIT17	Unknown		*****	0.449	
18	MENIT18	Unknown		*****	0.437	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761.0	Comments
19	MENIT19	Unknown		*****	0.433	
20	MENIT20	Unknown		*****	0.429	
21	MENIT21	Unknown		*****	0.427	
22	MENIT22	Unknown		*****	0.427	
23	MENIT23	Unknown		*****	0.427	
24	MENIT24	Unknown		*****	0.427	
25	MENIT25	Unknown		*****	0.427	
26						

Lampiran 13. Deret Baku dan Kurva Regresi Linier Baku Asam Galat



Lampiran 14. Perhitungan Kadar Fenolik Total dan Pembacaan Absorbansi Sampel Ekstra, Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan Air Kulit Singkong

Kadar Fenolik Total Sampel Ekstrak

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

Replikasi	Berat Sampel(gram)
I	0,1001
II	0,1002
III	0,1002
IV	0,1004
V	0,1003

➤ Replikasi 1 (Ekstrak)

$$\text{Abs} = 0,645$$

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

$$0,645 = 0,0106x + 0,1146$$

$$x = 50,0377 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar} = \frac{x \text{ (ppm)}}{1000} \times P \times \frac{\text{Volume ad (mL)}}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

$$= \frac{50,0377 \text{ ppm}}{1000} \times 5 \times \frac{10 \text{ mL}}{0,1001 \text{ gram}}$$

$$= 24,9938 \text{ mgGAE/gram sampel}$$

Replikasi	Berat Sampel(g)	FP	Absorban	Kadar(ppm)	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g)
I	0,1001	5	0,645	50,0377	24,9938
II	0,1002	5	0,630	48,6226	24,2627
III	0,1002	5	0,653	50,7924	25,3455
IV	0,1004	5	0,624	48,2452	24,0264
V	0,1003	5	0,665	51,9245	25,8845
Rata-rata					24,9025
SD					±0,7658

Kadar Fenolik Total Sampel Fraksi *n*-heksan

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

Replikasi	Berat Sampel(gram)
I	0,1008
II	0,1011
III	0,1009
IV	0,1007
V	0,1006

➤ Replikasi 1 (Fraksi *n*-heksan)

$$\text{Abs} = 0,527$$

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

$$0,527 = 0,0106x + 0,1146$$

$$x = 38,9056 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar} = \frac{x \text{ (ppm)}}{1000} \times P \times \frac{\text{Volume ad (mL)}}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

$$= \frac{38,9056 \text{ ppm}}{1000} \times 5 \times \frac{10 \text{ mL}}{0,1008 \text{ gram}}$$

$$= 19,2984 \text{ mgGAE/gram sampel}$$

Replikasi	Berat Sampel(g)	FP	Absorban	Kadar(ppm)	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g)
I	0,1008	5	0,527	38,9056	19,2984
II	0,1011	5	0,550	41,0754	20,3142
III	0,1009	5	0,544	40,5094	20,0740
IV	0,1007	5	0,567	42,6792	21,1912
V	0,1006	5	0,516	37,8679	18,8210
Rata-rata					19,8210
SD					±0,9202

Kadar Fenolik Total Sampel Fraksi Etil Asetat

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

Replikasi	Berat Sampel(gram)
I	0,1006
II	0,1010
III	0,1005
IV	0,1006
V	0,1004

➤ Replikasi 1 (Fraksi Etil Asetat)

$$\text{Abs} = 0,580$$

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

$$0,580 = 0,0106x + 0,1146$$

$$x = 43,9056 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar} = \frac{x \text{ (ppm)}}{1000} \times P \times \frac{\text{Volume ad (mL)}}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

$$= \frac{43,9056 \text{ ppm}}{1000} \times 5 \times \frac{10 \text{ mL}}{0,1006 \text{ gram}}$$

$$= 21,8218 \text{ mgGAE/gram sampel}$$

Replikasi	Berat Sampel(g)	FP	Absorban	Kadar(ppm)	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g)
I	0,1006	5	0,580	43,9056	21,8218
II	0,1010	5	0,597	45,5094	22,5294
III	0,1005	5	0,571	43,0566	21,4211
IV	0,1006	5	0,560	42,0188	20,8840
V	0,1004	5	0,558	41,8301	20,8317
Rata-rata					20,8317
SD					±0,7063

Kadar Fenolik Total Sampel Fraksi Air

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

Replikasi	Berat Sampel(gram)
I	0,1005
II	0,1003
III	0,1006
IV	0,1009
V	0,1004

➤ Replikasi 1 (Fraksi Air)

$$\text{Abs} = 0,450$$

$$y = 0,0106x + 0,1146$$

$$0,450 = 0,0106x + 0,1146$$

$$x = 31,6415 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar} = \frac{x \text{ (ppm)}}{1000} \times P \times \frac{\text{Volume ad (mL)}}{\text{Berat sampel (gram)}}$$

$$= \frac{31,6415 \text{ ppm}}{1000} \times 5 \times \frac{10 \text{ mL}}{0,1005 \text{ gram}}$$

$$= 15,7420 \text{ mgGAE/gram sampel}$$

Replikasi	Berat Sampel(g)	FP	Absorban	Kadar(ppm)	Kadar Fenolik Total (mgGAE/g)
I	0,1005	5	0,450	31,6415	15,7420
II	0,1003	5	0,476	34,0943	16,9961
III	0,1006	5	0,462	32,7735	16,2890
IV	0,1009	5	0,442	30,8867	15,3055
V	0,1004	5	0,425	29,2830	14,5831
Rata-rata					14,5831
SD					±0,9215

Lampiran 15. Absorbansi Sampel Ekstrak, Fraksi *n*-heksan, Etil Asetat dan Air

Orientasi Konsentrasi Sampel

Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761,0	Comments
1	OSE_10000PPM	Unknown		*****	3.182	
2	OFN_10000PPM	Unknown		*****	2.632	
3	OFE_10000PPM	Unknown		*****	3.018	
4	OFA_10000PPM	Unknown		*****	2.385	
5	OSE_2000PPM	Unknown		*****	0.647	
6	OFN_2000PPM	Unknown		*****	0.530	
7	OFE_2000PPM	Unknown		*****	0.576	
8	OFA_2000PPM	Unknown		*****	0.460	
9						

Absorban Sampel Ekstrak

Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761,0	Comments
1	EKSTRAK_R1	Unknown		*****	0.645	
2	EKSTRAK_R2	Unknown		*****	0.630	
3	EKSTRAK_R3	Unknown		*****	0.653	
4	EKSTRAK_R4	Unknown		*****	0.626	
5	EKSTRAK_R5	Unknown		*****	0.665	
6						

Absorban Sampel Fraksi *n*-heksan

Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761,0	Comments
1	FNH_R1	Unknown		*****	0.527	
2	FNH_R2	Unknown		*****	0.550	
3	FNH_R3	Unknown		*****	0.544	
4	FNH_R4	Unknown		*****	0.567	
5	FNH_R5	Unknown		*****	0.516	
6						

Absorban Sampel Fraksi Etil Asetat

Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761,0	Comments
1	FEA_R1	Unknown		*****	0.580	
2	FEA_R2	Unknown		*****	0.597	
3	FEA_R3	Unknown		*****	0.571	
4	FEA_R4	Unknown		*****	0.560	
5	FEA_R5	Unknown		*****	0.558	
6						

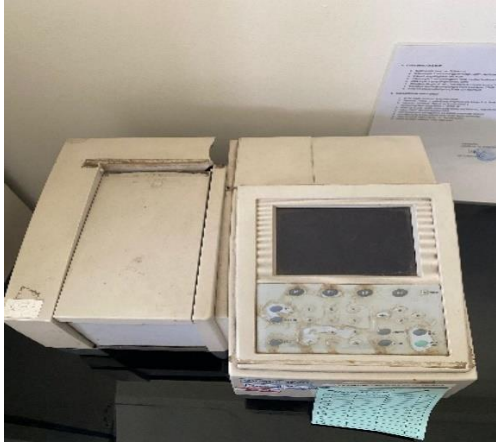
Absorban Sampel Fraksi Air

Sequence No.

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL761,0	Comments
1	FA_R1	Unknown		*****	0.450	
2	FA_R2	Unknown		*****	0.476	
3	FA_R3	Unknown		*****	0.462	
4	FA_R4	Unknown		*****	0.442	
5	FA_R5	Unknown		*****	0.425	
6						

Lampiran 16. Instrument Penelitian



Lampiran 17. Perhitungan dan Pembuatan Media

1. Media NB (*Nutrient Broth*)

Formula

<i>Lab Lemco Powder</i>	1
<i>Yeast Extract</i>	2
<i>Peptone</i>	5
<i>Sodium Chloride</i>	5

Etiket 13 gram/ Liter

$$\text{Media yang dibuat} = \frac{13 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 50 \text{ mL} = 0,65 \text{ gram}$$

Cara Pembuatan :

Ditimbang serbuk NB sebanyak 0,65 gram dimasukkan kedalam beaker glass, larutkan dalam aquadest sebanyak 50 mL. Tuang media kedalam erlemeyer setelah itu media NB disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Media CETA (*Cetrimide Agar*)

Formula

Pepton agar-agar	: 20,0 gram
Magnesium klorida	: 1,4 gram
Dikalium sulfat	: 10,0 gram
Cetyltrimethylammonium mromide	: 0,3 gram
Agar	: 13,6 gram
Gliserol	: 10,0 mL




Etiket 45,3 gram/Liter

$$\text{Media yang dibuat} = \frac{45,3 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} \times 250 \text{ mL} = 11,325 \text{ gram}$$

Cara Pembuatan :

Ditimbang media CETA sebanyak 11,325 gram lalu dimasukkan ke dalam beaker glass, ditambahkan aquadest 250 mL. Panaskan media CETA sambil diaduk hingga larutan berwarna kuning jernih, kemudian tambahkan gliserol aduk hingga homogen. Tuang media ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya media CETA disterilisasikan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 18. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

		
Kultur murni bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Peremajaan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Suspensi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Lampiran 19. Pembuatan Larutan Kontrol Positif dan Larutan Uji

1. Pembuatan Larutan Uji Kontrol Positif Ciprofloxacin

a. Pembuatan larutan stok Ciprofloxacin 0,5% dalam 5 ml

$$\text{Konsentrasi } 0,5\% = \frac{0,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} = 0,025 \text{ g} \sim 25 \text{ mg}$$

$$\text{Berat tablet} = 0,681 \text{ g} \sim 681 \text{ mg}$$

Penimbangan serbuk :

$$= \frac{681 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times 25 \text{ mg} = 34,05 \text{ mg}$$

$$\pm 5\% = 32,35 \text{ mg} - 35,75 \text{ mg}$$

$$\text{Serbuk yang ditimbang} = 34,05 \text{ mg}$$

Cara Pembuatan :

Ditimbang Ciprofloxacin 34,05 mg dilarutkan dengan DMSO 5 mL, kemudian dihomogenkan.

b. Konsentrasi 0,3%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.0,5\% = 1 \text{ ml}.0,3\%$$

$$V1 = 0,6 \text{ ml} - 600 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 600 \mu\text{l}$$

$$= 400 \mu\text{l}$$

Cara Pembuatan:

Dipipet sebanyak 600 μl dari larutan stok Ciprofloxacin 0,5% , ditambahkan DMSO 400 μl lalu dihomogenkan.

c. Konsentrasi 0,03%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.0,5 \% = 1 \text{ ml}.0,003\%$$

$$V1 = 0,06 \text{ ml} \sim 60 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 60 \mu\text{l}$$

$$= 940 \mu\text{l}$$

Cara Pembuatan :

Dipipet sebanyak 60 μl dari larutan stok Ciprofloxacin 0,5% , ditambahkan DMSO 940 μl lalu dihomogenkan.

d. Konsentrasi 0,003%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.0,5\% = 1 \text{ ml}.0,003\%$$

$$V1 = 0,006 \text{ ml} \sim 6 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 6 \mu\text{l}$$

$$= 994 \mu\text{l}$$

Cara Pembuuatan :

Dipipet sebanyak 6 μl dari larutan stok Ciprofloxacin 0,5% , ditambahkan DMSO 994 μl lalu dihomogenkan.

2. Pembuatan Larutan Uji Sampel Ekstrak Kulit Singkong

a. Pembuatan larutan stok ekstrak 50%

$$\text{Konsentrasi } 50\% = \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 0,5 \text{ gram/1 ml}$$

$$\frac{0,5 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ gram}$$

Cara pembuatan :

Ditimbang ekstrak 2,5 gram dilarutkan dengan DMSO 5 mL, kemudian dihomogenkan.

b. Konsentrasi 15%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.50\% = 1 \text{ ml}.15\%$$

$$V1 = 0,3 \text{ ml} \sim 300 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 300 \mu\text{l}$$

$$= 700 \mu\text{l}$$

Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 300 μl dari larutan stok ekstrak 50% , ditambahkan DMSO 700 μl lalu dihomogenkan.

c. Konsentrasi 10%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.50\% = 1 \text{ ml}.10\%$$

$$V1 = 0,2 \text{ ml} \sim 200 \mu\text{l}$$

$$\begin{aligned} \text{DMSO} &= 1.000 \mu\text{l} - 200 \mu\text{l} \\ &= 800 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 200 μl dari larutan stok ekstrak 50% , ditambahkan DMSO 800 μl lalu dihomogenkan.

d. Konsentrasi 5%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.50\% = 1 \text{ ml}.5\%$$

$$V1 = 0,1 \text{ ml} \sim 100 \mu\text{l}$$

$$\begin{aligned} \text{DMSO} &= 1.000 \mu\text{l} - 100 \mu\text{l} \\ &= 900 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 100 μl dari larutan stok ekstrak 50% , ditambahkan DMSO 900 μl lalu dihomogenkan.

3. Pembuatan Larutan Uji Sampel Fraksi Kulit Singkong

a. Pembuatan larutan stok ekstrak 50%

$$\text{Konsentrasi } 35\% = \frac{35 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 0,35 \text{ gram/1 ml}$$

$$\frac{0,35 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 5 \text{ ml} = 1,75 \text{ gram}$$

Cara pembuatan :

Ditimbang ekstrak 1,75 gram dilarutkan dengan DMSO 5 mL, kemudian dihomogenkan.

b. Konsentrasi 15%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.35\% = 1 \text{ ml}.15\%$$

$$V1 = 0,4 \text{ ml} \sim 400 \mu\text{l}$$

$$\begin{aligned} \text{DMSO} &= 1.000 \mu\text{l} - 400 \mu\text{l} \\ &= 600 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 400 μl dari larutan stok ekstrak 35% , ditambahkan DMSO 600 μl lalu dihomogenkan.

c. Konsentrasi 10%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.35\% = 1 \text{ ml}.10\%$$

$$V1 = 0,28 \text{ ml} \sim 280 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 280 \mu\text{l}$$

$$= 720 \mu\text{l}$$

Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 280 μl dari larutan stok ekstrak 35% , ditambahkan DMSO 720 μl lalu dihomogenkan.

d. Konsentrasi 5%

$$V1.C1 = V2.C2$$

$$V1.50\% = 1 \text{ ml}.5\%$$

$$V1 = 0,14 \text{ ml} \sim 140 \mu\text{l}$$

$$\text{DMSO} = 1.000 \mu\text{l} - 140 \mu\text{l}$$

$$= 860 \mu\text{l}$$

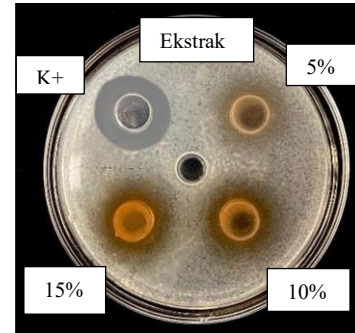
Cara pembuatan :

Dipipet sebanyak 140 μl dari larutan stok ekstrak 35% , ditambahkan DMSO 860 μl lalu dihomogenkan.

Lampiran 20. Uji Antibakteri

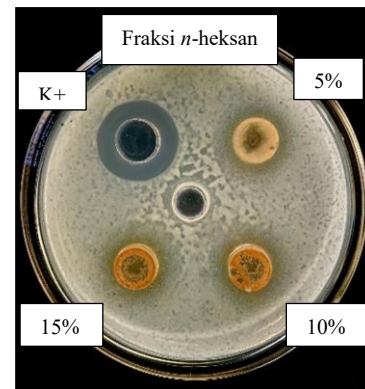
Ekstrak

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)				
	Ekstrak Kulit Singkong			Kontrol	
	5%	10%	15%	Positif	Negatif
1	1,223	1,321	1,445	1,722	0,000
2	1,220	1,317	1,426	1,724	0,000
3	1,219	1,310	1,409	1,729	0,000
4	1,223	1,332	1,413	1,715	0,000
5	1,224	1,345	1,426	1,720	0,000
Rata rata	1,221	1,325	1,423	1,722	0,000
SD	0,002	0,013	0,014	0,005	0,000



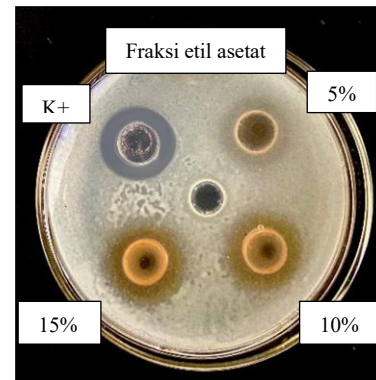
Fraksi *n*-heksan

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)				
	Fraksi <i>n</i> -heksan Kulit Singkong			Kontrol	
	5%	10%	15%	Positif	Negatif
1	0,918	1,056	1,126	1,718	0
2	0,921	1,055	1,119	1,723	0
3	0,920	1,063	1,127	1,720	0
4	0,943	1,037	1,121	1,718	0
5	0,946	1,020	1,174	1,703	0
Rata rata	0,929	1,046	1,133	1,716	0
SD	0,013	0,017	0,022	0,007	0



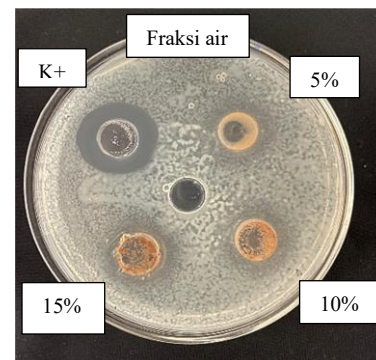
Fraksi Etil Asetat

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)				
	Fraksi Etil Asetat Kulit Singkong			Kontrol	
	5%	10%	15%	Positif	Negatif
1	1,117	1,217	1,304	1,706	0
2	1,110	1,211	1,306	1,724	0
3	1,118	1,212	1,307	1,725	0
4	1,115	1,217	1,303	1,721	0
5	1,111	1,217	1,303	1,719	0
Rata rata	1,114	1,214	1,304	1,719	0
SD	0,003	0,003	0,001	0,007	0



Fraksi Air

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)				
	Fraksi Air Kulit Singkong			Kontrol	
	5%	10%	15%	Positif	Negatif
1	0,683	0,777	0,838	1,721	0
2	0,672	0,760	0,829	1,720	0
3	0,671	0,766	0,827	1,720	0
4	0,671	0,764	0,830	1,721	0
5	0,672	0,762	0,833	1,715	0
Rata rata	0,673	0,765	0,831	1,719	0
SD	0,005	0,006	0,004	0,002	0



Lampiran 21. Uji SPSS

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona hambat	Ekstrak 5%	.242	5	.200 [*]	.942	5	.679
	Ekstrak 10%	.217	5	.200 [*]	.931	5	.607
	Ekstrak 15%	.245	5	.200 [*]	.918	5	.514
	Fraksi NH 5%	.290	5	.197	.895	5	.382
	Fraksi NH 10%	.258	5	.200 [*]	.923	5	.547
	Fraksi NH 15%	.247	5	.200 [*]	.874	5	.281
	Fraksi EA 5%	.205	5	.200 [*]	.944	5	.692
	Fraksi EA 10%	.208	5	.200 [*]	.941	5	.672
	Fraksi EA 15%	.210	5	.200 [*]	.969	5	.870
	Fraksi Air 5%	.291	5	.191	.884	5	.330
	Fraksi Air 10%	.224	5	.200 [*]	.961	5	.817
	Fraksi Air 15%	.223	5	.200 [*]	.966	5	.851
	Kontrol Positif	.308	5	.135	.848	5	.190

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan : Data berdistribusi secara normal, diindikasikan dengan nilai sig >0,05

2. Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variance			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona hambat	Based on Mean	1.863	12	52	.062
	Based on Median	.929	12	52	.526
	Based on Median and with adjusted df	.929	12	33.153	.531
	Based on trimmed mean	1.812	12	52	.070

Kesimpulan: Data bersifat homogen yang diindikasikan dengan nilai sig >0,05

3. Uji ANOVA

ANOVA					
Zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.992	12	.416	3459.496	.000
Within Groups	.006	52	.000		
Total	4.998	64			

Kesimpulan: Terdapat perbedaan diantara kelompok data ditunjukkan dengan nilai sig <0,05.

4. Uji Post-Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona hambat

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 5%	Ekstrak 10%	-.103200*	.006936	.000	-.11712	-.08928
	Ekstrak 15%	-.202200*	.006936	.000	-.21612	-.18828
	Fraksi NH 5%	.292200*	.006936	.000	.27828	.30612
	Fraksi NH 10%	.175600*	.006936	.000	.16168	.18952
	Fraksi NH 15%	.088400*	.006936	.000	.07448	.10232
	Fraksi EA 5%	.107600*	.006936	.000	.09368	.12152
	Fraksi EA 10%	.007000	.006936	.318	-.00692	.02092
	Fraksi EA 15%	-.083000*	.006936	.000	-.09692	-.06908
	Fraksi Air 5%	.548000*	.006936	.000	.53408	.56192
	Fraksi Air 10%	.456000*	.006936	.000	.44208	.46992
	Fraksi Air 15%	.390400*	.006936	.000	.37648	.40432
	Kontrol Positif	-.500200*	.006936	.000	-.51412	-.48628
	Ekstrak 10%	Ekstrak 5%	.103200*	.006936	.000	.08928
Ekstrak 15%		-.099000*	.006936	.000	-.11292	-.08508
Fraksi NH 5%		.395400*	.006936	.000	.38148	.40932
Fraksi NH 10%		.278800*	.006936	.000	.26488	.29272
Fraksi NH 15%		.191600*	.006936	.000	.17768	.20552
Fraksi EA 5%		.210800*	.006936	.000	.19688	.22472
Fraksi EA 10%		.110200*	.006936	.000	.09628	.12412
Fraksi EA 15%		.020200*	.006936	.005	.00628	.03412
Fraksi Air 5%		.651200*	.006936	.000	.63728	.66512
Fraksi Air 10%		.559200*	.006936	.000	.54528	.57312
Fraksi Air 15%		.493600*	.006936	.000	.47968	.50752
Kontrol Positif		-.397000*	.006936	.000	-.41092	-.38308
Ekstrak 15%		Ekstrak 5%	.202200*	.006936	.000	.18828
	Ekstrak 10%	.099000*	.006936	.000	.08508	.11292
	Fraksi NH 5%	.494400*	.006936	.000	.48048	.50832
	Fraksi NH 10%	.377800*	.006936	.000	.36388	.39172
	Fraksi NH 15%	.290600*	.006936	.000	.27668	.30452
	Fraksi EA 5%	.309800*	.006936	.000	.29588	.32372
	Fraksi EA 10%	.209200*	.006936	.000	.19528	.22312
	Fraksi EA 15%	.119200*	.006936	.000	.10528	.13312
	Fraksi Air 5%	.750200*	.006936	.000	.73628	.76412
	Fraksi Air 10%	.658200*	.006936	.000	.64428	.67212
	Fraksi Air 15%	.592600*	.006936	.000	.57868	.60652
	Kontrol Positif	-.298000*	.006936	.000	-.31192	-.28408
	Fraksi NH 5%	Ekstrak 5%	-.292200*	.006936	.000	-.30612
Ekstrak 10%		-.395400*	.006936	.000	-.40932	-.38148
Ekstrak 15%		-.494400*	.006936	.000	-.50832	-.48048
Fraksi NH 10%		-.116600*	.006936	.000	-.13052	-.10268
Fraksi NH 15%		-.203800*	.006936	.000	-.21772	-.18988
Fraksi EA 5%		-.184600*	.006936	.000	-.19852	-.17068
Fraksi EA 10%		-.285200*	.006936	.000	-.29912	-.27128
Fraksi EA 15%		-.375200*	.006936	.000	-.38912	-.36128
Fraksi Air 5%		.255800*	.006936	.000	.24188	.26972
Fraksi Air 10%		.163800*	.006936	.000	.14988	.17772
Fraksi Air 15%		.098200*	.006936	.000	.08428	.11212
Kontrol Positif		-.792400*	.006936	.000	-.80632	-.77848

Fraksi NH 10%	Ekstrak 5%	-175600 [*]	.006936	.000	-18952	-16168
	Ekstrak 10%	-278800 [*]	.006936	.000	-29272	-26488
	Ekstrak 15%	-377800 [*]	.006936	.000	-39172	-36388
	Fraksi NH 5%	.116600 [*]	.006936	.000	.10268	.13052
	Fraksi NH 15%	-.087200 [*]	.006936	.000	-.10112	-.07328
	Fraksi EA 5%	-.068000 [*]	.006936	.000	-.08192	-.05408
	Fraksi EA 10%	-.168600 [*]	.006936	.000	-.18252	-.15468
	Fraksi EA 15%	-.258600 [*]	.006936	.000	-.27252	-.24468
	Fraksi Air 5%	.372400 [*]	.006936	.000	.35848	.38632
	Fraksi Air 10%	.280400 [*]	.006936	.000	.26648	.29432
	Fraksi Air 15%	.214800 [*]	.006936	.000	.20088	.22872
	Kontrol Positif	-.675800 [*]	.006936	.000	-.68972	-.66188
	Fraksi NH 15%	Ekstrak 5%	-.088400 [*]	.006936	.000	-.10232
Ekstrak 10%		-.191600 [*]	.006936	.000	-.20552	-.17768
Ekstrak 15%		-.290600 [*]	.006936	.000	-.30452	-.27668
Fraksi NH 5%		.203800 [*]	.006936	.000	.18988	.21772
Fraksi NH 10%		.087200 [*]	.006936	.000	.07328	.10112
Fraksi EA 5%		.019200 [*]	.006936	.008	.00528	.03312
Fraksi EA 10%		-.081400 [*]	.006936	.000	-.09532	-.06748
Fraksi EA 15%		-.171400 [*]	.006936	.000	-.18532	-.15748
Fraksi Air 5%		.459600 [*]	.006936	.000	.44568	.47352
Fraksi Air 10%		.367600 [*]	.006936	.000	.35368	.38152
Fraksi Air 15%		.302000 [*]	.006936	.000	.28808	.31592
Kontrol Positif		-.588600 [*]	.006936	.000	-.60252	-.57468
Fraksi EA 5%		Ekstrak 5%	-.107600 [*]	.006936	.000	-.12152
	Ekstrak 10%	-.210800 [*]	.006936	.000	-.22472	-.19688
	Ekstrak 15%	-.309800 [*]	.006936	.000	-.32372	-.29588
	Fraksi NH 5%	.184600 [*]	.006936	.000	.17068	.19852
	Fraksi NH 10%	.068000 [*]	.006936	.000	.05408	.08192
	Fraksi NH 15%	-.019200 [*]	.006936	.008	-.03312	-.00528
	Fraksi EA 10%	-.100600 [*]	.006936	.000	-.11452	-.08668
	Fraksi EA 15%	-.190600 [*]	.006936	.000	-.20452	-.17668
	Fraksi Air 5%	.440400 [*]	.006936	.000	.42648	.45432
	Fraksi Air 10%	.348400 [*]	.006936	.000	.33448	.36232
	Fraksi Air 15%	.282800 [*]	.006936	.000	.26888	.29672
	Kontrol Positif	-.607800 [*]	.006936	.000	-.62172	-.59388
	Fraksi EA 10%	Ekstrak 5%	-.007000	.006936	.318	-.02092
Ekstrak 10%		-.110200 [*]	.006936	.000	-.12412	-.09628
Ekstrak 15%		-.209200 [*]	.006936	.000	-.22312	-.19528
Fraksi NH 5%		.285200 [*]	.006936	.000	.27128	.29912
Fraksi NH 10%		.168600 [*]	.006936	.000	.15468	.18252
Fraksi NH 15%		.081400 [*]	.006936	.000	.06748	.09532
Fraksi EA 5%		.100600 [*]	.006936	.000	.08668	.11452
Fraksi EA 15%		-.090000 [*]	.006936	.000	-.10392	-.07608
Fraksi Air 5%		.541000 [*]	.006936	.000	.52708	.55492
Fraksi Air 10%		.449000 [*]	.006936	.000	.43508	.46292
Fraksi Air 15%		.383400 [*]	.006936	.000	.36948	.39732
Kontrol Positif		-.507200 [*]	.006936	.000	-.52112	-.49328

Fraksi EA 10%	Ekstrak 5%	-.007000	.006936	.318	-.02092	.00692	
	Ekstrak 10%	-.110200 [*]	.006936	.000	-.12412	-.09628	
	Ekstrak 15%	-.209200 [*]	.006936	.000	-.22312	-.19528	
	Fraksi NH 5%	.285200 [*]	.006936	.000	.27128	.29912	
	Fraksi NH 10%	.168600 [*]	.006936	.000	.15468	.18252	
	Fraksi NH 15%	.081400 [*]	.006936	.000	.06748	.09532	
	Fraksi EA 5%	.100600 [*]	.006936	.000	.08668	.11452	
	Fraksi EA 15%	-.090000 [*]	.006936	.000	-.10392	-.07608	
	Fraksi Air 5%	.541000 [*]	.006936	.000	.52708	.55492	
	Fraksi Air 10%	.449000 [*]	.006936	.000	.43508	.46292	
	Fraksi Air 15%	.383400 [*]	.006936	.000	.36948	.39732	
	Kontrol Positif	-.507200 [*]	.006936	.000	-.52112	-.49328	
Fraksi EA 15%	Ekstrak 5%	.083000 [*]	.006936	.000	.06908	.09692	
	Ekstrak 10%	-.020200 [*]	.006936	.005	-.03412	-.00628	
	Ekstrak 15%	-.119200 [*]	.006936	.000	-.13312	-.10528	
	Fraksi NH 5%	.375200 [*]	.006936	.000	.36128	.38912	
	Fraksi NH 10%	.258600 [*]	.006936	.000	.24468	.27252	
	Fraksi NH 15%	.171400 [*]	.006936	.000	.15748	.18532	
	Fraksi EA 5%	.190600 [*]	.006936	.000	.17668	.20452	
	Fraksi EA 10%	.090000 [*]	.006936	.000	.07608	.10392	
	Fraksi Air 5%	.631000 [*]	.006936	.000	.61708	.64492	
	Fraksi Air 10%	.539000 [*]	.006936	.000	.52508	.55292	
	Fraksi Air 15%	.473400 [*]	.006936	.000	.45948	.48732	
	Kontrol Positif	-.417200 [*]	.006936	.000	-.43112	-.40328	
	Fraksi Air 5%	Ekstrak 5%	-.548000 [*]	.006936	.000	-.56192	-.53408
		Ekstrak 10%	-.651200 [*]	.006936	.000	-.66512	-.63728
Ekstrak 15%		-.750200 [*]	.006936	.000	-.76412	-.73628	
Fraksi NH 5%		-.255800 [*]	.006936	.000	-.26972	-.24188	
Fraksi NH 10%		-.372400 [*]	.006936	.000	-.38632	-.35848	
Fraksi NH 15%		-.459600 [*]	.006936	.000	-.47352	-.44568	
Fraksi EA 5%		-.440400 [*]	.006936	.000	-.45432	-.42648	
Fraksi EA 10%		-.541000 [*]	.006936	.000	-.55492	-.52708	
Fraksi EA 15%		-.631000 [*]	.006936	.000	-.64492	-.61708	
Fraksi Air 10%		-.092000 [*]	.006936	.000	-.10592	-.07808	
Fraksi Air 15%		-.157600 [*]	.006936	.000	-.17152	-.14368	
Kontrol Positif		-1.048200 [*]	.006936	.000	-1.06212	-1.03428	
Fraksi Air 10%		Ekstrak 5%	-.456000 [*]	.006936	.000	-.46992	-.44208
		Ekstrak 10%	-.559200 [*]	.006936	.000	-.57312	-.54528
	Ekstrak 15%	-.658200 [*]	.006936	.000	-.67212	-.64428	
	Fraksi NH 5%	-.163800 [*]	.006936	.000	-.17772	-.14988	
	Fraksi NH 10%	-.280400 [*]	.006936	.000	-.29432	-.26648	
	Fraksi NH 15%	-.367600 [*]	.006936	.000	-.38152	-.35368	
	Fraksi EA 5%	-.348400 [*]	.006936	.000	-.36232	-.33448	
	Fraksi EA 10%	-.449000 [*]	.006936	.000	-.46292	-.43508	
	Fraksi EA 15%	-.539000 [*]	.006936	.000	-.55292	-.52508	
	Fraksi Air 5%	.092000 [*]	.006936	.000	.07808	.10592	
	Fraksi Air 15%	-.065600 [*]	.006936	.000	-.07952	-.05168	
	Kontrol Positif	-.956200 [*]	.006936	.000	-.97012	-.94228	

Fraksi Air 15%	Ekstrak 5%	-.390400*	.006936	.000	-.40432	-.37648
	Ekstrak 10%	-.493600*	.006936	.000	-.50752	-.47968
	Ekstrak 15%	-.592600*	.006936	.000	-.60652	-.57868
	Fraksi NH 5%	-.098200*	.006936	.000	-.11212	-.08428
	Fraksi NH 10%	-.214800*	.006936	.000	-.22872	-.20088
	Fraksi NH 15%	-.302000*	.006936	.000	-.31592	-.28808
	Fraksi EA 5%	-.282800*	.006936	.000	-.29672	-.26888
	Fraksi EA 10%	-.383400*	.006936	.000	-.39732	-.36948
	Fraksi EA 15%	-.473400*	.006936	.000	-.48732	-.45948
	Fraksi Air 5%	.157600*	.006936	.000	.14368	.17152
	Fraksi Air 10%	.065600*	.006936	.000	.05168	.07952
	Kontrol Positif	-.890600*	.006936	.000	-.90452	-.87668
	Kontrol Positif	Ekstrak 5%	.500200*	.006936	.000	.48628
Ekstrak 10%		.397000*	.006936	.000	.38308	.41092
Ekstrak 15%		.298000*	.006936	.000	.28408	.31192
Fraksi NH 5%		.792400*	.006936	.000	.77848	.80632
Fraksi NH 10%		.675800*	.006936	.000	.66188	.68972
Fraksi NH 15%		.588600*	.006936	.000	.57468	.60252
Fraksi EA 5%		.607800*	.006936	.000	.59388	.62172
Fraksi EA 10%		.507200*	.006936	.000	.49328	.52112
Fraksi EA 15%		.417200*	.006936	.000	.40328	.43112
Fraksi Air 5%		1.048200*	.006936	.000	1.03428	1.06212
Fraksi Air 10%		.956200*	.006936	.000	.94228	.97012
Fraksi Air 15%		.890600*	.006936	.000	.87668	.90452

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.