

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FRAKSI TERAKTIF DAUN PACAR KUKU
(*Lawsonia inermis* Linn.) TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

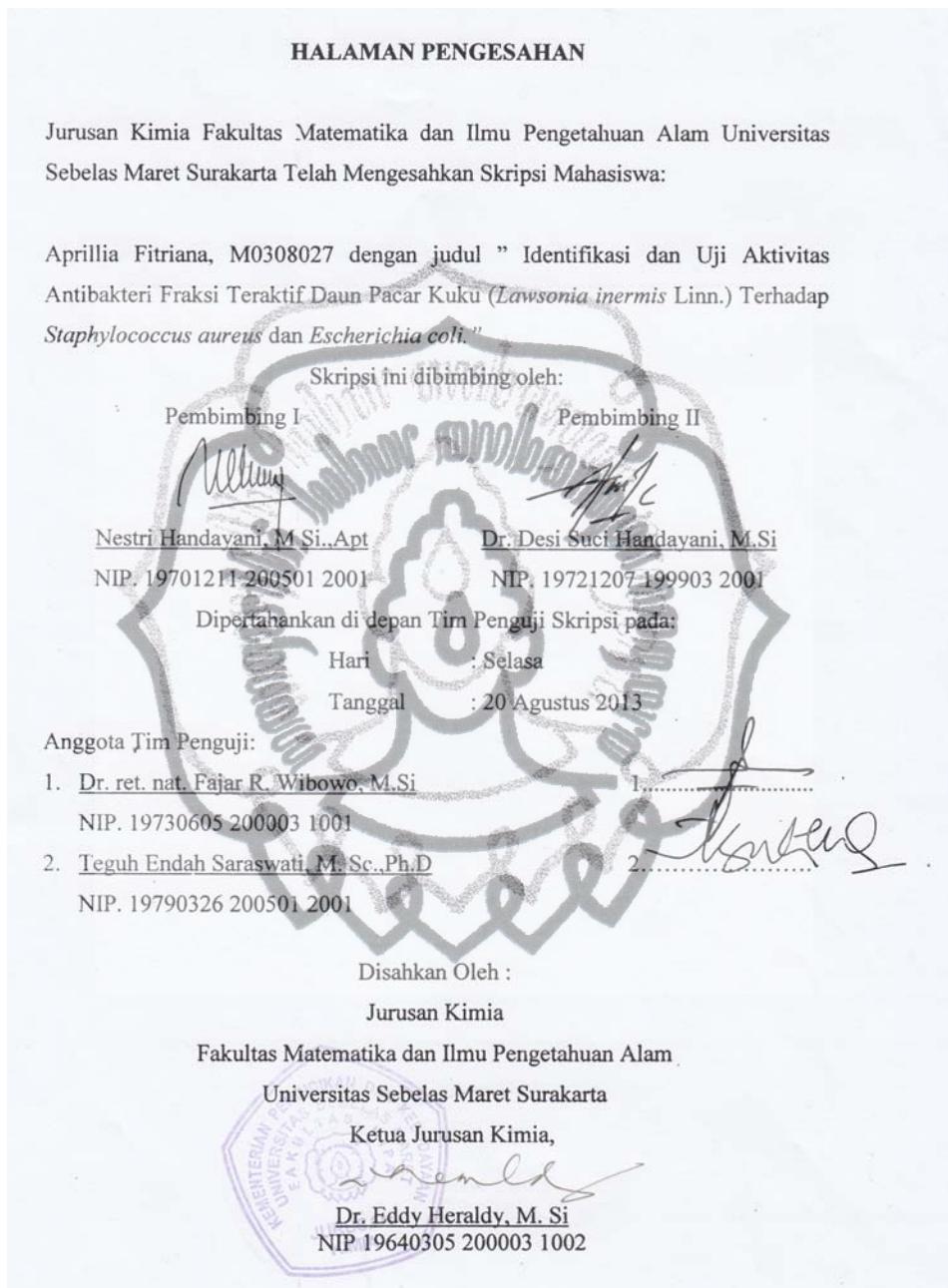


SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam bidang ilmu Kimia

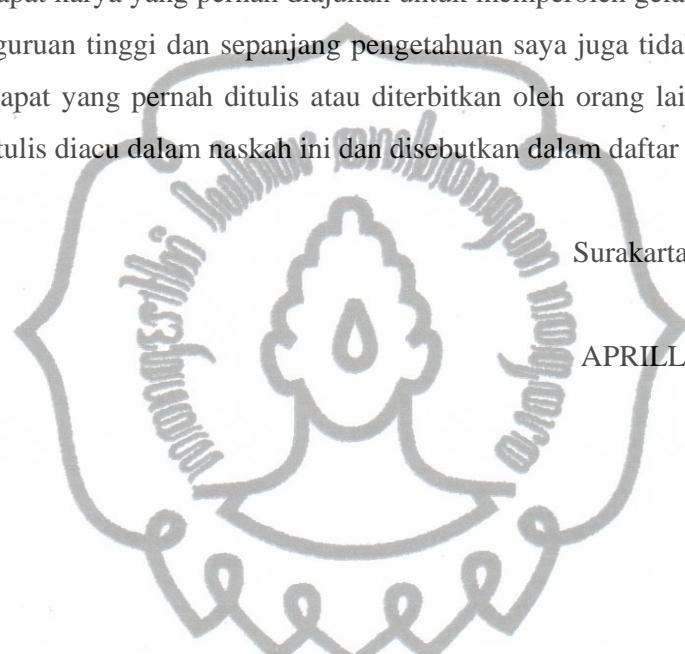
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA

Agustus 2013
commit to user



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul “IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI TERAKTIF DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* Linn.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* “ adalah benar-benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, Agustus 2013

APRILLIA FITRIANA

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FRAKSI TERAKTIF DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* Linn.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

APRILLIA FITRIANA

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fraksi teraktif diperoleh dari hasil pemisahan kromatografi vacum cair (KVC) ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang telah melalui tahap maserasi dengan pelarut etanol 70%. Proses KVC dilakukan dengan menggunakan tiga eluen yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Komponen kimia dalam fraksi teraktif diidentifikasi melalui skrining fitokimia dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS).

Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fraksi etil asetat adalah fraksi teraktif anti bakteri. Potensi anti bakteri fraksi etil asetat sebesar $3,58 \times 10^{-3}\%$ untuk *Staphylococcus aureus* dan $7,82 \times 10^{-3}\%$ untuk *Escherichia coli* bila dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin HCl. Potensi antibakteri fraksi etil asetat daun pacar kuku lebih kecil daripada fraksi etil asetat kulit batang pacar kuku, namun lebih besar daripada fraksi etil asetat umbi lobak (*Raphanus sativus*) dan daun johar (*Cassia siamea* Lamk.) ditinjau dari nilai diameter daerah hambat.

Identifikasi senyawa dalam fraksi teraktif melalui kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, terpenoid, antrakuinon, saponin, dan asam lemak. Analisis GC-MS menunjukkan adanya senyawa dominan *2-pentanone,4-hydroxy-4 methyl, 2-propanol,1,1'-oxybis (CAS) dipropylene glycol, coumarin, dibutylphthalate, hexadecanoic acid, methyl ester, dan 10-octadecanoic acid*.

Kata kunci : *Lawsonia inermis* Linn., antibakteri, fraksi teraktif, identifikasi

**IDENTIFICATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF THE
MOST ACTIVE FRACTION OF PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* Linn.)
LEAF AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli***

APRILLIA FITRIANA

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Sebelas Maret University

ABSTRACT

The test of antibacterial activity of the most active fraction of pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) leaf against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* has been conducted. The most active fraction was obtained by liquid vacuum chromatography crude extract of ethanol. The crude extract of ethanol was extracted through a maceration using ethanol 70%. Liquid vacuum chromatography was carried out using three eluents such as n-hexane, ethyl acetate, and ethanol. The test of antibacterial activity was evaluated by agar diffusion method. The most active fraction's compounds were identified by screening phytochemical using thin layer chromatography and gass chromatography-mass spectrometry.

The test of antibacterial activity indicated crude extract of ethanol and pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) leaf's fractions have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Ethyl acetate fraction was the most active fraction for all bacterial tested. The potensial of anti bacterial of ethyl acetate fraction was $3.58 \times 10^{-3}\%$ for *Staphylococcus aureus* and $7.82 \times 10^{-3}\%$ for *Escherichia coli*, compared with tetracycline HCl. The potensial of antibacterial of ethyl acetate fraction pacar kuku leave was less than pacar kuku bark, but more than ethyl acetate fraction radish root (*Raphanus sativus*) and johar leave (*Cassia siamea*) from its zone of inhibition.

Identification of the most active fraction's compounds identified by thin layer chromatography showed ethyl acetate fraction contains flavonoids, terpenoids, anthraquinones, saponin, and fatty acid. The analysis of GC-MS showed ethyl acetate fraction contains 2-pentanone, 4-hydroxy-4-methyl, 2-propanol, 1,1'-oxybis (CAS) dipropylene glycol, coumarin, dibutylphthalate, hexadecanoic acid, methyl ester, and 10-octadecanoic acid.

Key word : *Lawsonia inermis* Linn., antibacterial, ethyl acetate fraction, identification

MOTTO

Hanya pada Allah saja kiranya aku tenang,
sebab dari pada-Nyalah harapanku
(Mazmur 62 :6)

With love and patience, nothing is impossible
(Daisaku Ikeda)

Tugas di hadapan kita
tidak pernah sebesar kekuatan di belakang kita
(Mario Teguh)



PERSEMBAHAN



Karya kecil ini kupersembahkan untuk:

Tuhan Yang Maha Esa, atas kasih karunia dan penyertaan-Nya..

Ibuku tercinta, atas kasih sayang, dukungan, dan doa..

Adik-adikku, Ayu dan Arga, atas motivasi yang diberikan..

Teman-temanku Kimia 2008..

Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini..

Universitas Negeri Sebelas Maret, almamaterku..

KATA PENGANTAR

commit to user

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” ini dengan baik.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini, khususnya kepada

1. Bapak Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc.,PhD selaku Dekan FMIPA UNS.
2. Bapak Dr. Eddy Heraldy, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNS.
3. Ibu Nestri Handayani,M.Si.,Apt., selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama menyelesaikan skripsi.
4. Ibu Dr. Desi Suci Handayani, M.Si., selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama menyelesaikan skripsi.
5. Bapak Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan saran dan motivasi kepada penulis selama masa studi.
6. Bapak Edi Pramono, M.Si, selaku Ketua Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS.
7. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA UNS atas ilmu yang berguna dalam penyusunan skripsi ini.
8. Para laboran di Laboratorium Kimia FMIPA UNS dan Sub Laboratorium Biologi atas bantuan dan kerja sama yang baik.
9. Sahabat seperjuangan, “Dwike”, terima kasih atas dukungan dan kerja sama yang baik selama menghadapi tantangan selama skripsi. Untuk “Mbak Tia”, terima kasih atas bantuannya.
10. Sahabat – sahabatku “ Dhoni, Illu, Christine, Vio, Jati, Nurul, dan Ucik” terima kasih atas kebersamaan dan persahabatan yang hangat selama ini.
11. Teman-teman Kimia 2008, kakak dan adik tingkat yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas dukungan dan kebersamaannya selama ini.

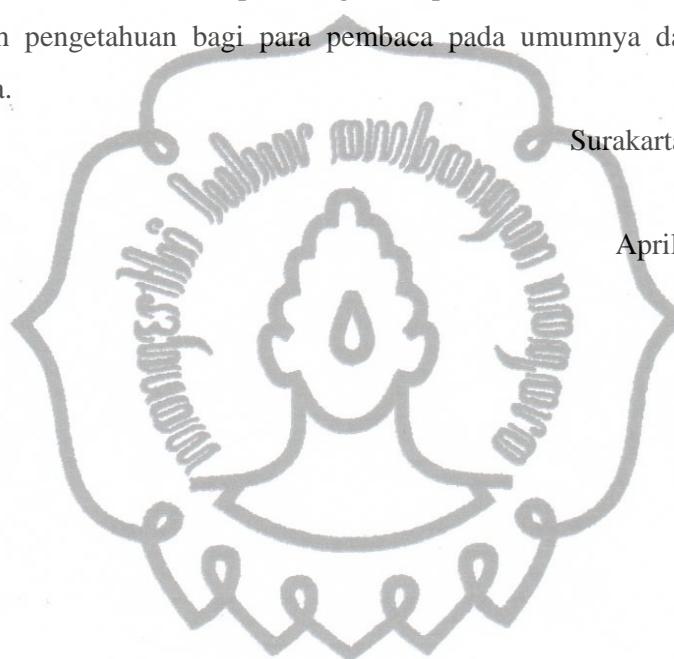
commit to user

12. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan serta penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi para pembaca pada umumnya dan penulis pada khususnya.

Surakarta, Agustus 2013

Aprillia Fitriana



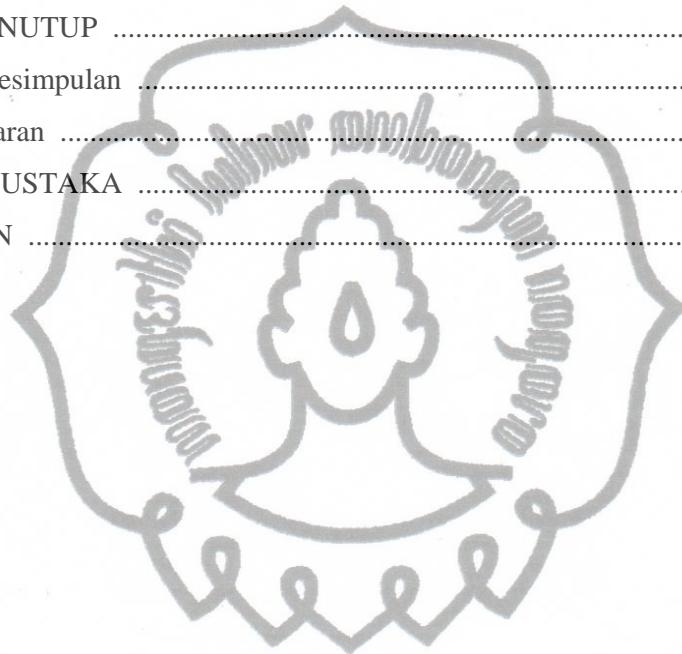
DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT | v |
| MOTTO | vi |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 2 |
| 1. Identifikasi Masalah | 2 |
| 2. Batasan Masalah | 3 |
| 3. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 4 |
| D. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II. LANDASAN TEORI | 6 |
| A. Tinjauan Pustaka | 6 |
| 1. Tanaman Pacar Kuku (<i>Lawsonia inermis</i> Linn.) | 6 |
| a. Klasifikasi Tanaman | 6 |
| b. Deskripsi Tanaman | 6 |
| c. Kandungan dan Manfaat Tanaman | 7 |
| 2. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam | 9 |
| a. Ekstraksi | 9 |
| b. Kromatografi | 9 |

| | |
|--|-----------|
| b.1. Kromatografi Lapis Tipis | 10 |
| 1). Fase Diam | 10 |
| 2). Fase Gerak | 10 |
| b.2. Kromatografi Vacum Cair | 11 |
| b.3. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa | 11 |
| 3. Bakteri dan Klasifikasi Bakteri | 12 |
| 4. Antibakteri dan Antibiotik | 15 |
| 5. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri | 16 |
| 6. Uji Banding | 16 |
| B. Kerangka Pemikiran | 17 |
| C. Hipotesis | 18 |
| BAB III. METODOLOGI PENELITIAN | 20 |
| A. Metode Penelitian | 20 |
| B. Waktu dan Tempat Penelitian | 20 |
| C. Alat dan Bahan | 20 |
| D. Prosedur Penelitian | 21 |
| 1. Identifikasi dan Determinasi Bahan Awal | 21 |
| 2. Persiapan Sampel | 21 |
| 3. Isolasi Senyawa Kimia | 21 |
| 4. Pemisahan Ekstrak Etanol | 21 |
| 5. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Pacar Kuku | 22 |
| 6. Pengujian Golongan Senyawa Fraksi Teraktif | 23 |
| 7. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa | 25 |
| E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data | 25 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 26 |
| A. Identifikasi Sampel (Tanaman) | 26 |
| B. Preparasi dan Ekstraksi Sampel | 26 |
| C. Pengujian Awal Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku | 27 |
| D. Pemisahan Ekstrak Etanol | 28 |
| E. Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Hasil KVC Daun | |

commit to user

| | |
|--|-----------|
| Pacar Kuku | 29 |
| F. Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Tetrasiklin HCl.... | 31 |
| G. Penetapan Nilai Banding Fraksi Etil Asetat Terhadap Tetrasiklin HCl | 33 |
| H. Skrining Fitokimia Senyawa Aktif Antibakteri | 34 |
| I. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS) | 36 |
| BAB V. PENUTUP | 47 |
| A. Kesimpulan | 48 |
| B. Saran | 48 |
| DAFTAR PUSTAKA | 59 |
| LAMPIRAN | 55 |



DAFTAR TABEL

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel 1. | Karakteristik Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif | 13 |
| Tabel 2. | Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku | 28 |
| Tabel 3. | Hasil Pemisahan dengan Kromatografi Vacum Cair Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku | 29 |
| Tabel 4. | Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi-Faksi Hasil KVC Daun Pacar Kuku | 30 |
| Tabel 5. | Hasil Pengujian Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Tetrasiklin HCl terhadap Bakteri Uji | 32 |
| Tabel 6. | Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku dengan KLT | 35 |
| Tabel 7. | Hasil Analisis GC-MS Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku | 37 |
| Tabel 8. | Fragmentasi senyawa puncak 3 dibandingkan dengan standar <i>2-pentanone, 4-hydroxy-4-methyl</i> | 38 |
| Tabel 9. | Fragmentasi senyawa puncak 6 dibandingkan dengan standar <i>2-Propanol, 1,1'-oxybis (CAS) Dipropylene glycol</i> | 39 |
| Tabel 10. | Fragmentasi senyawa puncak 10 dibandingkan dengan standar <i>2,3-dihydrobenzofuran</i> | 40 |
| Tabel 11. | Fragmentasi senyawa puncak 10 dibandingkan dengan standar <i>coumarin</i> | 41 |
| Tabel 12. | Fragmentasi senyawa puncak 13 dibandingkan dengan standar <i>benzaldehyde, 4-(dimethylamino)</i> | 42 |
| Tabel 13. | Fragmentasi senyawa puncak 13 dibandingkan dengan standar <i>dibutylphthalate</i> | 42 |
| Tabel 14. | Fragmentasi senyawa puncak 17 dibandingkan dengan standar <i>hexadecanoic acid, methyl ester</i> | 43 |
| Tabel 15. | Fragmentasi senyawa puncak 21 dibandingkan dengan standar <i>10-Octadecenoic acid</i> | 45 |
| Tabel 16. | DDH (mm) Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku (<i>Lawsonia</i> | |

| | |
|--|----|
| <i>inermis</i> Linn.) dengan Fraksi Etil Asetat Tiga Bagian Tanaman Antibakteri yang Berbeda terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 46 |
|--|----|



commit to user

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|------------|--|----|
| Gambar 1. | Tanaman Pacar Kuku (<i>Lawsonia inermis</i> Linn.) | 6 |
| Gambar 2. | Senyawa –senyawa utama dalam fraksi metanol daun pacar kuku (<i>Lawsonia inermis</i> Linn.) | 7 |
| Gambar 3. | Skema GC-MS | 12 |
| Gambar 4. | Struktur dasar sel bakteri | 12 |
| Gambar 5. | Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> | 13 |
| Gambar 6. | Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| Gambar 7. | Struktur Tetrasiklin HCl | 16 |
| Gambar 8. | Kromatogram GC-MS fraksi etil asetat daun pacar kuku | 36 |
| Gambar 9. | Spektra massa senyawa puncak 3 dan senyawa 2- <i>pentanone,4- hydroxy-4-methyl</i> | 38 |
| Gambar 10. | Spektra massa senyawa puncak 6 dan 2- <i>Propanol,1,1'-oxybis (CAS) Dipropylene glycol</i> | 39 |
| Gambar 11. | Spektra massa senyawa puncak 10 dan 2,3- <i>dihydrobenzofuran</i> | 40 |
| Gambar 12. | Spektra massa senyawa puncak 13 dan senyawa <i>benzaldehyde,4-(dimethylamino)</i> | 42 |
| Gambar 13. | Spektra massa senyawa puncak 17 dan <i>Hexadecanoic acid</i> .. | 43 |
| Gambar 14. | Spektra massa senyawa puncak 21 dan <i>10-Octadecenoic acid</i> | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|--------------|---|----|
| Lampiran 1. | Diagram Alir Prosedur Penelitian | 55 |
| Lampiran 2. | Hasil Determinasi Tanaman Pacar Kuku (<i>Lawsonia inermis</i> Linn.) | 58 |
| Lampiran 3. | Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan KVC | 59 |
| Lampiran 4. | Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku | 61 |
| Lampiran 5. | Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan KVC pada Konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25 % | 62 |
| Lampiran 6. | Uji Normalitas Kolmogorof-Smirnov Diameter Daerah Hambat (DDH) Fraksi Daun Pacar Kuku terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 64 |
| Lampiran 7. | T-test Pengaruh Variasi Fraksi Hasil KVC Konsentrasi 25% terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 65 |
| Lampiran 8. | T-test Pengaruh Variasi Fraksi Hasil KVC Konsentrasi 50% terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 66 |
| Lampiran 9. | T-test Pengaruh Variasi Fraksi Hasil KVC Konsentrasi 75% terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 67 |
| Lampiran 10. | T-test Pengaruh Variasi Fraksi Hasil KVC Konsentrasi 100% terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> | 68 |
| Lampiran 11. | Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Antibiotik Tetrasiklin HCl | 69 |
| Lampiran 12. | Nilai Banding Fraksi Etil Asetat terhadap Antibiotik Tetrasiklin HCl | 70 |
| Lampiran 13. | Hasil Uji KLT Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku | 72 |
| Lampiran 14. | Analisa GC-MS Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku | 73 |