

Cek Plagiarisme

Skripsi_FINAL_UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN ROSELLA (Hibiscus
sabdariffa L) TERHADAP
BAKTERI Staphylococcus aureus
dan Salmonella typhi DENGAN
METODE DIFUSI CAKRAM

Submission date: 17-Aug-2022 06:01 AM (UTC+0700)
by Zerli Rahmawati 182205039

Submission ID: 1883340020

File name: 182205039_Zerli_Rahmawati_Farmasi_Final.docx (897.66K)

Word count: 8164

Character count: 50171

13
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*
DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM**

1
SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
Program Studi Farmasi (S-1)
Fakultas Kesehatan
Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta



Disusun oleh:

ZERLI RAHMAWATI
NPM 182205039

**PROGRAM STUDI FARMASI (S-1)
FAKULTAS KESEHATAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA
2022**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi ialah penyakit paling banyak dialami oleh para penduduk yang berada di negara berkembang, salah satunya ialah di Indonesia. karena banyaknya penyakit yang ditimbulkan diakibatkan oleh adanya patogen (Radji, 2011). Infeksi disebabkan oleh mikroorganisme yaitu bakteri, virus, protozoa, dan jamur. banyaknya infeksi yang dialami oleh manusia yaitu pada bakteri *Salmonella typhi* dan bakteri *Staphylococcus aureus* (Ji et al., 2012)

Bakteri *Staphylococcus aureus* beberapa di antaranya ditemukan pada tubuh manusia yang terdapat di daerah inguinal, perineal, dan di lubang hidung bagian anterior. Sekitar 25-30% membawa *Staphylococcus aureus* ke saluran rongga hidung dan kulit (Radji, 2011). Infeksi disebabkan adanya bakteri dimana timbul gejala yaitu nekrosis, pembentukan abses, peradangan, dan dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi seperti jerawat, bisul dan nanah (Putri et al., 2019).

Bakteri *Salmonella typhi* dapat menyebabkan demam tifoid karena adanya bakteri patogen yang bersifat sistemik persisten, infeksi demam ini disertai dengan adanya bakterimia dapat merusak organ usus dan hati. Infeksi terjadi ketika minuman dan makanan terkontaminasi yang memungkinkan bakteri masuk ke tubuh. beberapa pasien terinfeksi di saluran empedu, saluran kemih dan kantong empedu (Rostinawati, 2009).

Pengobatan dengan berbagai antibiotik dapat diberikan untuk mengatasi infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan kekuatan dari berbagai macam gejala seperti kerusakan sel darah, keracunan obat, kerusakan sel saraf pada organ dalam tubuh, hipersensitivitas, serta terjadinya gagal ginjal. Hal ini menjadi alasan untuk dapat meneliti yang bertujuan mendapatkan atau menemukan pengobatan alternatif yang aman dan

efektif dengan menggunakan obat herbal (Putri et al., 2019). Penggunaan obat herbal saat ini sedang meningkat di banyak negara karena semakin mahal nya harga obat yang beredar di masyarakat merupakan salah satu alasan mengapa masyarakat memilih obat herbal sebagai pilihan terapi. Obat herbal kebanyakan berasal dari tanaman, salah satunya adalah daun Rosella yang sudah dikenal secara empiris sebagai antibakteri (Dahlia et al., 2012).

Daun rosella memiliki kandungan bahan aktif berfungsi sebagai aktivitas antibakteri antara lain flavanoid, saponin, fenolat, tanin, steroid, dan glikosida. akar juga memiliki kandungan asam tatrak dan saponin. hal ini menunjukkan kandungan dari daun, akar, dan bunga rosella, di gunakan sebagai antibakteri, selain itu juga daun Rosella memiliki kandungan antioksidan yaitu asam klorogenat, asam kriptoklorogenat, rutin, asam neoklorogenat, dan isokuerstin (Dahlia et al., 2012).

Penelitian Putri (Putri et al., 2019) menyebutkan bahwa daun rosella, akar, dan bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) mempunyai aktivitas mengenai *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada daya hambat antibakteri ekstrak etanol bunga rosella pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 10% (17,43 mm), sedangkan pada 20% (21,6 mm), dan untuk 30% (24,23 mm). Kemudian peneliti menguji daya hambat antibakteri pada ekstrak daun rosella untuk konsentrasi 10% (12,4 mm), 20% (16,73 mm), 30% (21,86 mm). Peneliti menguji daya hambat antibakteri ekstrak pada akar rosella dengan konsentrasi konsentrasi 10% (10,48 mm), 20% (13,2 mm), 30% (13,73 mm). Berdasarkan penelitian disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi maka zona hambat akan besar dan zona hambat terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan oleh ekstrak etanol bunga dengan konsentrasi 30% (24,23 mm), diikuti ekstrak daun pada konsentrasi 30% (21,86) dan akar konsentrasi 30% (13,73 mm). Dari uraian tersebut, penulis melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan

Staphylococcus aureus. Peneliti berharap dengan adanya penelitian ini mampu berkontribusi dalam bidang ilmu pengetahuan mengenai antibakteri alami yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut

1. Apakah ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*?
2. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak etanol daun rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui apakah ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.
2. Mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak etanol daun Rosella terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait dengan kandungan dalam ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki zat yang membatasi pertumbuhan bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

2. Manfaat praktis

Diakhir penelitian ini dapat diharapkan membantu peneliti selanjutnya serta bisa menjadi untuk bahan pembandingan.

E. Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
(Putri et al., 2019)	Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Bunga, Daun dan Akar Tumbuhan rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Pada penelitian eksperimental yaitu pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram ada beberapa konsentrasi pada penelitian ini antara lain 10%, 20%, dan 30%, kontrol positif Chloramphenicol 250 mg dan kontrol negatif DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat adanya daya hambat antibakteri ekstrak etanol Daya hambat antibakteri ekstrak daun rosella pada konsentrasi 10% (12,4 mm); 20% (13,73 mm); 30% (21,86 mm). bunga rosella pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi 10% (17,43 mm); 20% (21,6 mm); 30% (24,23 mm). Daya hambat antibakteri ekstrak akar rosella pada konsentrasi 10% (10,48 mm); 20% (13,2 mm); 30% (13,73 mm)
(Febriyanto et al., 2019)	Uji Daya Hambat Ekstrak Kelopak Bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) Sebagai Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Pada penelitian ini yaitu penelitian deskriptif dengan empat perlakuan variasi konsentrasi yaitu 70%, 75%, 80% dan 85% dengan menggunakan analisa data uji statistik Univariat. Diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 70% sebesar 14,4 mm, sedangkan konsentrasi 75% adalah 15,7 mm, konsentrasi 80% yaitu 16,4 mm, konsentrasi 85% sebesar 19,6 mm. pertumbuhan pada bakteri <i>staphylococcus aureus</i> yang paling baik pada konsentrasi 85% dengan rerata zona hambat 19,6 mm dan dikategorikan kuat.
(Samsuharto, 2008)	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil Asetat, dan Etanol 70 % Daun rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	Pada penelitian ini yaitu Menggunakan metode difusi dengan cara membuat sumuran yang berdiameter 9 mm, selanjutnya ditetesi menggunakan ekstrak etil

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
	25923.	asetat, etanol 70%, dan n-heksan, pada konsentrasi 25 %; 50 %; 75 %; 100 %. Hasil yang didapat pada penelitian dengan metode difusi memberikan luas daerah hambatan dengan rata-rata pada ekstrak etil asetat yaitu sebesar 7,67 mm (25 %); 11,33 mm (50 %); 20,33 mm (75 %); 26,67 mm (100 %), sedangkan pada ekstrak etanol 70 % dengan memberikan luas daerah hambatan sebesar 8,33 mm (50 %); 11 mm (75 %); 16 mm (100 %). Sedangkan untuk ekstrak n-heksan tidak memiliki daerah hambatan. Dari sini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki efek antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak n-heksana dan etanol 70%.
(Riwandy et al., 2014)	Aktivitas ekstrak air kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> in vitro.	Pada penelitian ini yang bersifat eksperimental dimana terdiri dari 11 kelompok perlakuan antara lain kelompok ekstrak kelopak bunga Rosella pada beberapa konsentrasi yaitu (konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% dan 50%); sedangkan pada kontrol negatif; dan kontrol positif (Tetrasiklin hidroklorida 25 µg/ml). masing-masing pengujian dilakukan sebanyak 5 kali optimasi. Pengujian aktivitas antibakteri ini dengan menggunakan metode difusi yang dapat mengukur zona bening yang ada disekitar pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> dengan menggunakan media Muller Hinton. Sedangkan untuk menganalisis data menggunakan metode One-Way Anova 95% ($\alpha = 0,05$) dan dilanjutkan dengan pengujian LSD. Berdasarkan pada pengujian LSD dapat disimpulkan bahwa ekstrak air kelopak bunga Rosella dapat

Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
		<p>5 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>. Sedangkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu memiliki nilai sebesar 1% dan untuk konsentrasi yang efektif adalah pada konsentrasi ekstrak air kelopak bunga Rosella dengan konsentrasi 15%.</p>
(Dharmawibawa, 2005)	<p>4 Uji In Vitro dan In Vivo Ekstrak kelopak bunga rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) Sebagai Antibakteri <i>Salmonella typhi</i>.</p>	<p>Pada ekstraksi in 7 dilakukan pengujian dengan menggunakan metode infusa yang dimana selama 15 menit untuk suhu 7 yaitu 100°C. Uji In Vitro dengan Ekstrak bunga rosella yang berpotensi kuat sebagai antibakteri. Karena ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk pada diameter dengan luas 25 mm sedangkan untuk yang terkecil sebesar 11 mm dan diameter zona bening sebesar 25 mm ini termasuk ke dalam respon yang menghambat pertumbuhan kuat, sedangkan untuk diameter zona hambat dengan nilai 11 mm termasuk ke dalam respon yang dapat menghambat pertumbuhan ya 7 lemah. Sedangkan pada Uji in vivo menunjukkan bahwa terdapatnya koloni bakteri <i>S. typhimurium</i> pada mencit yang di beri ekstrak bunga rosella dan akuades, yang berarti bahwa pada ekstrak bunga rosella ini menunjukkan tidak memiliki aktivitas antibakteri pada uji in vivo.</p>

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANUAR PERPUSTAKAAN

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini yaitu jenis penelitian yang eksperimental dilakukan di laboratorium akan membandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Proses maserasi ini dilakukan untuk mengesktraksi daun rosella dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Metode yang dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram yang digunakan untuk melihat ada atau tidak daya hambat daun rosella pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi*.

B. Lokasi dan Waktu

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Proses ekstraksi, uji kontrol kualitas dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juli 2022.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi yaitu daun rosella yang diambil di Krajan I, RT 02/RW 01, Kiyudan, Majaksingi, Kecamatan. Borobudur, Kabupaten magelang, Jawa Tengah 56553 yang terletak di ketinggian 265 dpl. 7° 36' 28" LS dan 110° 12' 13" BT.
2. Sampel yaitu menggunakan daun rosella sebanyak 4 kg dengan ukuran sedang yang masih segar, utuh, tidak rusak dan berwarna hijau. dicuci dengan air yang mengalir agar lebih bersih kemudian dijemur ± selama 2 hari setelah itu dilanjutkan pengeringan dengan menggunakan oven untuk

meminimalisir hidupnya jamur pada daun Rosella untuk pengeringan yang lebih efektif dengan suhu 50° C, kemudian daun rosella yang sudah kering dijadikan serbuk dengan menggunakan *grinder*.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah yang bisa mempengaruhi konsentrasi pada saat pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan sampel ekstrak etanol daun rosella.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang diamati atau hasil pengaruh dari variabel bebas yaitu Diameter zona hambat atau luas area bening pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi*.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol yaitu variabel yang ikut berpengaruh pada saat percobaan yaitu Waktu pengukuran dan pada saat inkubasi terhadap media uji selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

E. Definisi Operasional

1. Pada saat pengujian menggunakan ekstrak etanol daun rosella dengan beberapa konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%.
2. Pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi* dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris secara horizontal, vertikal, dan diagonal dengan satuan milimeter (mm).
3. Waktu pengukuran dan inkubasi pada media uji selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Alat yang digunakan untuk ekstraksi yaitu spatula kayu, timbangan neraca analitik (Ohaus), wajan, toples besar, ayakan ukuran 40 mesh, kompor listrik (Maspion), *grinder*, gelas beaker labu takar, corong, loyang, kaca arloji, baskom, corong plastik, gelas ukur.
- b. Alat uji organoleptik dan uji fitokimia yaitu tabung reaksi, rak tabung, timbangan analitik, gelas beaker, labu ukur, kertas saring, *hot plate* (IKA HS-7) pipet tetes, corong, pipet ukur, propipet, *droplate*.
- c. Alat untuk uji KLT yaitu gelas bejana, labu takar, gelas beaker, lampu UV 254-366 nm (UvOC-02), *white tip*.
- d. Alat untuk uji aktivitas antibakteri yaitu autoklaf (Gea LS-B 50L), *BSC* (Daihan Labtech), *beaker glass*, batang L, cawan petri, *hot plate*, inkubator (Memmert IN30), jarum ose, jangka sorong, lemari pendingin, labu erlenmeyer (iwaki), mikropipet 100-1000 μL , *blue tip*, *magnetic stirrer*, oven (Memmert UN160), pembakar bunsen, pinset, tabung reaksi, batang pengaduk.

2. Bahan

- a. Bahan yang digunakan pada saat determinasi yaitu tanaman Rosella.
- b. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi yaitu serbuk simplisia, etanol 70% dan kain mori.
- c. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu ekstrak etanol daun Rosella, H_2SO_4 , HCL 2 N, dragendroff, mayer, wagner, etanol 70%, serbuk magnesium, akuades, FeCl_3 1%.
- d. Bahan yang digunakan untuk uji KLT yaitu, kloroform, metanol, asam asetat, (14:2:1) kertas saring, serbuk kuersetin 0,1%, etanol 70%, ekstrak etanol daun rosella, plat silika GF254, AlCl_3 5%, *white tip*.
- e. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu ekstrak etanol daun rosella, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella*

typhi, nutrient agar (*merck*) akuades, aluminium foil, kasa, asam sulfat 1%, barium klorida 1%, NaCl fisiologis 0,1%, Media Muller Hinton Agar (*merck*) dan ampisilin.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Sampel

a. Determinasi Tanaman

Dilakukan identifikasi daun rosella di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta karena untuk meyakinkan bahwa spesimen menggunakan daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) sesuai yang diinginkan.

b. Pembuatan Sampel

Dicuci daun rosella sebanyak 4 kg di bawah air yang mengalir setelah itu daun rosella dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C sampai daun rosella menjadi kering. Kemudian daun rosella yang sudah kering dihaluskan menggunakan grinder hingga menjadi serbuk lalu melakukan pengayakan untuk mendapatkan hasil yang diinginkan yaitu dengan ayakan yang berukuran 40 mesh, daun rosella siap untuk diekstraksi.

c. Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun rosella diambil sebanyak 500 gram dan direndam dalam 5L etanol dengan konsentrasi 70% dalam toples kaca yang sudah di bungkus dengan lakban selama 3 hari dengan pengadukan setiap 12 jam. Toples kaca yang berisi serbuk disimpan di tempat yang terjaga dari sinar matahari. Kemudian hasil dari perendaman disaring untuk mendapatkan filtrat, residu direndam kembali dalam pelarut etanol 70% sebanyak 2,5L selama 1 hari dan diaduk tiap 12 jam sekali. filtrat dari perendaman yang pertama dan perendaman yang kedua digabungkan. Setelah itu diuapkan untuk pemekatan hasil dari ekstrak

pekat dihitung dan dinyatakan dalam bentuk persentase (%b/b) (Chairunnisa et al., 2019).

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{Berat simplisia (gram)}} \times 100\%$$

2. Kontrol Kualitas

a. Uji organoleptik

Dilakukan percobaan organoleptik untuk mengamati ekstrak etanol daun rosella ada beberapa yang harus diamati antara lain warna, bentuk, rasa dan bau.

b. Skrining fitokimia

1) Identifikasi alkaloid

Disiapkan ekstrak etanol daun rosella lalu ditimbang sebanyak 0,5 gram. setelah itu siapkan tabung reaksi untuk tempat sampel yang telah ditimbang tadi kemudian tambahkan H₂SO₄ 2 N sebanyak 10 ml dipanaskan di atas *hot plate* selama 30 menit dengan suhu 50°C atau ekstrak sudah mengendap. setelah itu di saring dan dibagi menjadi 3 bagian, tambahkan reagen ke setiap tabung. Pada tabung reaksi yang pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer apabila terjadi endapan putih maka menunjukkan hasil positif, tiga tetes preaksi Dragendroff pada tabung kedua apabila menunjukkan warna endapan jingga maka hasil positif dan tiga tetes preaksi Wagner pada tabung ketiga jika ditabung ketiga ada endapan merah kecoklatan maka hasilnya adalah positif. (Dahlia et al., 2012).

2) Identifikasi flavanoid

Disiapkan ekstrak etanol daun rosella lalu ditimbang sebanyak 0,5 gram. selanjutnya dimasukkan ke tabung reaksi dan dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian masukkan sedikit demi sedikit bubuk magnesium sebanyak 0,1 gram dan

asam klorida ditambahkan 2-3 tetes. Untuk mencapai hasil positif dengan adanya flavanoid yang membentuk warna merah menyala (Dahlia et al., 2012).

3) Identifikasi saponin

Disiapkan ekstrak etanol daun rosella lalu ditimbang sebanyak 0,5 gram dan kemudian tambahkan 5 mL air panas pada tabung reaksi serta digojok selama 30 detik. Jika adanya busa kemudian ditambahkan dengan larutan HCL 2N selanjutnya ditunggu selama 2 menit, terdapat saponin apabila adanya busa (Agustina, dkk., 2017).

4) Identifikasi tanin

Disiapkan ekstrak etanol daun rosella lalu ditimbang sebanyak 0,5 gram dan setelah itu masukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml air panas dilanjutkan penambahan FeCl 1% sebanyak 2-3 tetes. Apabila menunjukkan warna biru tua atau hitam artinya terdapat adanya tanin (Agustina, dkk., 2017).

c. Identifikasi golongan senyawa dengan metode KLT

Mengidentifikasi senyawa flavanoid sebagai antibakteri menggunakan metode KLT (Theodora et al., 2019).

1) Persiapan plat KLT

Silika gel GF254 yang berukuran 10 cm × 4 cm digunakan sebagai fase diam. Kemudian tandai bagian atas dengan garis untuk menunjukkan batas proses elusi.

2) Penjenuhan bejana

Dilakukan penjenuhan bejana dengan menggunakan kloroform, metanol, asam asetat, (14:2:1) sebanyak 17 ml sebagai fase gerak. Sedangkan untuk senyawa standar yang digunakan untuk pembanding yaitu kuarsetin. jenuhkan eluen terlebih dahulu kedalam chamber menggunakan kertas saring dengan waktu 10-15

menit, dipotong kertas saring dengan ukuran vertikal dimasukkan ke dalam gelas bejana hingga supernatan, dan gelas bejana ditutup rapat menggunakan kaca arloji. dianggap jenuh ketika pengelusi telah mencapai puncak dari kertas saring. agar menyamakan tekanan uap pada semua bagian gelas.

3) Pembuatan larutan standar kuarsetin 0,1%

Ditimbang baku standar kuarsetin 0,1% sebanyak 2 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 70% sampai 2 ml (Asmorowati & Lindawati, 2019).

4) Pembuatan larutan ekstrak etanol daun rosella

Ditimbang 0,5 mg ekstrak etanol daun rosella dan dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 5 ml.

5) Penotolan ekstrak pada plat KLT

Tahap pertama yang dilakukan yakni dipanaskan terlebih dahulu lembaran silika gel yang telah diukur menggunakan oven dengan suhu 110°C selama 30 menit untuk mengurangi kadar air pada lembaran silika. lembaran silika kemudian dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian atas dan bagian bawah dengan ukuran 1 cm pada pipa kapiler di tepi bawah plat. totolkan sampel secara vertikal kemudian dimasukkan tempat yang telah dijenuhkan terlebih dahulu. Selanjutnya ditutup kembali hingga pengelusi mencapai batas atas lempeng.

6) Mengidentifikasi senyawa flavanoid menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm

Plat diambil dari gelas bejana yang telah dikeringkan. Diangin-anginkan terlebih dahulu. Selanjutnya untuk lempeng diamati dibawah sinar UV pada 254 nm dan 366 nm. kemudian disemprotkan AlCl_3 guna untuk melihat reaksi AlCl_3 5% dengan

membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton. pada area yang terlihat dapat ditandai untuk menentukan nilai Rf.

$$Rf = \frac{\text{jarak elusi sampel (cm)}}{\text{jarak perambatan fase gerak dari titik penotolan (cm)}}$$

3. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi alat

Sebelum menggunakan semua alat, dibersihkan alat dibawah air yang mengalir dan ditunggu sampai kering, Sebelum dibungkus dengan kertas payung semprotkan alkohol 70% kemudian ditunggu sampai kering pada semua alat untuk meminimalisir keberadaan bakteri lain, kemudian alat disterilkan dalam ke dalam oven pada suhu 171°C selama 1 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan pada api bunsen.

b. Sterilisasi bahan

Bahan yang harus disterilkan antara lain *blue tip*, NaCl 0,9%, media peremajaan bakteri dan media uji, serta akuades. Sterilisasi dilakukan dengan metode sterilisasi panas basah yaitu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada nutrient agar sebagai peremajaan bakteri dan Mueller-Hinton agar untuk uji aktivitas antibakteri.

1) Nutrient Agar untuk peremajaan bakteri

Peremajaan ini dilakukan agar bakteri dapat aktif dan tumbuh secara optimal. sebanyak 1g NA (*merck*) dimasukan ke dalam erlenmeyer serta dilarutkan dengan 50ml akuades, panaskan di atas *hot plate* dan dibantu dengan *magnetic stirrer* hingga larutan menjadi homogen. Selanjutnya, media dituangkan ke dalam 6 tabung reaksi steril dengan tiap-tiap tabung sebanyak 5

ml, lubang tabung reaksi ditutup dengan kain kasa atau kapas lalu dibungkus *aluminium foil*. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C yang bertekanan 1 atm selama 15 menit. Selanjutnya media didiamkan pada suhu ruangan sampai media memadat dengan kemiringan 30° agar dalam mengamati pertumbuhan bakteri dapat dilakukan dengan mudah. Kultur isolat bakteri yang diuji diremajakan dan diinokulasikan pada media kemudian diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

2) Mueller-Hinton agar untuk uji aktivitas antibakteri

Sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri langkah yang pertama yakni menimbang 9,18 gram Mueller-Hinton dan dilarutkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 270 ml akuades. Selanjutnya panaskan di atas *hot plate* sampai dengan mendidih kemudian aduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut homogen, kemudian ditutup lubang erlenmeyer dengan kapas dan *aluminium foil* medium yang telah masak, disterilisasi dengan menggunakan alat yaitu autoklaf pada waktu 15 menit dengan suhu 121°C . selanjutnya baru dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan didalam BSC didinginkan dan dibiarkan hingga mengeras. Media yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA), pemilihan media MHA ini sebagai uji aktivitas antibakteri karena secara umum sangat baik digunakan sebagai uji sensitivitas antimikroba.

d. Pembuatan larutan standar *Mc Farland* 0,5

Larutan *Mc Farland* dibuat dengan mencampurkan asam sulfat (H_2SO_4) sebanyak 9,95 mL dan 0,05 mL barium klorida (BaCl_2) 1%. Digunakan *Mc Farland* sebagai standar karena standar ini biasa digunakan untuk uji kepekaan terhadap antibiotik dan kinerja media

kultur. sampel larutan standar diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm, agar mengetahui bahwa larutan standar tersebut memiliki nilai absorbansi 0,08-0,1 (Simpson et al., 2014). Jika hasil yang didapat tidak memenuhi syarat maka dilakukan pengenceran dengan akuades dan diukur kembali. Standar *Mc Farland* yang akan digunakan yaitu *Mc Farland* 0,5 artinya perkiraan jumlah suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

e. Pembuatan suspensi bakteri

Kultur murni yang dipakai ialah bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi* dibiakan dalam media Nutrient Agar (NA) secara aseptis dimasukkan ke inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella typhi* kemudian diambil sebanyak 1-2 ose, kemudian diencerkan dengan menggunakan NaCl fisiologis dan disetarakan dengan kekeruhan standart *Mc farland* Setara dengan *Mc farland* 0,5 atau sama dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ (CFU/ml) (Rukmana & Mulyowati, 2015)

f. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak uji

Ekstrak etanol daun rosella sebanyak 20 gram dilarutkan dengan akuades sebanyak 20 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% dan 30% dalam 5 mL akuades dengan rumus pengenceran yaitu $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$ (Putri et al., 2019).

g. Pengujian antibakteri ekstrak daun rosella

Pada penelitian ini dilakukan uji difusi cakram, Bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*) diambil 0,1 mL. Plat agar Mueller-Hinton diinokulasi dengan medium dan diratakan menggunakan batang L. Celupkan kertas cakram secara aseptis selama

5 menit guna untuk menarik senyawa yang ada di ekstrak cairan sampel sampai seluruh cakram basah. Kemudian untuk kontrol negatif dicelupkan ke dalam akuades karena di dalam akuades tidak mempunyai zatr aktif. Sedangkan ampisilin sebagai kontrol positif karena antibiotik ini memiliki aktivitas terhadap banyak infeksi gram positif dan gram negatif, antibiotik ini dicadangkan untuk infeksi gram negatif serius, seperti demam tifoid dan *salmonellosis*.

Setiap cakram dipindahkan ke media agar yang sudah diinokulasikan mikroba dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah selesai diinkubasi diamati zona bening atau zona hambat disekitar paper disk dengan menggunakan jangka sorong. Dimana pengujian ini dilakukan beberapa pengukuran yaitu horizontal, vertikal dan diagonal. semakin luas area bening menunjukkan semakin tinggi aktivitas antimikroorganisme dari sampel (Lestari & Hendrayan, 2017), (Prasetyoputri et al., 2021).

H. Metode Pengolahan dan Analisi Data

Dalam penelitian ini peneliti menggunakan metode analisis dengan cara yaitu analisis parametrik *One-Way* ANOVA (Analysis of Variance) atau metode satu arah dengan tingkat kepercayaan 95%. Metode *One-Way* ANOVA untuk menentukan apakah ada pengaruh konsentrasi terhadap zona hambat yang diibuktikan dengan nilai signifikan pada output.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

4 Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Hasil yang di peroleh yaitu determinasi tanaman, rendemen, uji organoleptik, skrining uji senyawa fitokimia, uji kromatografi lapis tipis, dan uji aktivitas antibakteri.

1. Determinasi Tanaman

Daun rosella yang digunakan pada saat penelitian diambil dari Krajan I, RT 02/RW 01, Kiyudan, Majaksingi, Kecamatan. Borobudur, Kabupaten magelang, Jawa Tengah 56553 yang terletak di ketinggian 265 dpl. 7° 36' 28' 17 LS dan 110° 12' 13' BT. Determinasi daun rosella di lakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 27 Mei 2022 dengan nomor: 161/Lab. Bio/B/IV/2022. Hasil dari determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Persiapan Sampel

a. Pembuatan Simplisia

Daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dengan ukuran sedang yang masih segar, utuh yang tidak rusak dan berwarna hijau tidak ada yang layu sebanyak 4 kg di cuci bersih dengan air yang mengalir agar lebih bersih kemudian dipindahkan ke dalam ranjang. Setelah itu dilanjutkan pengeringan dengan menggunakan oven untuk meminimalisir hidupnya jamur pada daun rosella dan pengeringan dilakukan pada suhu 50°C. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan alat yaitu grinder hingga berbentuk serbuk. Hasil dari pengovenan yang sudah dikeringkan dapat di lihat pada tabel 3.

Tabel 2 . Data Bobot Bahan Tanaman yang Digunakan Dalam Penelitian

No	Bahan tanaman	Bobot (gram)
1	Daun rosella segar	4.000 gram
2	Daun rosella kering	1.800 gram

Dapat dilihat pada tabel 3 bahwa menunjukkan hasil daun rosella yang masih segar sebesar 4 kg sedangkan untuk hasil yang sudah dikeringkan dengan jumlah sebesar 1,8 kg yang sudah di oven, selama lebih kurang 3 hari setelah tanaman kering di jadikan serbuk dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh yang artinya dalam 1 inci mesh terdapat lubang sebanyak 40.

b. Pembuatan ekstrak kental etanol daun rosella

Serbuk daun rosella diekstrak dengan menggunakan metode maserasi atau perendaman. Proses maserasi dilakukan dengan cara diambil serbuk daun rosella sebanyak 500 gram direndam dalam pelarut etanol 70 % dengan perbandingan (1:10 b/v) sebanyak 5 liter selama 3×24 jam dilakukan pengadukan tiap 6 jam, Pada hari ke-3 dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain mori diperoleh filtrat 1. Selanjutnya dilakukan remaserasi selama 1 hari yaitu suatu proses perendaman kembali daun rosella dengan pelarut yang baru, hasil ampas dari penyaringan direndam dengan pelarut etanol 70% yang baru dengan jumlah sebanyak setengah jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Pada hari ke-4 penyaringan kembali dengan menggunakan kain mori agar mendapatkan filtrate 2. Hasil dari nilai rendemen pada daun rosella yang telah di proses selama 4 hari dapat dilihat pada tabel 4 dan perhitungan lampiran 1.

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Rosella

Berat simplisa (gram)	Berat ekstrak (gram)	Hasil rendemen ekstrak (% b/b)
500 gram	96, 83 gram	19,366 %

Pada tabel 4 dapat diketahui bahwa sampel yang sudah menjadi serbuk ditimbang sebanyak 500 gram untuk di maserasi kemudian hasil yang telah di ekstrak kental didapatkan sebesar 96,83 gram untuk hasil rendemen dengan nilai 19,366% . Hal tersebut menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol dan semakin lama waktu ekstrasi maka akan meningkatkan rendemen ekstrak daun rosella.

3. Kontrol kualitas ekstrak etanol daun rosella

a. Hasil organoleptik

Ekstrak etanol daun rosella kental yang diperoleh dilakukan pengamatan secara organoleptik, dan yang diamati secara fisik dengan cara sederhana yaitu menggunakan indera manusia antara lain warna, tekstur, rasa, dan bau pada ekstrak etanol daun rosella. Hasil dari organoleptik yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik (Dahlia et al., 2012)

Pengamatan	Ekstrak etanol daun Rosella	Literatur (Dahlia et al., 2012)
Warna	Kecoklatan	Kecoklatan
Tekstur	Kental	Kental
Rasa	Asam	Asam
Bau	Aromatik	Aromatik

Hasil pada tabel 5 menunjukkan bahwa hasil yang didapat untuk warna kecoklatan, tekstur kental, rasa asam, dan bau yang aromatik dengan hasil tersebut adanya persamaan antara peneliti sebelumnya (Samsuharto, 2008) dan tidak ada yang berbeda.

b. Hasil identifikasi senyawa fitokimia

Setelah melakukan uji organoleptik kemudian menguji senyawa fitokimia. Hal tersebut sangat penting dimana untuk mengetahui bahwa kandungan yang ada di dalam ekstrak etanol daun rosella. Hasil penapisan pada senyawa fitokimia yang telah diamati dengan menggunakan berbagai pelarut dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 5. Hasil Penapisan Fitokimia

No	Uji fitokimia	Hasil	Literatur Putri, (2019)	Keterangan
1.	Alkaloid:			
	Pereaksi mayer	Terbentuk endapan endapan putih	Terbentuk endapan putih	Positif
	Pereaksi wagner	Terbentuk endapan warna coklat kemerahan	Terbentuk endapan coklat kemerahan	Positif
	Pereaksi dragendroff	Terbentuk endapan warna orange	Terbentuk endapan orange	Positif
2.	Flavanoid	Terbentuk warna merah menyala	Terbentuk warna merah menyala	Positif
3.	Saponin	Terbentuk busa	Terbentuk busa	Positif
4.	Tanin	Terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif

Pada tabel 6 menunjukkan bahwa hasil dari pengujian alkaloid (pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi dragendroff) menunjukkan hasil positif, pengujian pada flavonoid menunjukkan hasil yang positif, pengujian pada saponin menunjukkan hasil positif, dan pengujian pada tannin menunjukkan hasil positif. Berarti bahwa daun rosella terdapat adanya kandungan senyawa zat aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat.

c. Hasil pemisahan senyawa menggunakan metode KLT

Identifikasi pemisahan senyawa secara kualitatif pada ekstrak etanol daun rosella dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Identifikasi pemisahan senyawa yaitu dengan cara menghitung nilai R_f (faktor retardasi). Pada penelitian dilakukan optimasi

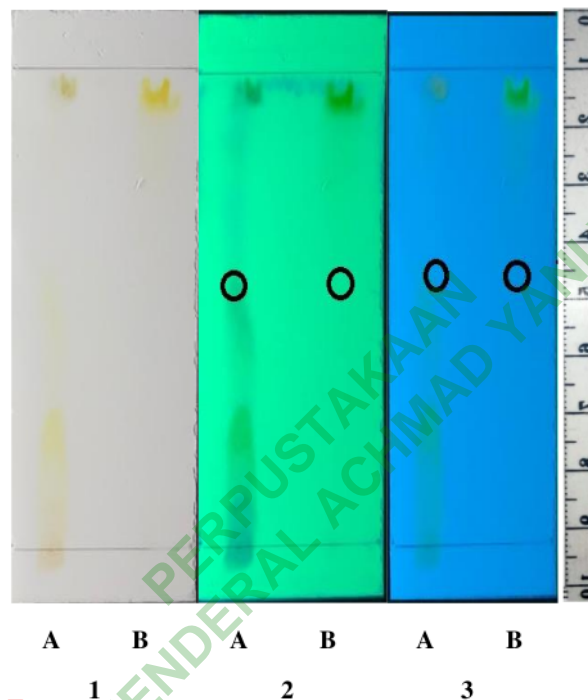
fase gerak sebanyak tiga kali dan diperoleh dengan hasil yang paling optimal sehingga hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 6. Hasil Optimasi Beberapa Fase Gerak Pada KLT

No	Fase Gerak	Hasil
1.	Toluen: Aseton: Asam format (4:4:2)	Sampel konsentrasi 10% memisah dengan baik tetapi lama jenuhnya. Penyelesain: fase gerak di tambah menjadi 15 ml.
2.	Kloroform: Metanol: Asam Asetat Glasiial (9: 1: 0,5)	Bercak sampel tidak ada yang sama dengan bercak standar kuarsetin dan untuk penjenuhan sangat lama. Penyelesain: konsentrasi sampel diturun kan menjadi 5% sedangkan kuarsetin 0,1%.
3.	Kloroform: Metanol: Asam Asetat Glasiial (14:2:1)	Sampel ekstrak 5% dan kuarsetin 0,1% memisah dengan baik, dan terlihat bercak yang sama antara sampel dan kuarsetin.

Dapat dilihat pada tabel 7 menunjukkan bahwa fase gerak Kloroform: Metanol: Asam Asetat Glasiial (14:2:1) yang paling baik dalam mengidentifikasi pemisahan senyawa menggunakan metode KLT dan kedua sampel yaitu daun rosella dengan konsentrasi 5% sedangkan untuk standar kuarsetin pada konsentrasi 0,1% yang dimana dapat memisah dengan baik dan terlihat bercak pada kedua sampel.

Setelah didapat fase gerak yang baik plat silika Gel diamatai menggunakan lampu sinar tampak, sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm. dimana Hasil uji KLT terhadap ekstrak etanol daun rosella dengan konsentrasi 5% dan standar kuarsetin pada konsentrasi 0,1% dapat dilihat pada gambar 5.



1 Gambar 5. Pengamatan Hasil KLT Melalui Sinar Tampak dan Sinar UV

Keterangan :

- 1: Ekstrak etanol daun Rosella pada sinar tampak
 - 2: Ekstrak etanol daun Rosella pada sinar UV 254 nm
 - 3: Ekstrak etanol daun Rosella pada sinar UV 366 nm
- A: Sampel daun Rosella yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, 30%.
 B: Standar kuarsetin 0,1%

Pada gambar 5 menunjukkan bahwa terlihat adanya bercak pada plat silika gel yang sudah di semprot menggunakan larutan $AlCl_3$. Pada standar

kuarsetin jarak elusi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol daun rosella.

Berdasarkan hasil yang telah diamati disinari tampak, sinar UV 254 mm dan sinar UV 366 . Dengan adanya bercak pada plat silika gel yang artinya memiliki senyawa flavanoid. Hasil uji KLT terhadap ekstrak etanol daun rosella dan standar kuarsetin dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 7. Hasil KLT

Sampel	Jarak elusi sampel (cm)	Sinar tampak	Sinar UV 254 (nm)	Sinar UV 366 (nm)	Nilai Rf	Menurut (Dahlia et al., 2012)
Ekstrak etanol daun Rosella	4,3 cm	Hijau tua	Hijau tua	Hijau	0,537	Hijau
Standar kuarsetin	4,5 cm	Kuning	Kuning	Kuning	0,562	Kuning

Pada tabel 8 dapat dilihat bahwa jarak elusi sampel ekstrak etanol daun rosella dengan nilai sebesar 4,3 cm sedangkan pada nilai Rf sebesar 0,537 dan standar kuarsetin dengan nilai jarak elusi sebesar 4,5 cm untuk nilai Rf sebesar 0,562. Setiap pengujian sinar UV warna yang dihasilkan sama dengan peneliti sebelumnya (Aprilia et al., 2015)

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri dipersiapkan terlebih dahulu bahan dan alat yaitu dengan pembuatan media. Uji aktivitas antibakteri ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol terdiri dari dua yaitu positif yang menggunakan antibiotik Ampisilin 10 μ g dan kelompok kontrol negatif menggunakan akuades. Kelompok perlakuan larutan uji ekstrak etanol daun rosella pada konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%.

Hasil pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram, Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan alat jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) beberapa cara

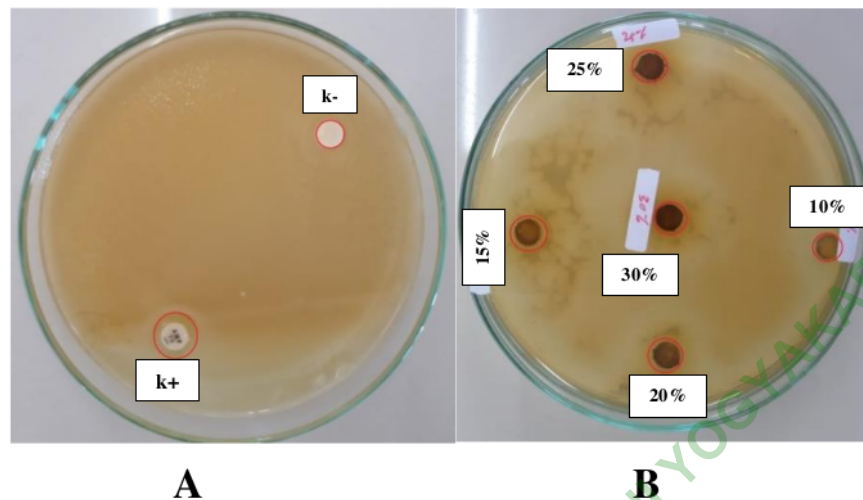
antara lain vertikal, horizontal, dan diagonal setelah itu dihitung nilai zona hambat dan dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 8. Rerata Diameter Zona Hambat Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*

Bakteri uji	Kelompok	Konsentrasi	Rerata ± SD (mm)	Kekuatan daya hambat antibakteri
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak etanol daun Rosella	10 %	7,14 ± 0,07	Sedang
		15 %	7,73 ± 0,84	Sedang
		20 %	7,92 ± 0,73	Sedang
		25 %	8,82 ± 0,50	Sedang
		30 %	9,34 ± 1,15	Sedang
	Kontrol positif (Ampisilin)	-	14,54 ± 7,37	Kuat
	Kontrol negatif (Akuades)	-	0	Lemah
<i>Salmonella typhi</i>	Ekstrak etanol daun Rosella	10 %	7,17 ± 0,80	Sedang
		15 %	7,48 ± 0,56	Sedang
		20 %	8,03 ± 1,25	Sedang
		25 %	8,86 ± 1,52	Sedang
		30 %	8,97 ± 1,57	Sedang
	Kontrol positif (Ampisilin)	-	23,91 ± 1,87	Sangat kuat
	Kontrol negatif (Akuades)	-	0	Lemah

Pada tabel 9 dapat dilihat bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ekstrak etanol daun rosella pada konsentrasi 10% yang paling minimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata 7,14 mm, Kemudian pada bakteri *Salmonella typhi* dengan menggunakan yang sama pada konsentrasi 10% yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata 7,17 mm. Untuk kelompok kontrol nilai yang paling besar adalah pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 14,54, *Salmonella typhi* dengan rata-rata sebesar 23,91.

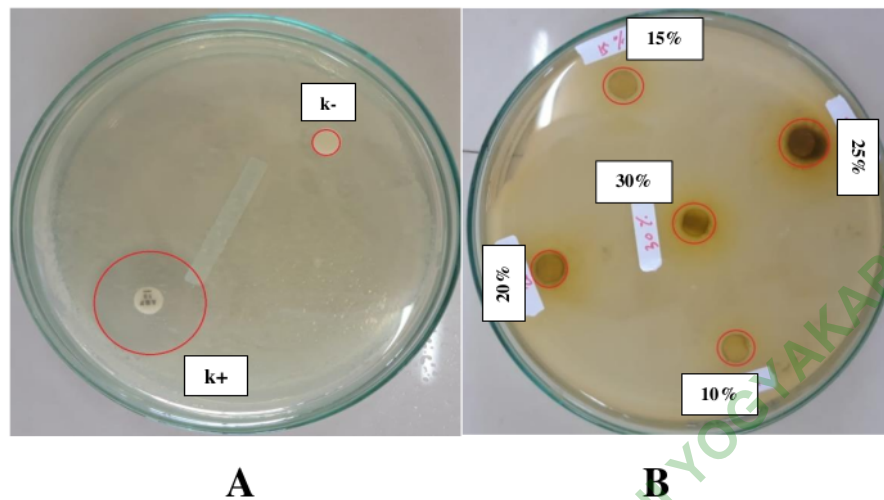
Kemudian hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rosella kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus. aureus* (B) Dengan Konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%, Kontrol Positif Antibiotik Ampisilin (A) Serta Kontrol Negatif Akuades.

Pada gambar 6 untuk kelompok antibiotik ampisilin (A) terdapat adanya zona bening sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada ekstrak etanol daun rosella (B) yang paling minimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 10%. Dapat diketahui bahwa uji aktivitas hambatan ekstrak etanol daun rosella terhadap *Staphylococcus. aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram kertas menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya daerah penghambatan berupa daerah zona bening di sekitar cakram uji dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

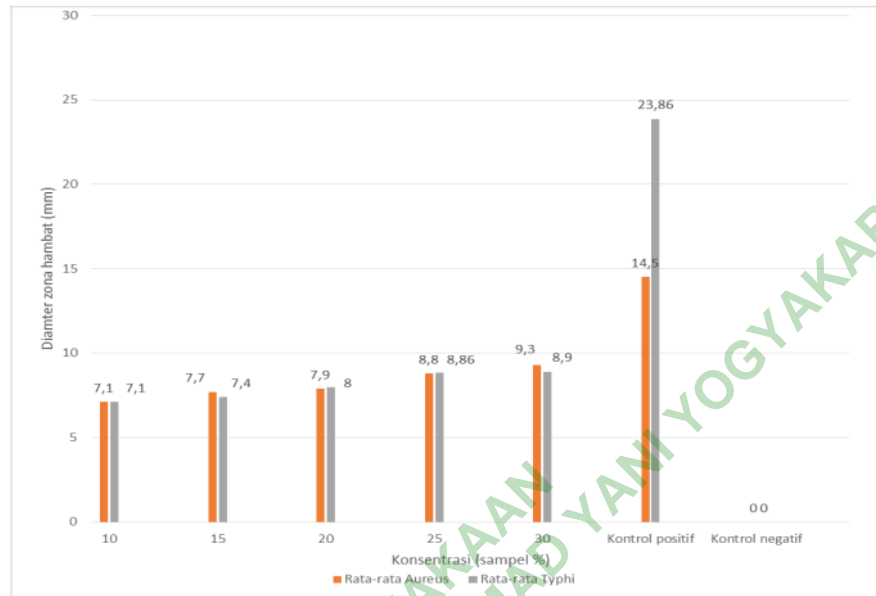
Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rosella kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella typhi* (B) Dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%, Kontrol Positif Antibiotik Ampisilin (A) Serta Kontrol Negatif Akuades.

Dapat dilihat pada gambar 7 dengan kelompok antibiotik ampisilin (A) terdapat ada nya zona bening sehingga dapat menghambat partumbuhan bakteri, sedangkan untuk ekstrak etanol daun rosella (B) yang paling minimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10%. Dapat diketahui bahwa uji aktivitas hambatan ekstrak etanol daun rosella dengan menggunakan metode difusi cakram kertas menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya daerah penghambatan berupa daerah zona bening di sekitar cakram uji dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Penelitian ini dilakukan untuk mengukur aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rosella terhadap bakteri *Staphylococcus.aureus* dan *Salmonella typhi*. Menunjukkan adanya zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol positif pada bakteri *Staphylococcus.aureus* dan *Salmonella typhi*. Hasil percobaan berdasarkan dari rata-rata diameter zona hambat dalam bentuk grafik batang yang dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*

Dari gambar 8 hasil rata-rata pada grafik diameter zona hambat secara keseluruhan dari ekstrak etanol daun rosella , pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata daerah penghambatan yang minimum adalah $(7,14 \pm 0,07)$ mm pada konsentrasi 10%. Sementara untuk bakteri *Salmonella typhi* data daerah penghambatan ekstrak etanol daun rosella secara keseluruhan, yang minimum adalah $(7,17 \pm 0,80)$ mm pada konsentrasi 10%. Pada perlakuan kelompok kontrol bakteri *Staphylococcus aureus* dengan data rata-rata sebesar $(14,54 \pm 7,37)$ dengan kategori sedang, sedangkan pada bakteri *Salmonella typhi* sebesar $(23,91 \pm 1,87)$ menunjukkan kategori sangat kuat .

5. Analisis Data

Analisis data diameter zona hambat dilakukan secara statistik dengan Uji ANOVA Satu Jalur (*One-Way ANOVA*) untuk membandingkan variasi

antar group menggunakan taraf signifikansi dengan nilai 95 % (α 0,05). Sebelum dianalisis secara statistik menggunakan uji *One-Way* ANOVA, dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 28.

Berdasarkan hasil pengolahan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 28, uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol nilai Sig >0,05 yang berarti untuk pengujian terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Data yang diperoleh pada diameter zona hambat yang dianalisis menggunakan uji *One-Way* ANOVA dengan program SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 28, sebelum dilakukan pengujian *One-Way* ANOVA. Dilakukan terlebih dahulu uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* pada uji homogenitas ($p > 0,05$). Hasil data analisis yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Analisis Data Menggunakan *One Way Anova* Pada Bakteri *Staphylococcus. aureus*

Diameter zona hambat	Kelompok	Konsentrasi	Uji normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	Uji homogenitas	Uji <i>Kruskal Wallis</i>
<i>S. aureus</i>	Ektstrak etanol daun Rosella	10%	.000	.001	.024
		15%	.193		
		20%	.948		
		25%	.846		
		30%	.799		
	Kontrol positif (Ampisilin)	-	.005		

Dapat dilihat pada tabel 10 hasil yang diperoleh bahwa uji homogenitas diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus. aureus* dengan nilai Sig. 0,01 nilai tersebut tidak terdistribusi normal sehingga data tersebut tidak bisa dilanjutkan karena tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji non parametik uji *Kruskal-Wallis*. Berdasarkan hasil yang diperoleh

dengan uji non parametik uji *Kruskal-Wallis* diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai Sig. 0,24. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan atau H_a diterima dan H_0 ditolak, karena nilai yang diperoleh $>0,05$.

Sedangkan pada bakteri *Salmonella typhi* Data yang diperoleh pada diameter zona hambat yang dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan program SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 28. Dilakukan terlebih dahulu uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* pada uji homogenitas ($p > 0,05$). Hasil data analisis yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil Analisis Data Menggunakan *One Way Anova* Pada Bakteri *Salmonella typhi*

Diameter zona hambat	Kelompok	Konsentrasi	Uji normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	Uji homogenitas	Uji <i>Kruskal Wallis</i>
<i>Salmonella typhi</i>	Ektstrak etanol daun Rosella	10%	.808	.400	.076
		15%	.454		
		20%	.830		
		25%	.668		
		30%	.678		
	Kontrol positif (Ampisilin)	-	.390		

Pada tabel 11 dapat dilihat bahwa Pengukuran uji homogenitas dan uji *One-Way ANOVA* dilakukan secara bersamaan. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* Sig. 0,04 artinya data tersebut tidak terdistribusi normal. dan Sig 0,76 yang artinya diameter zona hambat terbentuk terhadap bakteri *Salmonella typhi* memiliki perbedaan aktivitas antibakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan atau H_a diterima dan H_0 ditolak, karena nilai yang diperoleh $>0,05$.

Keterangan :

H0 : daun Rosella tidak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*

Ha : daun Rosella dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*

B. Pembahasan

Daun rosella adalah tanaman yang setiap bagiannya mengandung senyawa dan dapat dimanfaatkan sebagai obat, kandungan bahan aktif daun rosella antara lain sebagai aktivitas antibakteri, rasa nyeri, mengobati kaki pecah-pecah, luka bakar ringan, dan penyakit kulit seperti bisul. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri di dalam daun rosella yaitu alkaloid, flavanoid, saponin, tanin dan polifenol (Samsuharto, 2008). Pada penelitian ini ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa tersebut.

1. Penyiapan sampel

Daun rosella diambil dari Krajan I, RT 02/RW 01, Kiyudan, Majaksingi, Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah 56553 yang terletak di ketinggian 265 mdpl. $7^{\circ} 36' 28' \text{ LS}$ dan $110^{\circ} 12' 13' \text{ BT}$. Kemudian daun rosella dicuci dengan air yang mengalir dan dipindahkan ke dalam ranjang. Setelah itu pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C . Pengeringan dengan suhu tersebut dapat mengurangi kadar air pada daun rosella sampai batas dimana mikroorganisme dan enzim yang dapat menyebabkan pembusukan akan terhenti, dengan demikian bahan yang dikeringkan mempunyai waktu simpan yang lama. Kemudian, pengolahan daun rosella dijadikan serbuk menggunakan grinder. Bertujuan dibuat menjadi serbuk agar memudahkan proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut dalam jaringan tumbuhan.

Ekstrak etanol daun rosella yang telah dijadikan serbuk untuk pembuatan ekstrak kental daun rosella menggunakan metode maserasi atau perendaman selama 3 hari dan remaserasi 1 hari. Maserasi yaitu cara

mengekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut pada suhu kamar, sehingga tidak terjadi kerusakan atau degradasi metabolit pada ekstrak (Agustina, dkk., 2017). Dilakukan remaserasi yaitu suatu proses perendaman kembali daun rosella dengan pelarut yang baru hasil ampas dari penyaringan direndam dengan pelarut. Serbuk daun rosella dimasukkan ke dalam sebuah toples kaca yang sebelumnya sudah dilapisi menggunakan lakban yang berwarna hitam dan disimpan ke tempat yang lebih gelap. Bertujuan disimpan di tempat yang gelap untuk menghindari reaksi yang dikatalisis serta mencegah terjadinya perubahan warna. Daun rosella direndam dengan pelarut etanol 70% , pemilihan pelarut etanol 70% sebagai ekstraksi dikarenakan adanya kemampuan yang lebih baik dalam menarik bahan aktif yang terdapat di dalam sampel dibandingkan dengan pelarut lainnya dan etanol memiliki sifat non toksik, serta mampu menarik senyawa yang lebih banyak pada simplisia (Baud et al., 2014).

2. Pengujian kontrol kualitas ekstrak etanol daun rosella

Setelah didapat ekstrak etanol daun rosella kental dilakukan pengamatan antara lain organoleptik, skrining fitokimia, pemisahan senyawa dengan metode KLT. Bertujuan untuk mengetahui dan memastikan bahwa daun rosella memiliki hasil yang sama pada penelitian sebelumnya.

a. Pengujian organoleptik

Ekstrak etanol daun rosella dilakukan pengamatan secara fisik dengan cara sederhana yaitu menggunakan indera manusia yang diperoleh dalam pengamatan yaitu memiliki tekstur yang kental, berbau aromatik, berwarna kecoklatan, dan rasa yang asam.

b. pengujian pada skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia yang meliputi identifikasi senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, dan tanin. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan

menggunakan suatu pereaksi yang telah ditentukan. Hal yang mempengaruhi dalam proses ini yaitu pada saat pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Agustina, dkk., 2017).

Pada senyawa alkaloid yang bersifat basa maka ditambahkan pelarut HCl 2 N berfungsi untuk menarik asam sehingga terbentuk garam dan akan terpisah dengan komponen-komponen lain, untuk hasil yang didapat adalah positif dimana menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rosella memiliki senyawa alkaloid (Sianipar & Siahaan, 2017). Senyawa pada flavanoid menggunakan pelarut etanol 70% karena bersifat polar sehingga akan terlarut pada pelarut polar, hasil yang didapat adalah positif dengan adanya warna merah menyalah akibat dari penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat (Alfaridz & Amalia, 2018). Pengujian pada senyawa saponin dilakukan penambahan air panas, bertujuan agar ekstrak lebih mudah larut pada saat penggojokan. Menunjukkan adanya kandungan saponin terbentuknya busa karena senyawa saponin memiliki glikosil yang bersifat polar dan non polar sehingga pada saat penggojokan akan terbentuk misel. Struktur misel yaitu gugus polar yang menghadap ke luar, sedangkan non polar menghadap ke dalam (Santosa et al., 2018). Pengujian senyawa tanin dengan penambahan $FeCl_3$ yang akan bereaksi dengan gugus hidrosil sehingga terbentuk warna hitam kehijauan yang artinya tanin terkondensasi (Hidjrawan Yusi, 2018).

c. pengujian pemisahan senyawa menggunakan metode KLT

Pemisahan dengan menggunakan metode KLT bertujuan untuk mengetahui nilai atau ukuran yang mana didapat berdasarkan posisi noda setiap zat terlarut pada plat kromatografi lapis tipis. Prinsip metode KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan fase

diam (adsorben) dan fase gerak (eluen) yang digunakan. Standar yang digunakan yaitu kuarsetin. Kuarsetin merupakan flavonol yang dapat ditemukan di dalam buah, sayur, dan daun. Flavonol adalah golongan dari flavanoid. Identifikasi pemisahan senyawa dianalisis dengan cara menghitung nilai Rf. Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform:metanol:asam asetat (14:2:1) karena untuk fase gerak ini dapat menghasilkan bercak pada ekstrak etanol daun rosella dan standar kuarsetin tidak terjadi *tailing*. Berdasarkan jarak elusi sampel dan nilai Rf diperoleh bahwa ekstrak etanol daun rosella memiliki nilai kesamaan pada standar kuarsetin, yang artinya bahwa daun rosella memiliki karakteristik yang sama pada standar kuarsetin.

3. Uji aktivitas antibakteri

pada antibakteri dengan menggunakan metode Kirby-Bauer yaitu dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri pada media Agar Mueller-Hinton yang sudah memadat kemudian diratakan bakteri menggunakan batang L. Menurut peneliti sebelumnya Utomo et al., (2018) MHA digunakan karena mengandung nutrisi yang sesuai untuk kultur bakteri. Selain itu MHA bersifat netral, dan tidak mempengaruhi prosedur uji antibakteri. Ketebalan media MHA dalam cawan petri juga diseragamkan dengan cara menyamakan volume yang digunakan. Selanjutnya *disk* yang direndam terlebih dahulu kurang lebih lima menit, bertujuan agar zat yang ada di ekstrak melekat pada *disk* selanjutnya diletakkan diatas media. Dimana untuk bakteri yang digunakan adalah *S. aureus* dan *Salmonella typhi*.

Pada pengujian kali ini menggunakan ekstrak daun rosella dengan konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Adapun sebagai pembanding yang digunakan yaitu kontrol positif (Ampisilin) dan kontrol negatif (akuades). Penentuan seri konsentrasi uji ini didasarkan pada penelitian Putri et al., (2019) dimana bahwa semakin kecil konsentrasi

(10%) maka akan semakin rendah zona hambat yang ditemukan. Tujuan dari pembuatan seri konsentrasi ini adalah untuk melihat perbedaan dari zona hambat yang dihasilkan oleh jenis konsentrasi yang berbeda. Sedangkan kontrol positif digunakan untuk melihat adanya pertumbuhan dari kedua bakteri tersebut. Pemilihan antibiotik Ampisilin karena mampu menghambat sintesis dinding sel mikroba, menghambat enzim transeptidase, menyebabkan tidak terjadinya biosintesis sel dan merupakan antibiotik berspektrum luas yang efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Akbar & Budiarti, 2016). Pada kontrol negatif menggunakan akuades untuk menentukan bahwa zona hambat yang terbentuk bukan karena pelarut, melainkan dari senyawa zat aktif yang terkandung pada sampel.

Zona bening/zona hambat yang sudah terbentuk dapat diukur dengan menggunakan alat jangka sorong dengan tiga kali optimasi dari sisi yang berbeda yaitu horizontal, vertikal, dan diagonal. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rosella memiliki senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* penelitian ini sesuai yang dilakukan oleh Samsuharto, (2008), Pada penelitian tersebut terdapat zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol daun rosella. Sedangkan untuk kontrol positif (ampisilin) menunjukkan bahwa terdapat zona bening pada cawan petri dan hasil yang diperoleh lebih baik dibandingkan ekstrak etanol daun rosella (Radji, 2011).

Selain itu juga ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa saponin, flavanoid, dan tanin yang memiliki efek sebagai antibakteri. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri et al., (2019), dan Samsuharto, (2008) bahwa senyawa-senyawa ini antara lain flavanoid, saponin, dan tanin memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa flavanoid

sebagai antibakteri yang dapat menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel, lisosom dan mikrosom (Alfaridz & Amalia, 2018). Senyawa pada saponin bekerja menurunkan tegangan permukaan dimana mengakibatkan senyawa intraseluler menjadi keluar dan terjadinya kebocoran sel (Santosa et al., 2018). Mekanisme kerja tanin adalah kemampuannya untuk berkontraksi sel, mengakibatkan kerusakan membran dan gangguan permeabilitas sel yang mencegah penetrasi nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri, yang menyebabkan kematian pada sel (Hidjrawan Yusi, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian bahwa nilai ¹⁶ Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi minimal zat antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam dan tidak tumbuh koloni bakteri yang diketahui dengan cara mengamati koloni bakteri yang tumbuh, konsentrasi yang paling minimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus. aureus* dan *Salmonella typhi* yakni konsentrasi 10% dengan diameter zona hambat masing-masing 7,14 mm dan 7,17 mm. Sedangkan untuk konsentrasi yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus. aureus* dan *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 30% pada diameter zona hambat 9,34 mm dan 8,97 mm. kontrol positif Ampisilin ² terhadap bakteri *Staphylococcus. aureus. aureus* dan *Salmonella typhi* masing-masing 14,5 mm dan 23,86 mm. pada konsentrasi 10% ini termasuk kategori sedang untuk sampel ekstrak etanol daun rosella sedang kan pada konsentrasi 30% yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan kategori sedang. Pada kontrol positif termasuk kategori sangat kuat (Putri et al., 2019).

² Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus. aureus*) dan bakteri gram negatif (*Salmonella typhi*) pada konsentrasi ekstrak memiliki sifat dan

karakteristik yang berbeda dalam merespon bahan antibakteri. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri beberapa lapisan peptidoglikan yaitu membentuk struktur yang tebal dan kaku serta dengan mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan pada dinding sel bakteri Gram negatif hanya terdiri dari satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan. Dinding sel pada bakteri Gram negatif hanya mengandung lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat dikarenakan hanya memiliki sejumlah kecil peptidoglikan, oleh karena itu dinding sel bakteri gram negatif lebih rentan terhadap getaran fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya (Kumakauw et al., 2020). Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rosella lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dari pada pertumbuhan bakteri Gram negatif. Senyawa flavanoid, saponin dan tanin diketahui bersifat polar sehingga senyawa tersebut akan mudah menembus lapisan peptidoglikan pada lapisan lipid. Hal ini dikarenakan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *Salmonella typhi* (Kumakauw et al., 2020).

Untuk mendukung hasil ini maka dilakukan uji analisis *One Way ANOVA* tujuan dilakukan analisis adalah untuk membedakan rata-rata antar kelompok dari suatu percobaan yang memiliki sampel lebih dari 2 kelompok. Sebelum dilakukan uji *One-Way ANOVA*, harus melakukan uji normalitas dan homogen. Uji normalitas dilakukan dengan cara *Shapiro Wilk*, sedangkan pada uji homogenitas dilakukan secara bersamaan dengan *One-Way ANOVA*. Hasil data dikatakan normal apabila memiliki nilai yang signifikan $>0,05$. Pada penelitian ini nilai normalitas zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*. *aureus* dan *Salmonella typhi* menunjukkan nilai $>0,05$, sehingga data tersebut dapat dikatakan normal.

Hasil data yang dikatakan homogen yaitu memiliki nilai yang signifikan $>0,05$. Pada penelitian ini diperoleh nilai homogen yang diperoleh pada bakteri *Staphylococcus aureus. aureus* Sig. 0,01 dan bakteri *Salmonella typhi* Sig. 0,04 yang artinya homogen. Kemudian dilakukan uji *One-Way ANOVA*, apabila nilai yang diperoleh $<0,05$ maka terdapat perbedaan (H_0) sedangkan pada nilai yang diterima (H_a), jika nilai yang diperoleh $>0,05$ maka tidak ada perbedaan atau H_0 diterima dan H_a ditolak. Pada penelitian hasil uji *One-Way ANOVA* memiliki nilai signifikan $>0,05$ yang artinya terdapat perbedaan antar konsentrasi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA
PERPUSTAKAAN

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dapat disimpulkan bahwa:

1. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun rosella tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* karena daun rosella memiliki kandungan senyawa flavanoid, saponin, dan tanin.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yaitu zat antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* adalah konsentrasi 10%.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka peneliti menyarankan untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Mengembangkan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rosella dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri yang berbeda dengan menggunakan metode sumuran.
2. Diperlukan pengujian lebih lanjut terhadap potensi lain dari daun rosella.

Cek Plagiarisme Skripsi_FINAL_UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN ROSELLA (Hibiscus sabdariffa L) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM

ORIGINALITY REPORT

24%

SIMILARITY INDEX

24%

INTERNET SOURCES

9%

PUBLICATIONS

4%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.unjaya.ac.id Internet Source	10%
2	ejournal.unsrat.ac.id Internet Source	2%
3	ejournal.helvetia.ac.id Internet Source	2%
4	www.researchgate.net Internet Source	2%
5	id.scribd.com Internet Source	1%
6	pt.scribd.com Internet Source	1%
7	ojs.ikipmataram.ac.id Internet Source	1%
8	text-id.123dok.com Internet Source	1%

9	www.scribd.com Internet Source	1 %
10	jurnal.untad.ac.id Internet Source	1 %
11	idoc.pub Internet Source	<1 %
12	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
13	repo.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
14	jurnal.uns.ac.id Internet Source	<1 %
15	jurnal.untan.ac.id Internet Source	<1 %
16	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
17	macemmacemblog.blogspot.com Internet Source	<1 %
18	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1 %

Exclude quotes Off
Exclude bibliography On

Exclude matches < 25 words

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA
PERPUSTAKAAN