

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN  
MAJAPAHIT (*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**



**OLEH :**

**AULYA FITRIA RAHMAWATI**

**1813206003**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI**

**STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT  
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi  
(S. Farm)

Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

**AULYA FITRIA RAHMAWATI**

**1813206003**

**PROGARAM STUDI S1 FARMASI**

**STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT  
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* ATCC 25923 SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**Yang diajukan oleh :**

**AULYA FITRIA RAHMAWATI**

**1813206003**

**Tanggal, 12 Agustus 2022**

**Telah disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Pendamping,**

**apt. Choirul Huda, M.Farm**  
NIDN.0726038502

**Fatimah, M.Biotech**  
NIDN.0718129002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT  
(*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus  
aureus* ATCC 25923 SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh :

**AULYA FITRIA RAHMAWATI**

**1813206003**

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji  
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal :

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda, M.Farm (.....)

Anggota Penguji : 1. Fatimah, M.Biotech (.....)

2. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm (.....)

3. Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

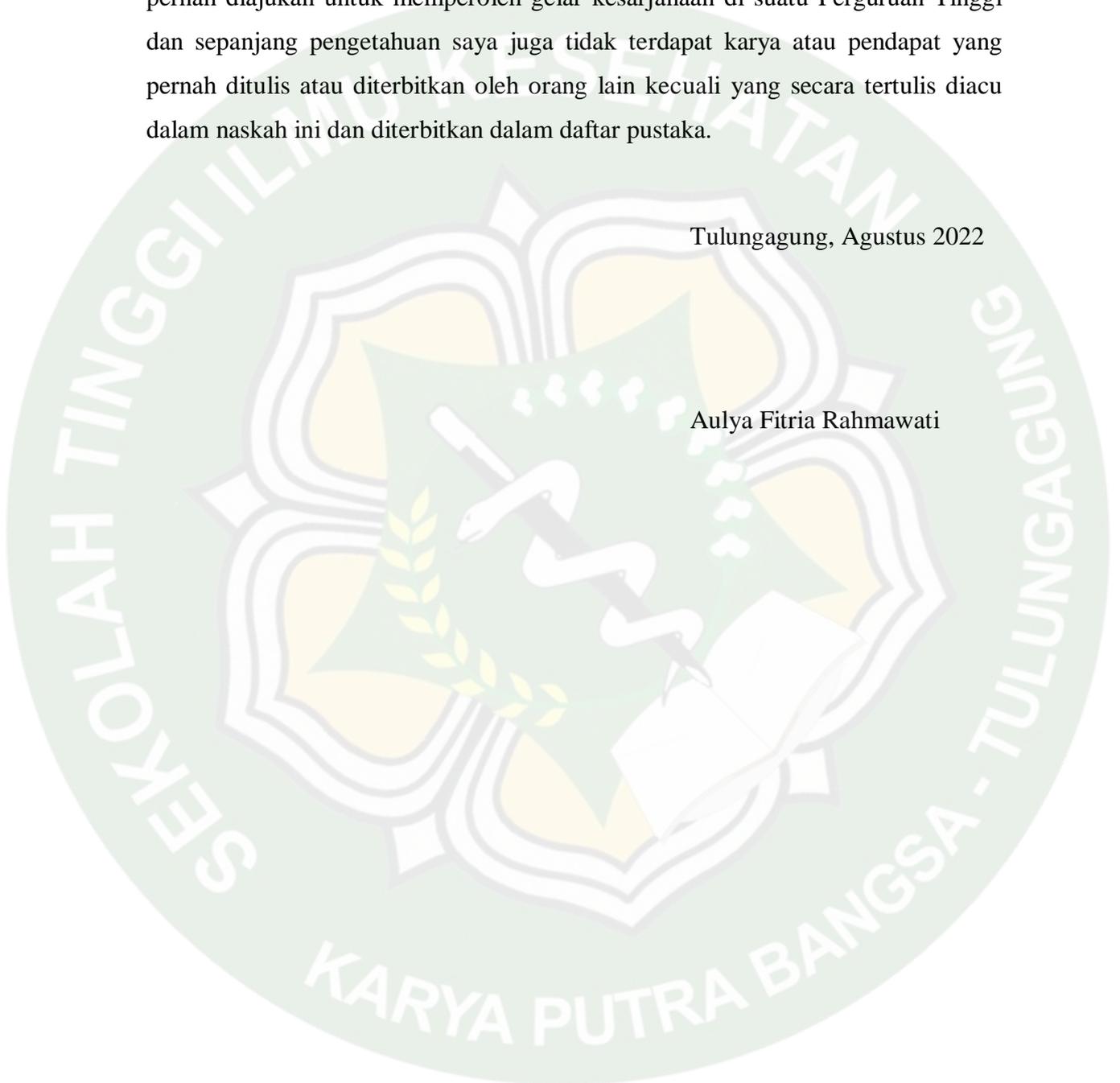
  
apt. Arif Santosa, M.Farm

## HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini 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 ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Agustus 2022

Aulya Fitria Rahmawati



## KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Dengan mengucapkan syukur atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan keajaiban-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian ini. Adapun judul proposal penelitian ini **“Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro.”** Proposal ini diajukan sebagai salah satu syarat melakukan penelitian pada program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa selama masa perkuliahan hingga penelitian dan penyusunan proposal ini telah memperoleh bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak apt. Arif Santosa., M.Farm. selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso., M.Farm. selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
3. Bapak apt. Choirul Huda., M.Farm. selaku Dosen Pendamping dan Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan selama penyusunan proposal hingga skripsi.
4. Ibu Fatimah., M.Biotech. selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan selama penyusunan proposal hingga skripsi.
5. Kepada Ketua Laboran dan seluruh laboran yang ada di STIKes Karya Putra Bangsa yang membantu saya dalam menyelesaikan penelitian.

6. Orang tua, keluarga besar, dan sahabat tercinta yang selalu setiap saat memberi dukungan, semangat, dan do'a yang tulus serta selalu membantu baik moril maupun materil selama penyusunan proposal dengan penuh kesabaran dan ketulusan.
7. Seluruh teman serta angkatan 2018 Jurusan Farmasi yang telah memberikan dukungan semangat dan do'a yang tulus.
8. Teman Departemen Bahan Alam yang telah memberikan dukungan semangat.
9. Thankyou to my biases Park Chan-yeol, Lee Dong-hyuck, Huang Xuxi who have provided motivation and encouragement even though it was via virtual, so that I can complete the proposal script to the thesis.
10. Seluruh Karwayan/Karyawati Apotek Kimia Farma Tulungagung yang telah memberikan dukungan semangat dalam menyelesaikan proposal hingga skripsi.
11. Kepada diri saya sendiri Aulya Fitria Rahmawati terimakasih sudah bertahan sampai tahap ini dan semangat dalam merampungkan skripsi tepat waktu.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan proposal ini belum sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan proposal ini. Semoga proposal ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu'alaikum warohmatullahi wabarakatu.

Tulungagung, Agustus 2022

Aulya Fitria Rahmawati

**MOTTO**  
SAYA HARUS SUKSES...!!!

*희망은 꿈이 아니라 꿈을 실현하는 방법이다*

“Keep your heart safe, keep your body safe, keep your mental safe, keep the people we love safe. Whatever happens let’s all be safe.”- Lee Min Hyung



## HALAMAN PERSEMBAHAN

Tugas ini saya persembahkan untuk kedua orangtua saya, dosen, sahabat dan teman-teman. Untuk semua orang yang bertanya-tanya : “kapan sidang?”, “kapan wisuda?”, “kapan selesai study?” dan lain hal sebagainya, kalian salah satu hal yang menjadi alasanku untuk segera menyelesaikan naskah skripsi ini dengan tepat waktu dan tepat target. “Sibuk mengerjakan skripsi itu baik, tapi menyelesaikan skripsi itu jauh lebih baik. Dan akhirnya. skripsi yg baik adalah skripsi yg selesai.”

– Anis Baswedan

Untuk diri saya sendiri Aulya Fitria Rahmawati saya persembahkan skripsi ini untuk kamu lebih giat dan semangat melanjutkan ke jenjang berikutnya ingat “Jangan takut gagal, takutlah untuk tidak mencoba”- Lee Haechan, dan “Be you, be unique, be crazy, you’re beautiful”- Li Yongqin.

Terimakasih kepada semua pihak yang telah mendukung saya dalam penyelesaian skripsi hingga akhir dengan menjaga mental health tetap aman terkendali. Terakhir terimakasih Kepada Tuhan Yang Maha Esa untuk semuanya, Diberikan kesehatan, ketentraman dan kesabaran dalam menyelesaikan skripsi.

## **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN MAJAPAHIT (*Crescentia cujete L.*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO**

**Aulya Fitria Rahmawati**

**Prodi S1 Farmasi**

### **INTISARI**

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti, bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengakibatkan infeksi kulit. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki habitat alami pada manusia yaitu pada kulit, mukosa hidung, mulut, dan usus besar. Penyakit infeksi dapat diobati dengan pemberian antibiotik, akan tetapi penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan terjadinya resistensi. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain seperti Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang dapat di manfaatkan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi teraktif dari fraksi akuades, fraksi *dichlorometane*, fraksi n-heksan dan konsentrasi optimum fraksi aktif Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut aquades, *dichlorometane*, dan n-heksan. Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) juga dilakukan skrining fitokimia terhadap senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Selanjutnya ekstrak dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram kertas dengan kontrol positif *Chloramphenicol* dan kontrol negatif DMSO 10%. Pada penelitian ini dilakukan fraksi dengan seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Hasil skrining fitokimia ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki aktivitas antibakteri dengan ditandai adanya zona bening disekitar cakram. Fraksi akuades merupakan fraksi teraktif yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi optimum dari fraksi akuades adalah konsntrasi 5% dengan diameter rata-rata 11mm.

Kata kunci : antibakteri, daun majapahit, fraksinasi, *Staphylococcus aureus*

**MAJAPAHIT (*Crescentia cujete L.*) LEAF FACTION TEST  
AGAINST *Staphylococcus aureus***

## BACTERIA IN VITRO

Aulya Fitria Rahmawati

Prodi S1 Farmasi

### *Abstract*

Infectious diseases can be caused by pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus* which causes skin infections. *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacterium that has a natural habitat in humans, namely on the skin, nasal mucosa, mouth, and large intestine. Infectious diseases can be treated with antibiotics, but inappropriate use of antibiotics can cause resistance. Therefore, other alternatives are needed such as Majapahit Leaf (*Crescentia cujete* L.) which can be used as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*. This study was conducted to determine the antibacterial activity of the active fraction of the distilled water fraction, dichloromethane fraction, n-hexane fraction, and the optimum concentration of the active fraction of Majapahit Leaf (*Crescentia cujete* L.) against *Staphylococcus aureus*. Majapahit leaves (*Crescentia cujete* L.) were extracted using the maceration method with 96% ethanol as solvent and fractionated using distilled water, dichloromethane, and n-hexane as solvent. Majapahit Leaf Extract (*Crescentia cujete* L.) was also screened for phytochemicals for alkaloids, flavonoids, and saponins. Furthermore, the extract was tested for antibacterial activity using the paper disc diffusion method with positive control of *Chloramphenicol* and negative control of 10% DMSO. In this study, fractions with a concentration series of 5%, 10%, and 15% were carried out. The results of the phytochemical screening of the extract were positive for alkaloids, flavonoids, and saponins. The results of the antibacterial activity test showed that the Majapahit Leaf (*Crescentia cujete* L.) fraction had antibacterial activity, indicated by the presence of a clear zone around the disc. The distilled water fraction is the most active fraction that can inhibit *Staphylococcus aureus* bacteria. The optimum concentration of the distilled water fraction is 5% concentration with an average diameter of 11mm.

Keyword : antibacterial, majapahit leaf, fractination, *Staphylococcus aureus*

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>I</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>II</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>IV</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>V</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>VII</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>INTISARI .....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>X</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>XI</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>XVII</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>XVIII</b>
<b>BAB I.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1 LATAR BELAKANG .....</b>	<b>19</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>21</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Majapahit (<i>Crescentia cujete L.</i>) .....</b>	<b>23</b>

2.1.1	Klasifikasi .....	23
2.1.2	Morfologi .....	23
2.2	Khasiat Tanaman Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) .....	24
2.3	Kandungan Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) .....	25
2.3.1	Flavonoid .....	25
2.3.2	Saponin .....	26
2.3.3	Alkaloid.....	26
2.4	Simplisia.....	27
2.4.1	Syarat-syarat Simplisia .....	28
2.4.2	Persiapan Simplisia .....	28
2.4.3	Serbuk dan Kadar Air Simplisia .....	29
2.5	Ekstraksi.....	30
2.5.1	Maserasi.....	30
2.5.2	<i>Soxhletasi</i> .....	31
2.5.3	Perkolasi .....	31
2.5.4	Reflux.....	32
2.5.5	Destilasi Uap .....	32
2.5.6	Metode Pemurnian Fraksinasi .....	32
2.6	Pelarut.....	33
2.6.1	Etanol.....	33
2.6.2	N-Heksan .....	33
2.6.3	Dichloromethane .....	34
2.6.4	Akuades .....	34
2.6.5	DMSO 10% .....	34
2.7	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
2.7.1	Klasifikasi .....	34
2.7.2	Morfologi .....	36
2.8	Antibakteri .....	37
2.8.1	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	37
2.9	Uji Aktivitas Antibakteri .....	38
2.9.1	Metode Pengenceran (Dilusi Cair atau Dilusi Padat) .....	38
2.9.2	Metode Difusi .....	39
2.10	Antibiotik.....	40

2.11 Hipotesis.....	41
<b>BAB III.....</b>	<b>42</b>
3.1 Bahan Penelitian .....	42
3.2 Alat Penelitian .....	42
3.3 Populasi Penelitian .....	42
3.4 Sampel Penelitian .....	42
3.5 Variabel Penelitian.....	42
3.5.1 Variabel Bebas .....	43
3.5.2 Variabel Kontrol .....	43
3.5.3 Variabel Terikat.....	43
3.6 Metode Penelitian.....	43
3.6.1 Determinasi Tanaman.....	43
3.6.2 Preparasi Sampel .....	43
3.6.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia .....	44
3.6.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia .....	44
3.6.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia.....	44
3.6.4 Ekstraksi Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) dengan Etanol 70% secara Maserasi.....	44
3.6.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak .....	45
3.6.5.1 Organoleptik .....	45
3.6.5.2 Rendemen Ekstrak.....	45
3.6.6 Uji Bebas Etanol.....	45
3.6.7 Uji Penapisan Senyawa Metabolit Sekunder .....	45
3.6.7.1 Identifikasi Alkaloid .....	46
3.6.7.2 Identifikasi Flavonoid .....	46
3.6.7.3 Identifikasi Saponin .....	46
3.6.8 Fraksinasi .....	46
3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri .....	47
3.6.9.1 Sterilisasi Alat .....	47
3.6.9.2 Pembuatan media <i>Nutrient Agar</i> (NA) .....	47
3.6.9.3 Pembuatan media <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	47
3.6.9.4 Pembuatan Larutan Uji.....	47
3.6.9.5 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.....	48

3.6.9.6 Uji Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Pewarnaan Gram .....	48
3.6.9.7 Peremajaan Bakteri .....	48
3.6.9.8 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	48
3.6.9.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) .....	49
3.6.9.10 Penentuan Zona Hambat .....	49
3.7 Analisis Hasil .....	49
3.7.1 Uji Normalitas Data .....	49
3.7.2 Uji Homogenitas .....	50
3.7.3 Uji <i>One Way Anova</i> .....	50
3.8 Kerangka Penelitian.....	51
3.9 Jadwal Kegiatan Penelitian .....	52
BAB IV .....	53
4.1 Determinasi Tanaman.....	53
4.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia .....	53
4.2.1 Uji susut pengeringan simplisia.....	53
4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia .....	53
4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> )	54
4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak .....	55
4.4.1 Uji Organoleptik .....	55
4.4.2 Rendemen Ekstrak.....	55
4.4.3 Uji Bebas Etanol Ekstrak .....	56
4.5 Skrining Fitokimia .....	56
4.5.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) .....	56
4.5.1.1 Uji Flavonoid .....	57
4.5.1.2 Uji Alkaloid .....	58
4.5.1.3 Uji Saponin .....	58
4.6 Fraksinasi Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) .....	59

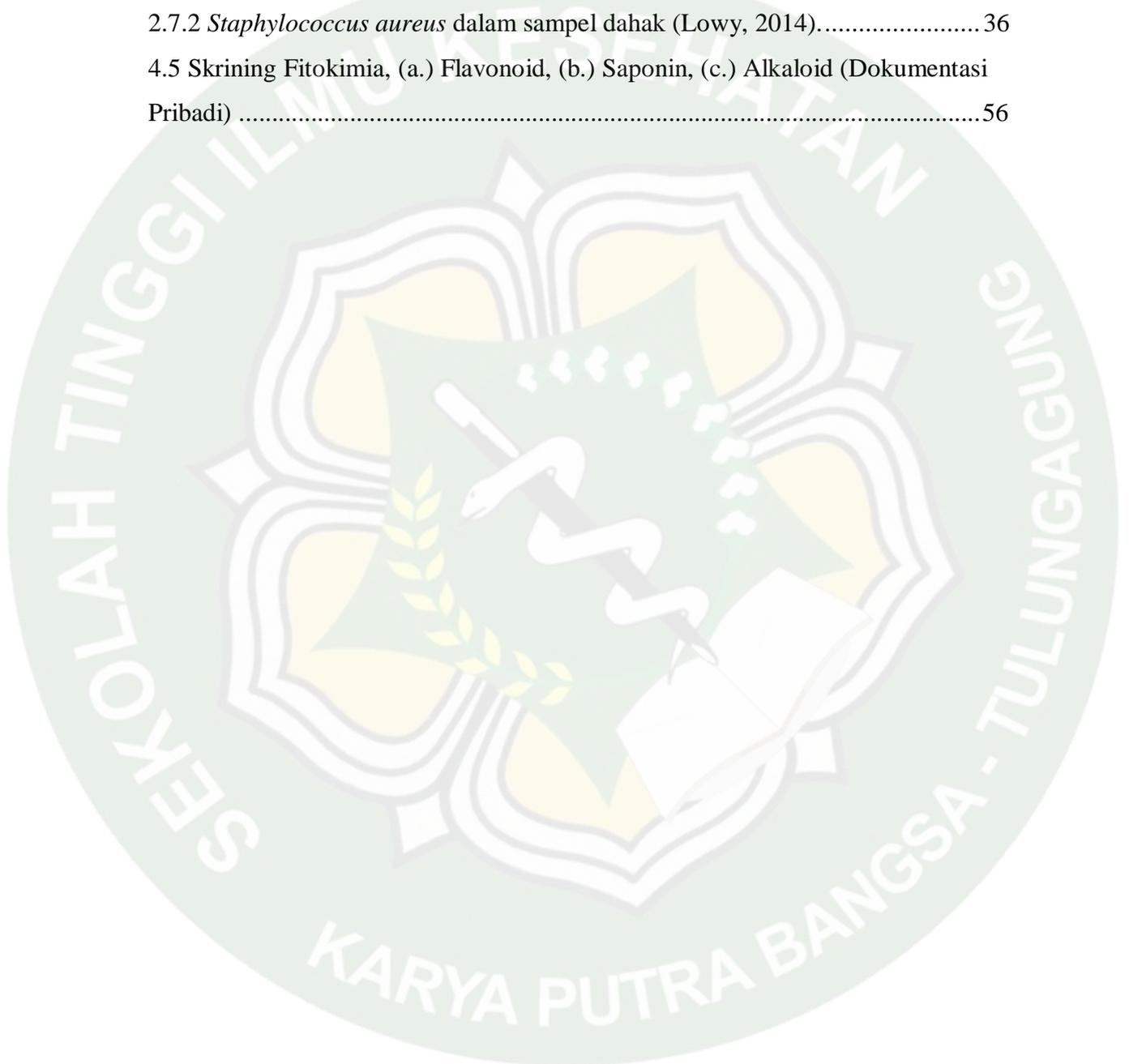
<b>4.7 Uji Aktivitas Daun Majapahitt (<i>Crescentia cujete L.</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>	<b>60</b>
<b>4.8 Analisis Statistika .....</b>	<b>62</b>
<b>BAB V .....</b>	<b>64</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>64</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>64</b>
<b>2. Perlu dilakukan lebih lanjut tentang uji aktivitas menggunakan metode Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak dan fraksi daun Majapahit.....</b>	<b>64</b>
<b>3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji praklinis pada hewan coba untuk mengenai khasiat daun Majapahit.....</b>	<b>64</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>65</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Hal
2.1 Diameter Zona Hambat (Riska F <i>et al.</i> , 2014).....	40
3.1 Kerangka Penelitian .....	51
3.2 Jadwal Kegiatan Penelitian.....	52
4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Daun .....	53
4.2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Daun Majapahit .....	54
4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Majapahit .....	55
4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Majapahit.....	56
4.5 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit .....	57
4.6 Hasil Rendemen Fraksi Daun Majapahit.....	60
4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi daun.....	61
4.8 Analisis hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit .....	46

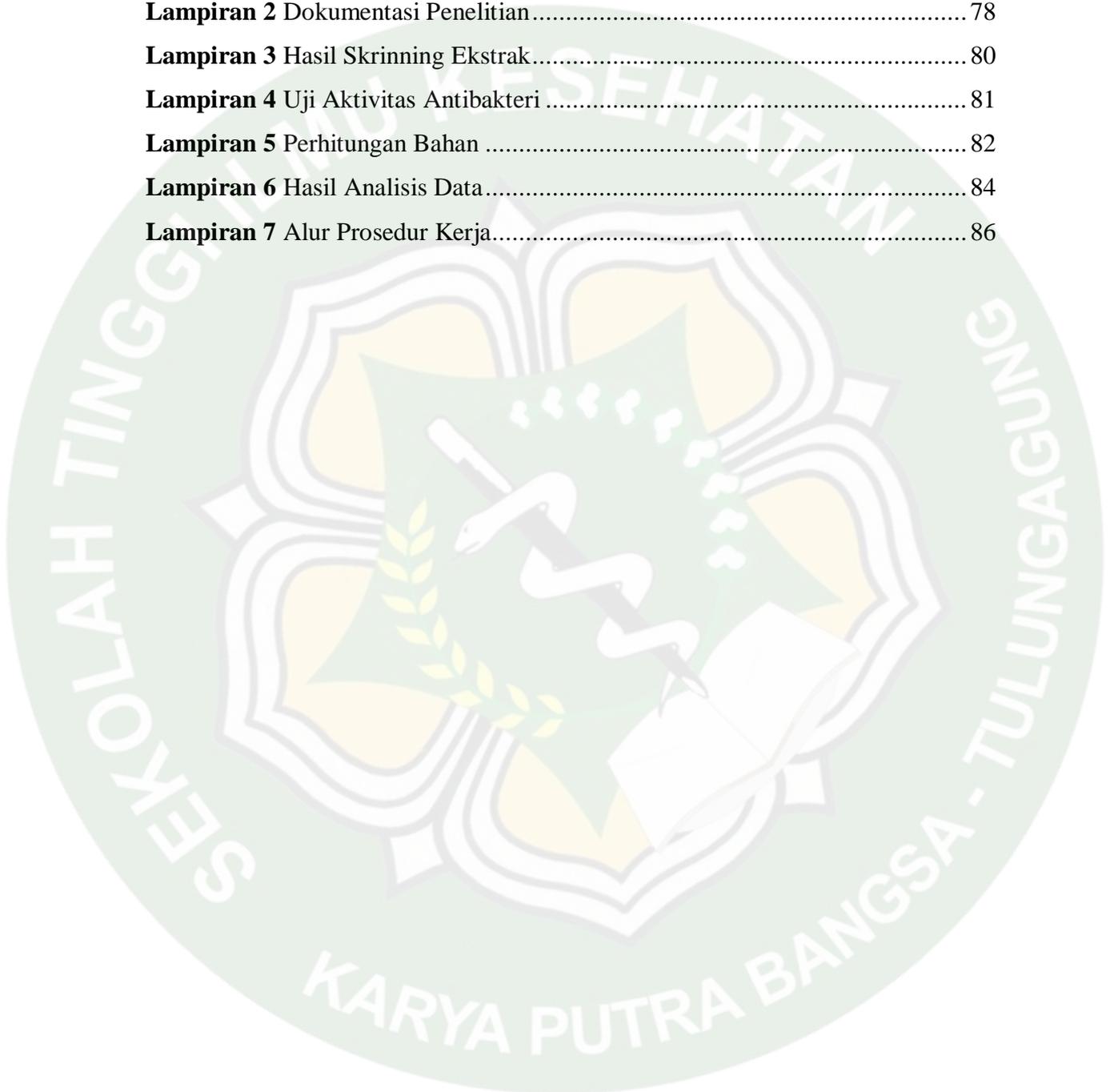
**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Hal
2.1.2 Tumbuhan Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> ) (Dokumentasi Pribadi) .....	24
2.7.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (Hayati <i>et al.</i> , 2019).....	36
2.7.2 <i>Staphylococcus aureus</i> dalam sampel dahak (Lowy, 2014).....	36
4.5 Skrining Fitokimia, (a.) Flavonoid, (b.) Saponin, (c.) Alkaloid (Dokumentasi Pribadi) .....	56



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1</b> Hasil Determinasi Daun Majapahit .....	77
<b>Lampiran 2</b> Dokumentasi Penelitian .....	78
<b>Lampiran 3</b> Hasil Skrinning Ekstrak .....	80
<b>Lampiran 4</b> Uji Aktivitas Antibakteri .....	81
<b>Lampiran 5</b> Perhitungan Bahan .....	82
<b>Lampiran 6</b> Hasil Analisis Data .....	84
<b>Lampiran 7</b> Alur Prosedur Kerja .....	86



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 LATAR BELAKANG**

Antibiotik adalah obat yang berasal dari seluruh atau bagian tertentu mikroorganisme dan dapat digunakan untuk mengobati infeksi terhadap bakteri. Antibiotik atau antibakteri adalah segolongan senyawa, baik alami maupun sintetik, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme. Antibiotik selain untuk membunuh mikroorganisme atau menghentikan reproduksi bakteri juga dapat membantu sistem pertahanan alami tubuh untuk mengeleminasi bakteri (Abdulhak *et al.*, 2011). Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan aturan pemakaian dapat menyebabkan resistensi.

Resistensi yaitu kemampuan bakteri dalam menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Dampak yang diakibatkan resistensi berawal dari tingkat rumah sakit, khususnya *Streptococcus pneumoniae* (SP), *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, namun lambat laun resistensi berdampak pada mordibitas dan mortalitas dilingkungan masyarakat (Beatrix Anna Maria Fernandez, 2013). Adanya resistensi menyebabkan masyarakat memilih pengobatan alternatif, karena pengobatan alternatif menggunakan bahan alam sebagai sumber bahan baku antibiotik alternatif yang menjanjikan, resiko efek samping dari pengobatan bahan alam lebih kecil dan bahan relatif lebih mudah didapatkan.

Umumnya tanaman obat memiliki lebih dari satu efek farmakologis sehingga penggunaannya harus tepat dan benar (dosis, waktu, cara penggunaan, dan pemilihan bahan alam yang sesuai dengan indikasi penyakit) (Fatisa, 2013). Menurut Permenkes (2012), Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. Menurut Nugroho (2012), obat tradisional digunakan untuk mencegah sakit, pemeliharaan maupun menyembuhkan. Tanaman obat di masyarakat dipercaya memiliki khasiat dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Salah satu tumbuhan yang

dapat digunakan sebagai obat tradisional yaitu daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.).

Majapahit (*Crescentia cujete* L.) adalah salah satu tanaman yang banyak tersebar di Indonesia. Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.) merupakan tanaman asli dari Amerika Selatan (Smith and Dollear, 1947). Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.) dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional untuk masyarakat, namun karena kurangnya informasi tentang manfaat tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.) banyak masyarakat Indonesia memanfaatkan tanaman Majapahit (*Crescentia cujete* L.) sebagai tanaman hias, dan peneduh jalan atau dibiarkan tumbuh liar ditepi jalan (Sari and Susilowati, 2019; Ogbuagu, 2008).

Menurut penelitian Nurhasanah dan Harlia (2014) daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan adanya zona hambat antara daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode maserasi, dengan konsentrasi sebesar 20% menghasilkan zona hambat 1,00 mm ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram (Hasanah *et al.*, 2017).

*Staphylococcus aureus* yaitu bakteri patogen gram positif yang merupakan flora normal pada kulit, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas namun bersifat patogen pada host yang rentan. Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan berbagai infeksi supuratif dengan angka keparahan yang bervariasi pada jaringan lunak, jaringan tulang, organ pernafasan, serat jaringan endovaskular yang menimbulkan manifestasi berbagai penyakit seperti furunkel, impetigo, osteomyelitis, tonsilitis, bronkitis, pneumonia, endokarditis, meningensefalitis, dan sepsis (Erikawati *et al.*, 2016).

Penelitian ini dilakukan ekstraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) menggunakan metode maserasi untuk penarikan atau penyarian senyawa yang terkandung pada daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.). Adapun keuntungan dari metode maserasi, yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak mudah terurai. Kerugian dari metode maserasi yang utama, yaitu memakan banyak waktu dan pelarut yang digunakan

cukup banyak (Tetti, 2014). Setelah melalui proses maserasi, selanjutnya dilakukan uji screening fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui zat kimia metabolit sekunder yang terkandung dari tanaman (Endarini, 2016).

Berdasarkan uji fitokimia pada penelitian terdahulu menurut (Rahmaningsih, 2016), kandungan bahan aktif yang terkandung pada daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yaitu tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid. Setelah uji screening fitokimia tanaman, dilakukan proses pemisahan dengan metode fraksinasi. Metode fraksinasi memiliki prinsip penarikan senyawa pada ekstrak menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur (Ayu, 2017). Pelarut yang akan digunakan pada penelitian ini dengan metode fraksinasi yaitu, aquades, dichlorometane, dan n-heksan. Setelah melalui proses pemisahan dengan metode fraksinasi, dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan penentuan kadar hambat minimal daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan antibiotik *Chloramphenicol*.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui adanya aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi dan untuk mengetahui konsentrasi optimum seri konsentrasi fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* ?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum seri konsentrasi 5%, 10%, dan 15% fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### 1.4.1 Bagi Peneliti

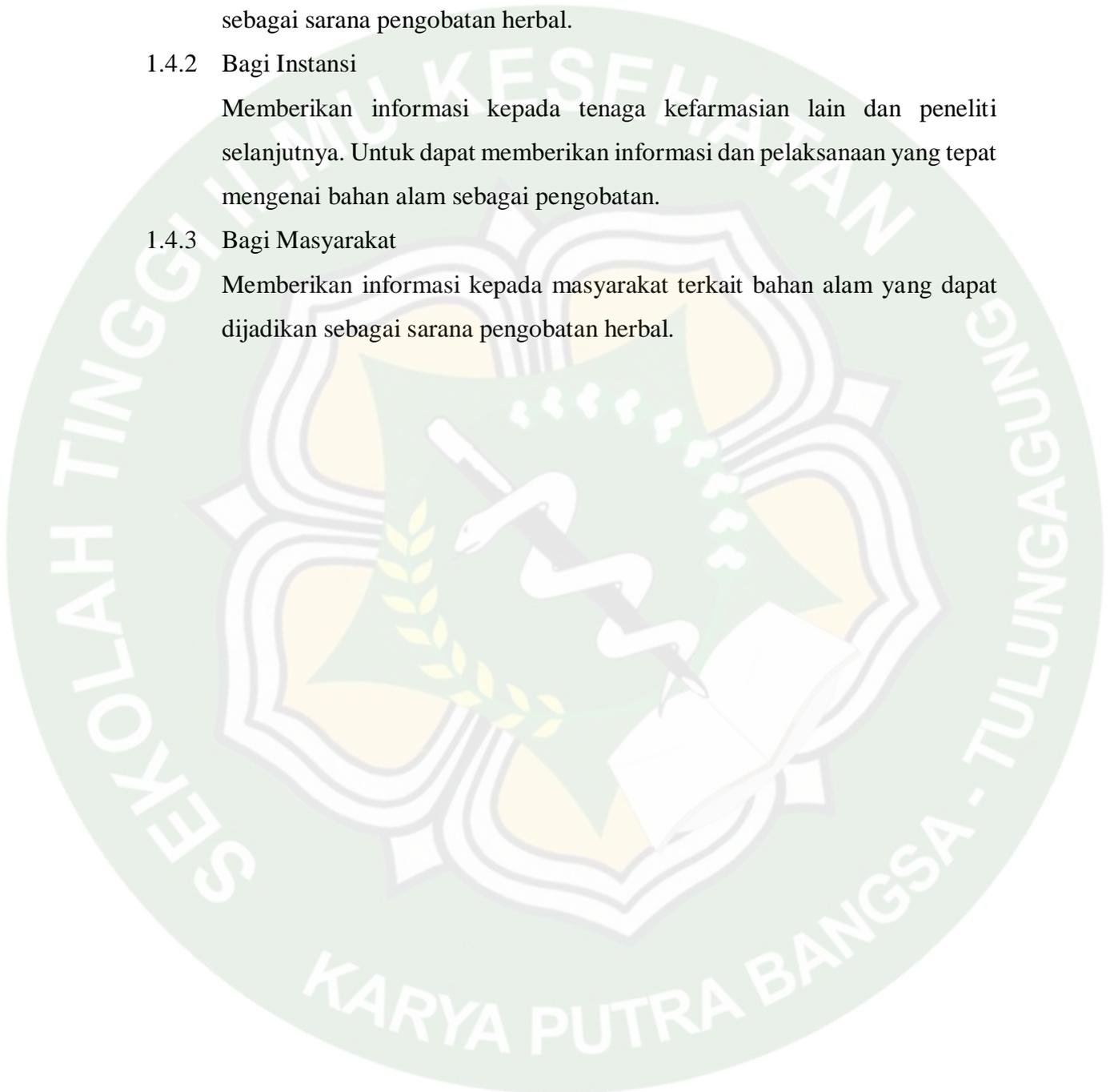
Upaya meningkatkan informasi kefarmasian terutama mengenai bahan alam sebagai sarana pengobatan herbal.

### 1.4.2 Bagi Instansi

Memberikan informasi kepada tenaga kefarmasian lain dan peneliti selanjutnya. Untuk dapat memberikan informasi dan pelaksanaan yang tepat mengenai bahan alam sebagai pengobatan.

### 1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat terkait bahan alam yang dapat dijadikan sebagai sarana pengobatan herbal.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

Majapahit (*Crescentia cujete L.*) merupakan salah satu tumbuhan berasal dari famili *Bignoniaceae*. Di Indonesia, tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) banyak ditemukan di daratan rendah seperti rawa-rawa dan dilahan kering (Sari and Susilowati, 2019). Majapahit (*Crescentia cujete L.*) adalah tanaman yang memiliki sifat obat untuk berbagai penyakit. Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung beberapa senyawa yang dianggap memiliki potensi sebagai antibakteri (Nurjanah *et al.*, 2021)

##### 2.1.1 Klasifikasi

Dari sistem taksonomi, tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat diklarifikasikan sebagai berikut (Materia Medika Indonesia, 2021) :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: <i>Scrophulariales</i>
Famili	: <i>Bignoniaceae</i>
Genus	: <i>Crescentia</i>
Spesies	: <i>Crescentia cujete L.</i>

##### 2.1.2 Morfologi

Keanekaragaman morfologi Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diukur menggunakan parameter kualitatif dan kuantitatif. Parameter kualitatif meliputi pola tumbuh pohon, warna batang, bentuk ujung dan pangkal daun, permukaan dan warna daun, bentuk dan warna kulit buah, ujung dan dasar buah. Parameter kuantitatif meliputi tinggi tanaman, diameter batang, panjang daun, lebar daun, panjang buah, dan lebar buah (Sari, 2012). Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada Gambar 2.1.2.

Morfologi tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menurut Materia Medika Indonesia (2021):

- Habitus : pohon, tinggi  $\pm 10$  m.
- Batang : berkayu, bulat, percabangan simpodial, beralur, putih kehitaman.
- Daun : majemuk, menyirip, lonjong, tepi rata, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, hijau, pertulangan menyirip.
- Bunga : tunggal, dicabang dan ranting, kelopak bentuk corong, ujung bercangap, hijau pucat, benang sari empat, panjang  $\pm 2$  cm, putih, putik panjang  $\pm 2$  cm, kepala putik bentuk corong, putih, mahkota bentuk bibir, putih.
- Buah : bulat, diameter  $\pm 20$  cm, hijau kekuningan.
- Biji : kotak, panjang  $\pm 5$  mm, coklat.
- Akar : tunggang, putih kotor.



**Gambar 2.1.2** Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete L.*) (Dokumentasi Pribadi)

## 2.2 Khasiat Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan bagi masyarakat sebagai pengobatan tradisional. Namun, masyarakat kurang mengetahui informasi manfaat dari tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*). Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) berkhasiat bagi masyarakat untuk mengobati luka baru, sakit kepala, hipertensi, hematoma, asma, dan tumor (Parvin *et al.*, 2015). Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menurut

(Hartati *et al.*, 2017) dapat digunakan untuk diuretik dan mengobati tumor, namun juga dapat digunakan untuk antibakteri karena beberapa faktor infeksi bakteri.

### **2.3 Kandungan Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)**

Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) umum dijumpai di daerah sub tropis dan tropis. Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) merupakan salah satu jenis tanaman dikotil berbunga yang berasal dari Amerika Selatan (Sri Rahmaningsih and Andriani, 2017). Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat menimbulkan aktivitas antimikroba, diyakini terdapat senyawa-senyawa seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid. (Rahmaningsih, 2016). Kandungan senyawa ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang dapat digunakan sebagai antibakteri meliputi ;

#### **2.3.1 Flavonoid**

Senyawa flavonoid memiliki inti dasar yang mengandung 15 atom karbon dan konfigurasi yang tersusun yaitu C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, kerangka karbon terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> yang dihubungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Sumadi, 2011). Sifat fisika kimia senyawa flavonoid yaitu larut dalam air, sedangkan pada bentuk glikosida tereliminasi larut dalam eter. Saat menjadi glikosida atau aglikon senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter (Wahyusi *et al.*, 2020). Suhu yang relatif aman untuk mencegah kerusakan pada senyawa metabolit khususnya flavonoid yaitu pada suhu 50°C (Oktavia, 2011).

Mekanisme kerja flavonoid menurut Rijayanti (2014) sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi tiga, yaitu ; menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam penghambatan sintesis asam nukleat menurut Cushnie dan Lamb Andrew (2005) cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses ikatan hydrogen, dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Akibat dari interaksi flavonoid dengan DNA menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel menurut Li H (2003) dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler yang terlarut sehingga merusak membran sel bakteri. Penelitian lebih lanjut dikemukakan oleh Rustama

dan Lingga (2005), aktivitas senyawa flavonoid mampu merusak dinding sel bakteri diakibatkan adanya intraksi antara lipid dan asam amino yang bereaksi dengan gugus alkohol.

### 2.3.2 Saponin

Saponin termasuk senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan bersifat seperti sabun. Senyawa saponin larut dalam air dan alkohol, tetapi tidak larut dalam eter (Illing *et al.*, 2017). Saponin mempunyai rumus molekul  $C_{27}H_{42}O_3$  dan mempunyai titik didih yang sangat tinggi mencapai  $158^{\circ}C$ . Densitas saponin yaitu  $0,5 \text{ g/cm}^3$  pada suhu  $20^{\circ}C$  (Santosa *et al.*, 2018). Sifat kimia senyawa saponin yaitu dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, berbau menyengat, mempunyai rasa sangat ekstrim dari sangat pahit sampai sangat manis. Sedangkan, sifat fisika senyawa saponin mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok (Rahbiatul Adawiyah, 2017).

Saponin dapat menjadi salah satu agen antibakteri karena zat aktif permukaannya memiliki sifat yang hampir sama dengan detergen, yang mengakibatkan saponin mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Harborne, 1996). Menurut pendapat Noer I.S dan Nurhayati L (2006) saponin berpotensi sebagai antimikroba karena saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri.

### 2.3.3 Alkaloid

Alkaloid umumnya mengandung atom nitrogen yang berasal dari asam amino dan golongan heterogen, berupa kristal atau serbuk amorf, mempunyai rasa yang pahit, bersifat optis aktif dan berupa sistem siklik, alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air, tetapi larut dalam kloroform, eter dan pelarut organik lain yang bersifat relative nonpolar (Heliawati, 2018). Sifat fisika alkaloid umumnya mempunyai satu atom N meskipun ada beberapa memiliki lebih dari satu atom N seperti Ergotamin yang memiliki lima atom N. Atom N dapat berupa amin primer,

sekunder dan tersier yang bersifat basa. Sedangkan, sifat kimia Alkaloid berupa padatan kristal tidak larut dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Kebebasan alkaloid menyebabkan senyawa sangat mudah dekomposisi, terutama pada panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil reaksi ini biasanya berupa N-oksida (Heliawati, 2018).

Menurut Harborne JB (1996) alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Harborne JB, 1996). Menurut pendapat Karou (2005) alkaloid dapat berfungsi sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri, sehingga alkaloid dapat dijadikan sebagai antibakteri.

#### **2.4 Simplisia**

Menurut Ditjen POM (1994) simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan. Sedangkan menurut Ditjen POM, 2008 simplisia atau herbal merupakan bahan alam yang telah dikeringkan, digunakan sebagai pengobatan dan belum mengalami proses pengolahan, kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C.

Menurut Material Medika Indonesia, simplisia digolongkan dalam tiga kategori :

1. **Simplisia Nabati**

Simplisia nabati yaitu simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia.

2. **Simplisia Hewani**

Simplisia hewani yaitu simplisia yang berasal dari hewan atau bagian hewan zat-zat berkhasiat yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Pengeringan simplisia hewani menggunakan suhu tidak lebih dari 60°C.

3. **Simplisia Pelikan (Mineral)**

Simplisia pelikan yaitu simplisia yang berasal dari bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia.

#### 2.4.1 Syarat-syarat Simplisia

Menurut penelitian (Herawati *et al.*, 2012) simplisia yang aman dan berkhasiat merupakan simplisia yang tidak mengandung bahan kimia, mikrobiologis, dan bahan bahaya fisik, serta mengandung zat aktif yang berkhasiat. Ciri simplisia yang baik adalah dalam kondisi kering (kadar air < 10%). Menurut Depkes RI (2000) ada tiga konsep untuk menyusun parameter standar umum pembuatan simplisia sebagai bahan baku dan produk siap konsumsi langsung, yaitu;

1. Simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya memenuhi 3 parameter mutu umum suatu bahan (material), yaitu ; kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis) serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi).
2. Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat tetap diupayakan memenuhi 3 paradigma produk kefarmasian, yaitu ; *Quality-Safety-Efficacy* (mutu-aman-manfaat).
3. Simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu ; informasi komposisi (jenis dan kadar ) senyawa kandungan.

Menurut Depkes RI, 2000 standarisasi simplisia sebagai produk jadi (serbuk jamu) harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

#### 2.4.2 Persiapan Simplisia

Menurut Departemen Kesehatan RI, 1985 umumnya pembuatan simplisia melalui tahap sebagai berikut :

1. Pengumpulan bahan baku. Kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.

2. Sortasi basah. Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah dilakukan pencucian dan perajangan.
3. Pencucian. Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia, pencucian dilakukan dengan air bersih.
4. Perajangan. Dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan pada simplisia.
5. Pengeringan. Dilakukan untuk mendapatkan simplisia agar tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia.
6. Sortasi kering. Tujuan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengepakan
8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu.

#### **2.4.3 Serbuk dan Kadar Air Simplisia**

Menurut (Ditjen POM, 1995) serbuk simplisia nabati adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati, dengan ukuran derajat kehalusan tertentu. Serbuk simplisia nabati tidak boleh mengandung fragmen jaringan dan benda asing yang bukan merupakan komponen asli dari simplisia yang bersangkutan, antara lain ; telur nematoda, bagian dari serangga, hama serta sisa tanah. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Derajat kehalusan serbuk simplisia untuk pembuatan ekstrak merupakan simplisia halus dengan nomor pengayak 80 dengan lebar nominal lobang 0,105 mm dan garis tengahnya 0,064 (Depkes RI, 2008).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sapri (2014), derajat kehalusan simplisia merupakan salah satu faktor untuk mendapatkan ekstrak yang optimal. Ukuran pengayak yang digunakan, yaitu ; 40 mesh, 60 mesh dan 80 mesh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk simplisia dengan ukuran 80 mesh

menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi, sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil ukuran serbuk simplisia maka semakin besar rendemen ekstrak yang diperoleh. Penelitian dilakukan dengan menggunakan ayakan ukuran 80 mesh.

## **2.5 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari suatu tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi pada suhu tinggi dapat lebih cepat, tetapi dalam keadaan ini dapat menyebabkan komponen-komponen yang terkandung mengalami kerusakan akibat suhu yang tinggi (Depkes RI, 2006). Berubahnya suhu selama proses ekstraksi dapat mempengaruhi kelarutan suatu senyawa karena adanya pengaruh dari massa jenis (massa jenis sangat sensitif terhadap perubahan suhu), semakin tinggi suhu pada proses ekstraksi maka dapat mempercepat perpindahan massa dan meningkatkan hasil ekstraksi (Bimakr *et al.*, 2011).

Terdapat dua cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu ; dengan cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Tujuan ekstraksi cara dingin yaitu agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak (Handayani *et al.*, 2016). Sedangkan cara panas yaitu ; refluks, destilasi uap, soxhlet, digesti, dan infus (Depkes RI, 2000). Tujuan ekstraksi cara panas yaitu untuk mempercepat proses ekstraksi dibandingkan cara dingin (Tiwari *et al.*, 2011)

### **2.5.1 Maserasi**

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara menyimpan serbuk halus atau serbuk kasar dalam wadah tertutup dengan pelarut pada suhu ruangan. Metode maserasi sesuai untuk senyawa yang bersifat termolabil untuk menghindari resiko rusaknya senyawa pada tanaman (Tiwari *et al.*, 2011).

Maserasi sampel dilakukan menggunakan pelarut etanol 70% karena memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar (Saifudin and Azis, 2011). Keberhasilan pemisahan bergantung pada perbedaan kelarutan komponen yang akan dipisahkan dalam pelarut (Suryanto and Wehantouw, 2012). Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, begitu pula dengan pelarut lainnya. Selain jenis pelarut, ukuran sampel juga dapat mempengaruhi jumlah rendemen. Semakin kecil luas permukaan sampel akan

semakin memperluas kontak dan meningkatkan interaksi dengan pelarut (Sineke, 2016).

Keuntungan utama dari metode ekstraksi maserasi, yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak mudah terurai. Sedangkan kerugian dari metode maserasi, yaitu menggunakan waktu cukup lama, menggunakan pelarut cukup banyak, dan kemungkinan beberapa senyawa akan hilang. Ada beberapa senyawa yang tidak tahan terhadap suhu ruang yang mengakibatkan sulit untuk diekstraksi (Tetti, 2014).

### **2.5.2 Soxhletasi**

Metode *Soxhletasi* merupakan metode cara panas yang dapat menghasilkan ekstrak lebih banyak, pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisien bahan), waktu yang digunakan lebih cepat, dan sampel diekstrak secara sempurna karena menggunakan pengaplikasian berulang-ulang. Prinsi *Soxhletasi* adalah penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit (Anam *et al.*, 2014). Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang-ulang. Ekstraksi cara *Soxhletasi* menghasilkan rendemen yang lebih besar, karena dengan adanya perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa yang tidak larut dalam kondisi suhu kamar (Kadji *et al.*, 2013).

### **2.5.3 Perkolasi**

Metode perkolasi yaitu metode ekstraksi dingin atau ekstraksi yang tidak menggunakan pemanasan, sehingga tidak merusak senyawa yang terkandung didalamnya dan diharapkan memperoleh ekstrak yang sempurna karena waktu kesetimbangan yang berlangsung lama akibat dari penambahan cairan penyari yang berlangsung terus menerus untuk menghindari terjadinya kejenuhan (Rosidah *et al.*, 2017). Pada metode perkolasi, pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% yang merupakan pelarut ideal yang mempunyai extractive power terbaik untuk semua senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid (Andhiarto *et al.*, 2019).

#### 2.5.4 Reflux

Proses ekstraksi reflux dilakukan dengan cara pemanasan. Reflux yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik (Hasrianti *et al.*, 2016). Prinsip dari metode reflux adalah pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut dari bentuk uap akan menjadi embun pada kondensor dan turun lagi kedalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Metode reflux tidak membutuhkan waktu yang lama untuk mengekstrak zat aktif dalam sampel karena adanya pengaruh dari pemanasan (Susanty and Bachmid, 2016).

#### 2.5.5 Destilasi Uap

Destilasi adalah suatu metode pemisahan analit dari komponennya dengan menggunakan perinsip dasar perbedaan titik didih. Prinsip dari destilasi uap yaitu dengan mengalirkan uap air ke dalam campuran bahan komponen yang akan dipisahkan (Jayanuddin, 2011). Contohnya pada pemisahan minyak atsiri yang ada pada batang, daun dan bunga tumbuhan. Aliran uap air disekitar batang, daun atau bunga akan menyebabkan minyak teruapkan dan terbawa bersama uap air yang kemudian diembunkan dan terpisah dengan cara dekantasi (Asfiyah, 2020). Jika uap air mengalir melalui bahan yang mengandung minyak atsiri maka sebagian uap air akan mengembun dan menguapkan minyak atsiri, jika destilasi dilakukan pada tekanan atmosfer maka konsentrasi minyak maksimum pada fase uap adalah sesuai dengan tekanan parsial uap jenuhnya (Sato, 2012).

#### 2.5.6 Metode Pemurnian Fraksinasi

Pemurnian senyawa dilakukan dengan cara fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Prinsip fraksinasi, yaitu dengan cara melakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut sesuai dengan polaritasnya. Pelarut yang umum digunakan untuk fraksinasi, yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol. Pelarut n-heksan digunakan untuk menarik lemak dan senyawa non-polar, pelarut etil asetat digunakan untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan pelarut metanol untuk menarik senyaw-senyawa polar (Sogandi

*et al.*, 2019). Metode pemisahan yang umum digunakan yaitu fraksinasi cair-cair. Fraksinasi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa yang diinginkan dapat terpisah (Uthia *et al.*, 2017).

## **2.6 Pelarut**

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyaring sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia (Aksara *et al.*, 2013). Pemilihan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tergantung pada senyawa yang diinginkan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi dalam pemilihan pelarut, yaitu ; jumlah senyawa yang akan diekstraksi, keseragaman senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, kemudahan dalam melakukan penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut yang digunakan ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011)

### **2.6.1 Etanol**

Etanol memiliki rumus molekul  $C_2H_5OH$ , dimana  $C_2H_5$  merupakan gugus bersifat non polar dan OH merupakan gugus yang bersifat polar, sehingga pelarut etanol dapat menarik kandungan kimia yang bersifat polar. Konsentrasi etanol dapat mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan hasil uji fitokimia senyawa dalam tanaman. Ekstrak etanol 70% menghasilkan % rendemen lebih tinggi dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan polaritas antara pelarut etanol 96% dan 70% (Fathurrachman, 2014). Etanol lebih mudah berpenetrasi ke membran sel untuk mengekstrak bahan dari tanaman. Etanol mempunyai polaritas yang mendekati polaritas fenol pada tanaman sehingga dapat digunakan sebagai pelarut pada ekstraksi (Saxena and Kalra., 2011).

### **2.6.2 N-Heksan**

Heksana yaitu sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Pelarut n-heksan memiliki titik didih antara  $65-70^{\circ}C$ . Heksana memiliki beberapa sifat, yaitu ; bersifat mudah menguap, selektif dalam menguapkan zat, mengekstraksi sejumlah lilin dan dapat mengekstrak zat pewangi atau minyak atsiri dalam jumlah banyak. Penggunaan pelarut n-heksan memiliki beberapa

keuntungan, diantaranya ; bersifat selektif dalam melarutkan zat, albumin, dan zat warna, namun dapat mengekstraksi zat pewangi atau minyak atsiri dalam jumlah besar (Hadi, 2012).

### 2.6.3 Dichloromethane

*Dichloromethane* atau *metilena klorida* adalah senyawa organik dengan rumus kimia  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Senyawa ini merupakan senyawa tak berwarna dan beraroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. *Dichloromethane* tidak larut sempurna dengan air, tapi dapat larut dengan pelarut organik lainnya. *Dichloromethane* yaitu larutan yang mudah menguap, larut dalam alkohol dan eter, memiliki titik didih  $40,1^\circ\text{C}$ , titik lebur  $-97^\circ\text{C}$  dan bersifat semi polar, sehingga senyawa yang diambil bersifat semipolar (New Jersey Department Health, 2008).

### 2.6.4 Akuades

Akuades adalah air hasil destilasi/penyulingan yang sama dengan air murni atau  $\text{H}_2\text{O}$ , karena  $\text{H}_2\text{O}$  hampir tidak mengandung mineral. Akuades diperoleh dari hasil penyulingan atau biasa disebut dengan proses destilasi atau biasa juga disebut air murni. Pada dasarnya akuades diperoleh dengan cara menguapkan air pada temperatur didihnya kemudian uap air didinginkan dengan suhu rendah sehingga terjadi proses pengembunan. Air hasil pengembunan disebut akuades yaitu air yang rendah akan kandungan mineral didalamnya. Titik didih pelarut akuades  $100^\circ\text{C}$ . (Laurensius, 2019).

### 2.6.5 DMSO 10%

DMSO merupakan suatu bahan yang digunakan sebagai pelarut bahan organik maupun anorganik dan biasa digunakan pada industri obat. Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal, serta mampu melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar. DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu (Assidqi *et al.*, 2012)

## 2.7 Bakteri *Staphylococcus aureus*

### 2.7.1 Klasifikasi

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter  $0,7-1,2 \mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok-kelompok yang

tidak teratur seperti buah anggur, non motil, tidak membentuk spora, dapat tumbuh pada berbagai media pada suasana aerob dan memproduksi katalase yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri kontaminasi pada makanan. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh baik pada kondisi aerobik tetapi umumnya tidak mampu bersaing dengan mikrobia lain yang ada dalam makanan. Umumnya penularan oleh *Staphylococcus aureus* tidak didalam tubuh tetapi nampak dipermukaan tubuh, biasanya di dalam hidung dan bisul-bisul (Ali, 2005). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada **Gambar 2.7.1.**

Menurut Martina (2012) *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu dari bakteri Gram positif berbentuk bulat. *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk mensintesis lipase yang dapat mengubah sebum trigliserid menjadi asam lemak bebas yang dapat merangsang inflamasi. Bakteri ini dapat menyebabkan bermacam – macam infeksi seperti pneumonia, meningitis, empiema, endokartitis, jerawat, pioderma atau impetigo

Sistematika *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Garrity *et al.*, 2011) :

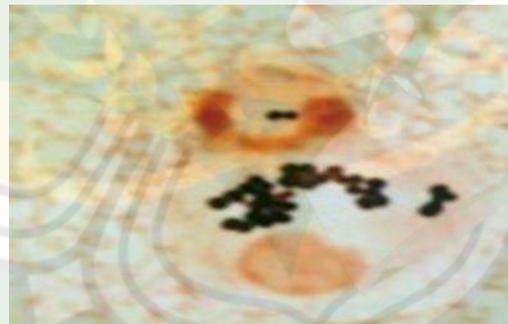
Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



**Gambar 2.7.1** Bakteri *Staphylococcus aureus* (Hayati *et al.*, 2019)

### 2.7.2 Morfologi

*Staphylococcus aureus* berasal dari kata “*Stap hele*” dalam bahasa Yunani yang berarti anggur dan kata “*aureus*” dalam bahasa latin yang berarti emas. Nama ini diberikan berdasarkan bentuk sel-sel bakteri jika dilihat di bawah mikroskop dan warna keemasan yang terbentuk saat tumbuh pada suatu media. Bakteri ini pertama kali dibiakan oleh Pasteur dan Koch, selanjutnya diteliti secara terperinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an (Lowy, 2014). Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam sampel dahak dapat dilihat pada Gambar 2.7.2.



**Gambar 2.7.2** *Staphylococcus aureus* dalam sampel dahak (Lowy, 2014).

*Staphylococcus aureus* banyak ditemukan disekitar lingkungan hidup manusia, yang menyebabkan penyakit infeksi. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* yang mudah beradaptasi dengan lingkungan melalui ketahanannya terhadap antimikrobia (Diyantika and Mufida, 2014). Bakteri ini terutama ditemukan pada kulit, kelenjar kulit, selaput lendir, luka dan umumnya merupakan penyebab radang tenggorokan, infeksi kulit (bisul) serta infeksi sistem

saraf pusat dan paru-paru. Manifestasi dari infeksi *Staphylococcus aureus* ini dapat berupa impetigo, scalded skin syndrome, pneumonia, endokarditis, keracunan makanan, sindrom syok toksik, meningitis, dan sepsis (Khusnan *et al.*, 2008).

*Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus aureus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, namun pembentukan pigmen yang terbaik pada suhu kamar (20-35°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat (Yanti *et al.*, 2017).

## **2.8 Antibakteri**

Antibakteri yaitu suatu senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan mematikan suatu bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Senyawa antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya pada inangnya (Khilyasari, 2017). Antibakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut bakteriostatik, sedangkan antibakteri yang dapat membunuh mikroorganisme disebut bakterisidal (Rahmadani, 2015).

### **2.8.1 Mekanisme Kerja Antibakteri**

Mekanisme kerja antibakteri yaitu sebagai berikut:

#### **2.8.1.1. Menghambat metabolisme sel**

Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidup, namun bakteri patogen tidak mendapatkan asam folat dari luar tubuh sehingga bakteri mensintesis asam folat tersebut namun akan mengganggu proses pembentukan asam folat sehingga asam folat akan menghasilkan nonfungsional dan metabolisme sel bakteri akan terganggu (Setiabudy, 2007).

#### **2.8.1.2. Menghambat sintesis dinding sel**

Dinding sel bakteri berfungsi untuk melindungi membran protoplasma yang terdapat dalam sel. Senyawa antibakteri dapat merusak dan mencegah proses sintesis dinding sel sehingga menyebabkan terbentuknya sel yang peka terhadap tekanan osmotik (Waluyo, 2020).

### **2.8.1.3. Menghambat sintesis protein**

Suatu sel mikroba dapat hidup apabila molekul-molekul sel dalam keadaan alamiahnya. Interaksi antara denaturasi protein dan asam nukleat dapat menyebabkan rusaknya sel yang tidak dapat diperbaiki kembali. Koagulasi ireversibel komponen sel dapat disebabkan oleh suhu tinggi dan konsentrasi dari beberapa zat kimia (Pelczar, 1988).

### **2.8.1.4. Menghambat sintesis asam nukleat**

Sintesis yang berasal dari DNA mampu mempengaruhi pertumbuhan sel sedangkan sintesis RNA mampu berfungsi sebagai transkripsi dan penentuan informasi sintesis protein dan enzim. Interaksi yang terjadi pada DNA dan RNA dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel sehingga mampu mempengaruhi metabolisme asam nukleat (Yasjudani, 2017).

### **2.8.1.5. Menghambat fungsi membran sel**

Membran sel memiliki sifat permeabilitas selektif dan berfungsi sebagai pengontrol keluar masuknya substransi dari dalam dan luar sel. Beberapa antibiotik dapat bersatu dengan membran sehingga dapat mengganggu proses biokimia sel (Yasjudani, 2017).

## **2.9 Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode pengenceran dan metode difusi.

### **2.9.1 Metode Pengenceran (Dilusi Cair atau Dilusi Padat)**

Metode pengenceran (dilusi cair) biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal dari suatu bahan uji atau obat terhadap kuman atau bakteri percobaan. Pengujian dengan dilusi cair menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat untuk pengujian aktivitas antibakteri diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi (Yasjudani, 2017).

Pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai diameter

zona hambat minimal (Bonang G, 1992). Konsentrasi pada dilusi padat obat yang dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri. Kemudian dinkubasi selama 18 - 24 jam (Handrianto, 2016).

### 2.9.2 Metode Difusi

Pada metode difusi, aktivitas suatu bahan ditentukan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Metode yang diperhatikan ialah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Metode tersebut dilakukan dengan menamkan bakteri pada media agar padat kemudian diletakkan pada *disk* yang sudah mengandung obat. Diamati diameter zona bening disekitar diukur sebagai kekuatan inhibisi obat melawan bakteri yang diuji. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan (Prayoga, 2013). Metode difusi dapat dilakukan dengan cara yaitu :

#### 1. Metode Cakram Kertas (*Kirby Bauer*)

Metode difusi cakram yaitu bahan atau sampel yang akan dijadikan antimikroba di rendam di dalam cakram, kemudian cakram diletakkan diatas media perbenihan agar yang sudah dioleskan dengan bakteri, sesudah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati zona jernih di sekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya mikroba. Efektivitas antibakteri didasarkan pada klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Wahyu, R and Dewi, i, 2018). Diameter zona hambat bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.9.2.1.

#### 2. Metode Lubang/Sumuran

Pada lempeng agar yang sudah di inokulasikan dengan bakteri yang selanjutnya di isi dengan zat anti mikroba. Kemudian di inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan uji mikroba, pengamatan yang dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat disekeliling lubang tersebut (Nurjannah, 2017).

**Tabel 2.9.2 1** Diameter Zona Hambat (Riska F *et al.*, 2014).

Diameter Zona Hambat	Respon Hambat Pertumbuhan
$\leq 5$ mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21$	Sangat Kuat

### 2.10 Antibiotik

Antibiotik atau antibakteri adalah segolongan senyawa, baik alami maupun sintetik, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme (Abdulhak *et al.*, 2011). Pada penelitian ini menggunakan antibiotik *Chloramphenicol* yang merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteristatik terhadap hampir semua bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Tjay and Rahardja, 2015). Mekanisme kerja *Chloramphenicol* sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri. *Chloramphenicol* secara reversible berikatan dengan unit 50S, sehingga mampu mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom dan sintesis asam amino akan terganggu bahkan tidak berlangsung, hal tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri (Dewi, 2014).

*Chloramphenicol* memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun Majapahit (*Crescentia cujete* L.) yaitu senyawa alkaloid dan flavonoid. Menurut Azizah (2019), alkaloid dan *Chloramphenicol* memiliki mekanisme yang sama untuk menghambat sintesis protein bakteri. Adapun mekanisme kerja alkaloid dalam meningkatkan kinerja *Chloramphenicol* karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan menghambat sintesis dinding sel pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Rijayanti (2014) pada senyawa flavonoid mempunyai Mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan pembentukan DNA dan RNA terhambat serta merusak membran sel bakteri.

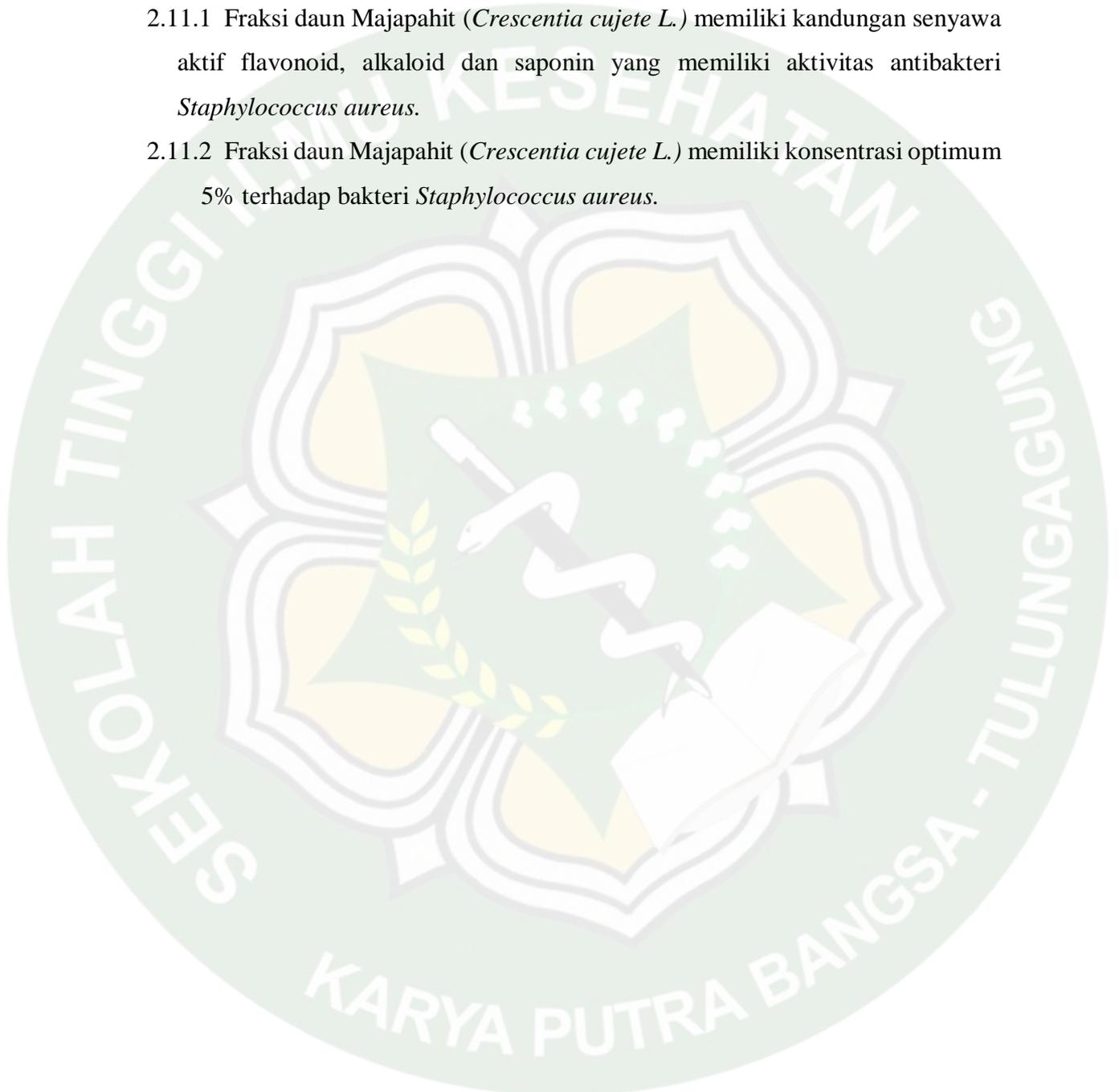
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ratna (2016), hasil uji sensitifitas menunjukkan *Staphylococcus aureus* bersifat resisten terhadap *ampisilin*, *eritromisin* dan *tetrasiklin* dengan zona hambat masing-masing sebesar

ampisilin 12mm, eritromisin 13mm dan tetrasiklin 9mm, sedangkan pada *Chloramphenicol* bersifat sensitif dengan zona hambatnya 22mm.

## 2.11 Hipotesis

2.11.1 Fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid, alkaloid dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

2.11.2 Fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki konsentrasi optimum 5% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.



## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*), etanol 70%, N-Heksan, *dichloromethane*, DMSO 10%, antibiotik *Chloramphenicol* 250mg, *Staphylococcus aureus*, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrien Broth* (NB), pereaksi HCl, mayer, NaOH, BaCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, akuades.

#### **3.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan analitik (Kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), corong pisah (Pyrex), batang pengaduk, kain mori, botol maserasi, Blender (Philips), rak tabung reaksi, ayakan mesh 80, magnetic stirrer with heater 79-1, autoclave (Gea model YX2808), *Laminar Air Flow* (ESCO), mikropipet, lemari pendingin (Sharp), oven, kapas, tali, jangka sorong, lampu spiritus, cakram kosong steril, inkubator (model DNP Electro Thermal Incubator), ose steril, cawan petri, aluminium foil, kertas saring, statif dan klem.

#### **3.3 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang terdapat di kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

#### **3.4 Sampel Penelitian**

Sampel yaitu bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut. Sampel dalam penelitian ini yaitu daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diperoleh di halaman Kampus STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung dan sudah dideterminasi di Laboratorium Materia Medika Batu, Malang dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

#### **3.5 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yaitu segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono,

2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol dan variabel terikat.

### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi berubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas pada penelitian ini yaitu fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

### **3.5.2 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol atau terkendali yaitu variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2013). Variabel kontrol positif dalam penelitian ini adalah *Chloramphenicol* dan kontrol negatif adalah DMSO 10%.

### **3.5.3 Variabel Terikat**

Variabel terikat yaitu variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **3.6 Metode Penelitian**

### **3.6.1 Determinasi Tanaman**

Sampel tanaman daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

### **3.6.2 Preparasi Sampel**

Teknik pengambilan sampel yaitu dilakukan dengan mengambil daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan kriteria kondisi masih segar dan tidak terdapat bercak. Daun dipilih yang segar dan dicuci bersih, dirajang lalu dikeringanginkan menggunakan oven selama dua hari. Setelah itu daun digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Dilakukan pengayakan dan simplisia siap diekstraksi (Ningrum, 2019).

### 3.6.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

#### 3.6.3.1 Uji Susut Pengeringan Simplisia

Menurut Depkes RI (2008) susut pengeringan simplisia adalah pengurangan berat bahan simplisia setelah dikeringkan :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\%$$

Penetapan susut pengeringan pada simplisia bertujuan untuk mengetahui batas maksimal atau rentang besarnya pengurangan berat bahan pada proses pengeringan serta tidak terdapat syarat atau rentang nilai yang ditetapkan (Depkes RI, 2008).

#### 3.6.3.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukan kurang lebih 10gram ekstrak dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 105°C selama lima jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak satu jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

Uji kadar air dapat dihiung dengan rumus : (Depkes RI, 2000)

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung dan dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

#### 3.6.4 Ekstraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan Etanol 70% secara Maserasi

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah maserasi, Serbuk direndam dengan menggunakan etanol 70% secara bertingkat yaitu tiga kali selama tiga hari. Wadah maserasi ditutup rapat dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung dengan dilakukan pengadukan beberapa kali. Hasil maserasi kemudian disaring untuk memisahkan cairan etanol dengan ampasnya (Ningrum, 2019). Filtrat cair yang

diperoleh dipekatkan dengan menggunakan oven pada suhu 80°C hingga diperoleh ekstrak kering (Ningsih and Nurmiati, 2013).

### **3.6.5 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak**

#### **3.6.5.1 Organoleptik**

Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) (Depkes RI, 2008).

#### **3.6.5.2 Rendemen Ekstrak**

Menurut Depkes RI (2008) rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Wijaya Heri *et al.*, 2018).

#### **3.6.6 Uji Bebas Etanol**

Pengujian bebas etanol ekstrak dilakukan dengan cara ekstrak kental ditambahkan dengan 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat bertujuan untuk membuat kondisi asam dengan 2ml larutan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, setelah bereaksi larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi hijau kebiruan karena ion dikromat yang berwarna jingga tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Melati Aprilliana Ramadhani *et al.*, 2020)

#### **3.6.7 Uji Penapisan Senyawa Metabolit Sekunder**

Penapisan golongan senyawa kimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di ekstrak.

### 3.6.7.1 Identifikasi Alkaloid

Ekstrak pekat etil asetat diambil 0,5 gram, ditambah 1 ml HCl 2%, lalu ditambahkan 9 ml akuades dan dipanaskan selama 2 menit. Didinginkan, kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian. Masing- masing ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf. Jika positif terjadi endapan putih pada pereaksi Mayer, berwarna coklat kemerahan pada pereaksi Wagner dan berwarna jingga pada pereaksi Dragendorf (Setyowati, 2014).

### 3.6.7.2 Identifikasi Flavonoid

Ekstrak pekat etil asetat dilarutkan dalam methanol panas, ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg, dan ditambah 1 ml HCl pekat. Jika terbentuk warna jingga berarti positif mengandung flavonoid (Setyowati, 2014).

### 3.6.7.3 Identifikasi Saponin

Ekstrak etil asetat daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilarutkan ke dalam 10 ml air panas, dikocok selama sepuluh detik. Positif jika terdapat busa yang stabil (Setyowati, 2014).

### 3.6.8 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan secara berkesinambungan dimulai dengan dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Pelarut non polar dalam penelitian ini menggunakan N-heksan, pelarut semi polar menggunakan *Dichloromethane* dan menggunakan pelarut akuades sebagai pelarut polar. Akhir dari proses fraksinasi akan didapatkan fraksifraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa non polar, semi polar dan polar (Purwanto, 2015). Ekstrak dilarutkan dalam akuades 50 ml, dimasukkan ke dalam labu pisah, dan ditambahkan n-heksana sebanyak 50 ml, dihomogenkan secara perlahan-lahan, setelah didiamkan terjadi pemisahan antara fraksi n-heksana dan akuades. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi akuades. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan pelarut *Dichloromethane* 50 ml dengan proses yang sama dengan n-heksana. Fraksi n-heksana, fraksi *Dichloromethane* dan akuades diuapkan menggunakan oven, sehingga diperoleh fraksi kering. Ketiga fraksi yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya (Retnowati *et al.*, 2015)

### **3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **3.6.9.1 Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan akuades. Alat-alat yang tahan terhadap pemanasan tinggi disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm (FI ED IV). Sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008). Alat-alat yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi disterilkan dengan menggunakan etanol 70% (Yanti *et al.*, 2017).

#### **3.6.9.2 Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)**

Ditimbang serbuk *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 0,3 g dimasukkan erlenmeyer, dilarutkan dan dicampur dengan akuades 15 ml. Dipanaskan sampai semua benar-benar larut. Media ditutup dengan menggunakan kapas. Kemudian media agar disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media dituang pada cawan petri dan dibiarkan pada suhu ruang sampai media memadat sempurna (Juariyah and Sari, 2018).

#### **3.6.9.3 Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)**

Ditimbang serbuk *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 mL akuadestilata, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit media dituangkan ke dalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

#### **3.6.9.4 Pembuatan Larutan Uji**

Ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diencerkan menggunakan DMSO 10% (*dimetil sulfoxide*) dengan volume masing-masing 1 ml. Konsentrasi fraksi yang digunakan yaitu 5%, 10%, dan 15%. Konsentrasi 5% dibuat dengan menimbang ekstrak 0,05 g dilarutkan dalam 1 ml DMSO, konsentrasi 10% dibuat dengan menimbang 0,1 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO, dan konsentrasi 15% dibuat dengan menimbang 0,15 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO (Amiliah *et al.*, 2021).

### **3.6.9.5 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

#### **3.6.9.5.1 Kontrol Positif *Chloramphenicol***

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik *Chloramphenicol* 0,1% (Umboh *et al.*, 2018).

#### **3.6.9.5.2 Kontrol Negatif DMSO 10%**

Larutan DMSO konsentrasi 10% dibuat dengan cara melarutkan DMSO pekat 10ml dengan ditambahkan akuades 90ml. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% yang ditetaskan 20 µl di atas cakram kertas (Yanti *et al.*, 2017). DMSO 10% merupakan kosolven yang baik yang dapat melarutkan sampel uji tanpa memberi pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri (Maulana *et al.*, 2021).

#### **3.6.9.6 Uji Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan Pewarnaan Gram**

Pada pewarnaan Gram terdapat dua jenis bakteri yaitu Gram positif dan Gram negatif. Tujuan dari pewarnaan Gram ini yaitu untuk mempermudah melihat bakteri secara mikroskopik, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, melihat struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, dan menghasilkan sifat-sifat fisik serta kimia khas dari bakteri dengan zat warna. Dalam pewarnaan, bakteri Gram positif berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah (Bulele *et al.*, 2019).

#### **3.6.9.7 Peremajaan Bakteri**

Peremajaan bakteri dilakukan untuk merawat bakteri agar tetap baik. Peremajaan bakteri dilakukan menggunakan media agar miring NA, masing-masing media ditanami bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara mengorekan ose jarum. Kemudian di inokulasikan dengan cara digoreskan pada media NA secara aseptik. Kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 37-38°C selama 24 jam (Yusriana *et al.*, 2012).

#### **3.6.9.8 Pembuatan Suspensi Bakteri**

Bakteri yang dibiakan diambil menggunakan ose steril, disuspensikan pada tabung yang berisi 5 ml *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah suspensi kemudian, diencerkan dengan larutan garam fisiologis

(NaCl 0,9%) steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 (Kursia, 2016).

### **3.6.9.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)**

Uji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*) berdiameter 6 mm yang telah disterilkan. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga kali pengulangan. *Paper disc* dicelupkan ke dalam fraksi akuades, *Dichloromethane* dan n-heksan ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% menggunakan mikropipet 20 mikroliter. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam *Chloramphenicol* dan kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dengan pelarut DMSO 10%. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar *paper disc* (Kusumowati *et al.*, 2014).

### **3.6.9.10 Penentuan Zona Hambat**

Pengukuran zona hambat yang dilakukan, dengan cara mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong, dan diperoleh diameter (mm) daerah hambat pertumbuhan bakteri termasuk pada diameter kertas cakram. Dilakukan pengulangan tiga kali untuk menunjukkan hasil yang akurat (Octaviani *et al.*, 2019).

## **3.7 Analisis Hasil**

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS) 16 untuk melihat apakah daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) mampu menghambat *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan sebagai berikut :

### **3.7.1 Uji Normalitas Data**

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

$H_0$  : data berdistribusi normal

$H_1$  : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

1. Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima
2. Jika  $p \leq 0,05$ ; maka  $H_1$  diterima

### 3.7.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel–sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

$H_0$  : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

$H_1$  : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan :

1. Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima
2. Jika  $p \leq 0,05$ ; maka  $H_1$  diterima

### 3.7.3 Uji *One Way Anova*

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan variasi konsentrasi fraksi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

$H_0$  : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

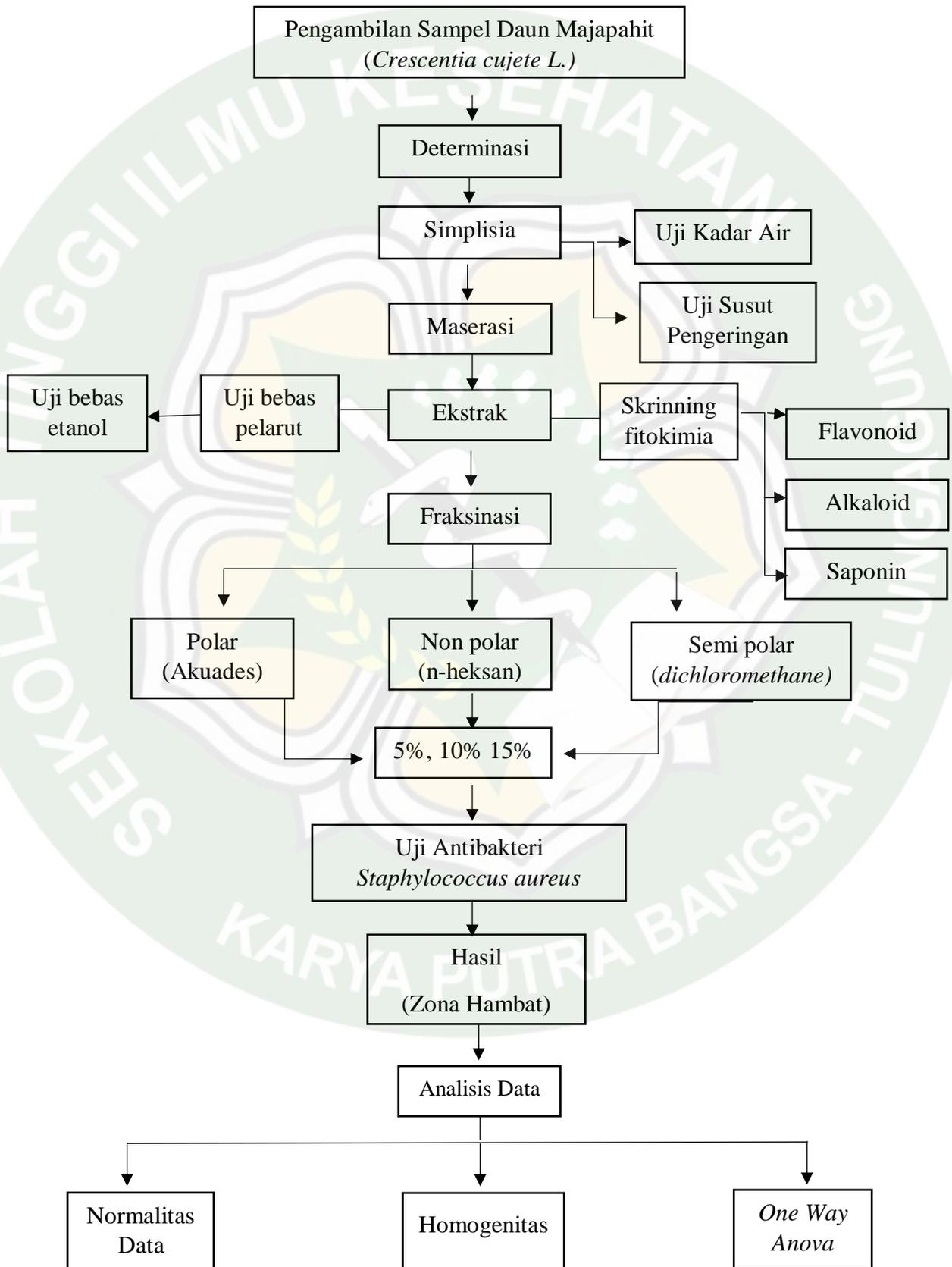
$H_1$  : Ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan keputusan :

1. Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima
2. Jika  $p \leq 0,05$ ; maka  $H_1$  diterima

### 3.8 Kerangka Penelitian

Tabel 3.8 2 Kerangka Penelitian



### 3.9 Jadwal Kegiatan Penelitian

**Tabel 3.9** Jadwal Kegiatan Penelitian

Jadwal Penelitian	Tahun 2021 Bulan Ke-			Tahun 2022 Bulan Ke-						Tempat
	10	11	12	1	2	3	4	5	6	
1. Pengajuan Judul										Kampus STIKes KARTRASA
2. Studi Pustaka										Kampus STIKes KARTRASA
3. Persiapan Penelitian										Kampus STIKes KARTRASA
a. Determinasi Tanaman										UPT Materia Medica
b. Pembuatan Simplisia										Laboratorium KARTRASA
c. Maserasi										Laboratorium KARTRASA
4. Penelitian Laboratorium										Laboratorium KARTRASA
a. Identifikasi Kandungan										Laboratorium KARTRASA
b. Penelitian										Laboratorium KARTRASA
5. Pengumpulan dan Analisis Data										Laboratorium KARTRASA
6. Penyusunan Laporan										Kampus STIKes KARTRASA

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman majapahit (*Crescentia cujete L.*) dilakukan di Materia Medica, Batu. Hasil determinasi tanaman menunjukkan sampel yang digunakan yaitu tanaman Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan kunci determinasi :1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-16b-286a-287a: Bignoniaceae-Ib 3a: *Crescentia-3:C.cujete* (Materia Medica Indonesia, 2021).

### 4.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

#### 4.2.1 Uji susut pengeringan simplisia

Hasil uji susut pengeringan simplisia daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengeringan Daun  
Majapahit (*Crescentia Cujete L.*)**

Sampel	Bobot daun basah	Bobot daun kering	%Hasil
Daun Majapahit	2,178 kg	753 gr	65%

Rumus % susut pengeringan (Depkes RI, 2008) :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\%$$

Penetapan susut pengeringan pada ekstrak merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standardisasi tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat dengan tujuan dapat memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Najib *et al.*, 2018). Pada bobot basah daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang didapat sebesar 2,178 kg dan setelah dilakukan proses pengeringan bobot daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menjadi 753 gram. Hasil persen susut pengeringan daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yaitu sebesar 65%, daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengalami pengurangan berat bahan yang besar dalam proses pengeringan.

#### 4.2.2 Uji Kadar Air Simplisia

Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Daun Majapahit**

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	%Hasil
Daun Majapahit	10 gr	9,35 gr	6,5%

Rumus % kadar air (Depkes RI, 2000):

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui presentase kadar air yang terdapat pada serbuk simplisia (Depkes RI, 2000). Penentuan pada kadar air ekstrak bertujuan untuk mengetahui batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan (ekstrak,) makin tinggi kadar air, makin mudah untuk ditumbuhi jamur, kapang sehingga dapat menurunkan aktivitas biologi ekstrak dalam masa penyimpanan (Najib *et al.*, 2018). Hasil uji kadar air serbuk daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang diperoleh sebesar 6,5%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) tidak melampaui batas maksimal 10%. Kandungan air serbuk simplisia yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung dan dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia (BPOM RI, 2014).

#### **4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)**

Serbuk daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak melalui proses pemanasan, sehingga komponen senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan tidak mudah terurai dan dapat menghindari kerusakan senyawa yang terkandung dalam bahan alam (Tetti, 2014).

Maserasi dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) sebanyak 550 gram. Kemudian ditambah dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2.000 mililiter atau hingga terendam. Pelarut etanol 70% digunakan karena mampu mengekstraksi senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin pada daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan menghasilkan persen rendemen tinggi, tidak beracun dan tidak berbahaya (Fathurrachman, 2014). Serbuk dalam bejana atau botol gelap disimpan dalam ruangan yang terlindungi dari sinar matahari

secara langsung. Setelah proses perendaman, dilakukan pengocokan atau pengadukan yang berulang agar dapat mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel (Handoyo, 2020), setelah itu serbuk disaring untuk mendapatkan maserat. Maserat yang didapat dilakukan proses remaserasi untuk menarik kandungan senyawa yang masih tertinggal pada saat maserasi (Chairunnisa *et al.*, 2019). Setelah dilakukan maserasi kemudian dilakukan penguapan pelarut dengan filtrat hasil remaserasi dipekatkan menggunakan oven pada suhu 80°C untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak yang sehingga diperoleh ekstrak kental daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*).

#### 4.4 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

##### 4.4.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik bertujuan untuk menunjukkan bentuk, warna dan bau dari ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) (Depkes RI, 2000). Uji organoleptik menggunakan panca indera secara langsung menunjukkan ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki bentuk padat, bentuk menyerupai bongkahan kecil disertai setengah lengket, memiliki bau khas daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dan memiliki warna kecoklatan.

##### 4.4.2 Rendemen Ekstrak

Hasil rendemen ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Majapahit**

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Hasil
Daun Majapahit	550 gr	55 gr	10%

Rumus %rendemen (Depkes RI, 2008) :

$$\%Rendemen = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\%$$

Bobot serbuk simplisia daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yang digunakan maserasi yaitu 550 gr dan bobot ekstrak yang dihasilkan yaitu 55 gr. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Hasil uji

rendemen ekstrak didapatkan sebesar 10% menunjukkan rendemen yang dihasilkan kecil. Kecilnya nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh ukuran partikel, waktu ekstraksi, serta jenis dan jumlah pelarut (Charisma, 2020).

#### 4.4.3 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan etanol dalam ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) karena pelarut etanol dapat membunuh bakteri sehingga dikhawatirkan mempengaruhi aktivitas antibakteri (Kusumowati *et al.*, 2014). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) positif bebas etanol ditandai dengan tidak berwarna hijau kebiruan (Melati Aprilliana Ramadhani *et al.*, 2020).

Hasil uji bebas etanol ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada tabel 4.4.

**Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Majapahit**

Sampel	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil
Ekstrak daun Majapahit	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + kalium dikromat 2ml	Tidak terbentuk warna hijau kebiruan	+

Keterangan (+) tidak terjadi perubahan warna hijau kebiruan

#### 4.5 Skrining Fitokimia

##### 4.5.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

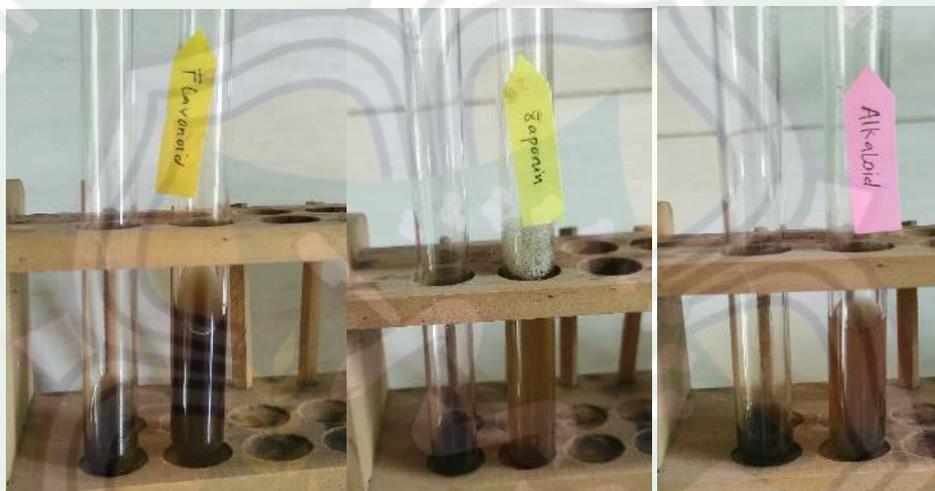
Skrining fitokimia ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada dalam ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*). Menurut Rahmaningsih (2016), daun Majapahit memiliki kandungan senyawa aktif, antara lain : flavonoid, alkaloid dan saponin.

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada **Tabel 4.5** dan **Gambar 4.5**

**Tabel 4.5 Hasil Uji Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Majapahit**

Golongan senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	NaOH 0,1N + air panas	Jingga	+
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Endapan putih kekuning-kuningan	+
Saponin	Air panas + HCl 2N	Busa stabil	+

Keterangan (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa.



a.

b.

c.

**Gambar 4.5** Skrinning Fitokimia, (a.) Flavonoid, (b.) Saponin, (c.) Alkaloid (Dokumentasi Pribadi)

Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan bahwa ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin. Hasil skrinning fitokimia telah sesuai dengan penelitian Rahmaningsih (2016) yang menyatakan bahwa daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin.

#### 4.5.1.1 Uji Flavonoid

Hasil uji flavonoid ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan hasil positif yaitu dengan terbentuknya warna jingga, karena senyawa flavonoid direaksikan dengan basa kuat yaitu NaOH. Uji skrinning fitokimia flavonoid menggunakan NaOH dapat memberikan warna jingga hingga krem pada

golongan flavonol (Tohir *et al.*, 2011). Hal ini dikarenakan flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Kusnadi and Devi, 2017).

#### **4.5.1.2 Uji Alkaloid**

Hasil uji alkaloid ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menunjukkan hasil positif yaitu dengan terbentuknya endapan putih kekuning-kuningan karena senyawa alkaloid direaksikan dengan pereaksi mayer dan HCl 2N. Penambahan HCl bertujuan untuk menarik senyawa alkaloid dalam ekstrak karena alkaloid bersifat basa maka dengan penambahan asam seperti HCl akan terbentuk garam, sehingga alkaloid akan terpisah dengan komponen-komponen lain dari sel tumbuhan yang ikut terekstrak dengan mendistribusikannya ke fase asam. Setelah itu dilakukan pemanasan selama 2 menit di atas penangas air kemudian didinginkan, selanjutnya direaksikan dengan pereaksi Mayer terjadi kekeruhan dan terbentuk endapan (Wullur *et al.*, 2012). Pereaksi mayer merupakan pereaksi yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid karena mampu memberikan endapan putih hampir semua alkaloid dan kebanyakan alkaloid bereaksi tanpa membedakan kelompok alkaloid (Sapri *et al.*, 2014).

#### **4.5.1.3 Uji Saponin**

Uji saponin bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa saponin didalam ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*), uji saponin dilakukan dengan 0,1 g masing-masing ekstrak dilarutkan dalam air panas dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat-kuat dan didiamkan selama 15 menit. Uji saponin yang dilakukan diperoleh hasil positif dengan terbentuknya busa. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya penambahan HCl. Busa yang timbul terjadi karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam pelarut non-polar (hidrofobik) sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan saat digojok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa (Latifah, 2016).

#### 4.6 Fraksinasi Daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*)

Fraksinasi yaitu proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Fraksinasi dalam penelitian ini menggunakan pelarut N-heksan sebagai pelarut non-polar, menggunakan *Dichloromethane* sebagai pelarut semi polar dan menggunakan pelarut *aquadestilata* sebagai pelarut polar. Akhir dari proses fraksinasi akan didapatkan fraksi-fraksi yang mengandung senyawa yang secara berurutan dari senyawa non polar, semi polar dan polar (Purwanto, 2015).

Ekstrak dilarutkan dalam akuades 50 ml, dimasukkan ke dalam labu pisah, dan ditambahkan n-heksana sebanyak 50 ml, dihomogenkan secara perlahan-lahan, setelah didiamkan terjadi pemisahan antara fraksi n-heksana dan akuades. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi akuades. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan pelarut *Dichloromethane* 50 ml dengan proses yang sama dengan n-heksana. Fraksinasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Fraksi n-heksana, fraksi *Dichloromethane* dan akuades diuapkan menggunakan oven dengan suhu yang berbeda berdasarkan titik didih pelarut yang digunakan sehingga diperoleh fraksi kering. Ketiga fraksi yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya (Retnowati *et al.*, 2015).

Hasil proses fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi n-heksan berada diatas sedangkan fraksi *aquadestilata* terletak dibawah, karena *aquadestilata* memiliki berat jenis yang lebih besar daripada berat jenis n-heksan. Hasil fraksi *Dichloromethane* berada di lapisan bagian bawah dan fraksi *aquadestilata* terletak pada lapisan bagian atas, hal tersebut dikarenakan bahwa pada fraksi *aquadestilata* mempunyai berat jenis lebih kecil, daripada *Dichloromethane*. Pelarut *aquadestilata* mempunyai massa jenis sebesar 1,000 gr/ml, sedangkan pelarut *Dichloromethane* mempunyai massa jenis 1,326 gr/ml dan pelarut n-heksan memiliki massa jenis sebesar 86,18 gr/ml (Obenu, 2019).

Hasil rendemen fraksi daun majapahit dapat dilihat pada **Tabel 4.6**.

**Tabel 4.6 Hasil Rendemen Fraksi Daun Majapahit**

Sampel	Fraksi	Bobot Fraksi	Bobot Serbuk Simplisia	% Hasil
Fraksi Daun Majapahit ( <i>Crescentia cujete L.</i> )	<i>Aquadestilata</i>	31 gr		0,18 %
	<i>Dichlorometan</i>	1 gr	550 gr	5,63 %
	n-Heksana	3 gr		0,54 %

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Fraksi aquades memiliki presentase rendemen lebih tinggi daripada pelarut *Dichlorometan* dan pelarut n-Heksan, karena dalam daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) memiliki kandungan senyawa yang bersifat polar sehingga fraksi *Dichlorometan* dan n-Heksan memiliki hasil renelemen rendah. Pelarut aquades yang bersifat polar mampu mengekstraksi senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin. Pelarut semi polar akan mengekstraksi senyawa terpenoid, alkaloid, aglikon, dan glikosida. Pelarut non polar akan mengekstraksi senyawa kimia, seperti : lilin, lipid, dan minyak yang mudah meguap (Susanto *et al.*, 2012).

#### **4.7 Uji Aktivitas Daun Majapahitt (*Crescentia cujete L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***

Uji aktivitas antibakteri daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pada ekstrak daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan menggunakan varian konsentrasi 5%, 10%, dan 15%, dengan K (+) *Chloramphenicol* dan K (-) DMSO 10%. *Chloramphenicol* digunakan sebagai kontrol positif karena pada antibiotik *Chloramphenicol* memiliki mekanisme senyawa yang sama dengan senyawa yang terkandung pada daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) yaitu senyawa flavonoid dan alkaloid (Hartati *et al.*, 2017). DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif, karena selain sebagai pelarut ekstrak, DMSO 10% menurut Maulana *et al* (2021) tidak memiliki aktivitas

antibakteri. Hasil zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dapat dilihat pada **Tabel 4.7**.

**Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi daun Majapahit terhadap bakteri *Staphylococcus aureus***

Fraksi	Konsentrasi	Zona Hambat			Rata-rata
		I	II	III	
<i>Aquadesilata</i>	5%	0	9,5	12,5	11
	10%	7	9	19	11,7
	15%	9	9,5	20	12,8
<i>Dichloromethane</i>	5%	8,5	8	8,5	8,3
	10%	9	9	15	11
	15%	9,5	9,5	16,5	11,8
N-Heksana	5%	0	0	0	0
	10%	0	0	9,5	3,2
	15%	0	9,5	10	6,5
K (+)	0,1 %	13,5	21	30	21,5
K (-)	10 %	0	0	0	0

Keterangan : K(+) *Chloramphenicol*, K (-) DMSO10%

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan fraksi *aquadesilata*, fraksi *Dichloromethane*, dan fraksi N-heksan daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan varian konsentrasi 5%, 10%, dan 15% menunjukkan bahwa ketiga fraksi tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan respon zona hambat kuat hingga lemah, hal dikarenakan menurut penelitian Susanto *et al* (2012) diameter pada zona hambat <5 mm memiliki respon hambatan lemah, diameter pada zona hambat 6-10 mm memiliki respon hambatan sedang, diameter pada zona hambat 11-20 mm memiliki respon hambatan kuat, dan diameter pada zona hambat >21 mm memiliki respon hambatan sangat kuat.

Berdasarkan data hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan ketiga fraksi (fraksi *aquadesilata*, fraksi *Dichloromethane*, dan fraksi N-heksan) menunjukkan bahwa hasil fraksi *aquadesilata* memiliki respon zona hambat kuat dibandingkan dengan fraksi *Dichloromethane*, dan fraksi N-heksan, hal tersebut dikarena pada fraksi *aquadesilata* menurut Pasicolan VLL *et al* (2014), senyawa flavonoid lebih

mudah larut dalam pelarut air atau pelarut yang bersifat polar. Hal tersebut sesuai dengan hasil uji aktivitas antibakteri yang memiliki zona hambat sedang hingga lemah dan memiliki nilai diameter zona hambat diatas fraksi lainnya, sehingga fraksi *aquadestilata* merupakan fraksi teraktif.

Uji aktivitas antibakteri fraksi *aquadestilata* daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) menggunakan konsentrasi 5%,10%,15% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada kontrol positif (+) menggunakan *Chloramphenicol*, hasil uji aktivitas antibakteri pada *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif memiliki rata-rata 21,5 mm termasuk kategori respon hambat sangat kuat, hal tersebut sesuai dengan penelitian Ratna *et al* (2016) *Chloramphenicol* sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada hasil uji kontrol negatif (-) menggunakan DMSO 10% memiliki rata-rata 0,00 mm, hal tersebut sesuai dengan penenlitan Maulana *et al* (2021) pada kontrol negatif DMSO 10% tidak menunjukkan adanya zona hambat.

#### 4.8 Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan data yang berbeda, sehingga dilanjutkan analisis data statistik menggunakan program SPSS dengan metode *One Way Anova*. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dapat dilakukan setelah data melalui uji normalitas dan uji homogenitas, analisis ini digunakan untuk mengetahui data terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan atau antibakteri yang dihasilkan berdistribusi normal. Hasil uji analisis statistika dapat dilihat pada **Tabel 4.8**.

**Table 4.8** Analisis hasil uji aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit

Analisa data	Metode	Sig
Uji Normalitas	<i>Shapiro-wilk</i>	0,324
Uji Homogenitas	<i>Levene ststistic</i>	0,715
Analisis Hasil	<i>One Way Anova</i>	0,608

Data yang dihasilkan pada analisis hasil uji normalitas dan uji homogenitas aktivitas antibakteri fraksi daun Majapahit menunjukkan nilai yang akurat dan didapatkan nilai  $p > 0,05$  ( uji normaliatas  $p=0,068$  dan uji homogenitas  $p=0,715$ ) yang berarti data berdistribusi normal atau  $H_0$  diterima. Dari penilaian distribusi

daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil data yang bersifat normal dan homogen, sehingga dilakukan uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan. Pada hasil pengujian statistik menggunakan *One Way Anova* didapatkan nilai  $p > 0,05$  (uji *One Way Anova*  $p = 0,608$ ), maka dapat diartikan bahwa tidak ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.6 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Fraksi *aquadestilata*, fraksi *Dichloromethane*, dan fraksi N-heksan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan dengan adanya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri.
2. Fraksi *aquadestilata* merupakan fraksi teraktif daun Majapahit (*Crescentia cujete L.*) dengan menunjukkan adanya zona hambat yang paling luas pada uji aktivitas antibakteri dan fraksi *aquadestilata* pada konsentrasi 5% merupakan fraksi optimum terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa dalam fraksi daun Majapahit.
2. Perlu dilakukan lebih lanjut tentang uji aktivitas menggunakan metode Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak dan fraksi daun Majapahit.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji praklinis pada hewan coba untuk mengenai khasiat daun Majapahit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulah AAB, MAA, T., Almansor and MA, 2011. Non prescribed sale of antibiotics in Riyadh,. *Saudi Arabia: A Cross Sectional Study* , *BMC Public Health*, p.11:538.
- Aksara, R., Weny, J. and Musa, L., 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Entropi*, 3(1), pp.514–519.
- Ali, A., 2005. Mikrobiologi Dasar Jilid I. , (Jurusan Biologi UNM. Makassar).
- Amiliah, A., Nurhamidah, N. and Handayani, D., 2021. Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Alotrop*, 5(1), pp.92–105.
- Anam, C., Agustini, T. and Romadhon, R., 2014. Pengaruh Pelarut Yang Berbeda Pada Ekstraksi *Spirulina Platensis* Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), pp.106–112.
- Andhiarto, Y., Andayani, R. and Nur Hidayatul Ilmiyah, 2019. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss. ) DENGAN METODE EKSTRAKSI PERKOLASI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Pharmacy Science And Technology*, 2(1), pp.102–111.
- Asfiyah, S., 2020. Modifikasi Deanstark Upaya Efisiensi Proses Distilasi Uap Minyak Biji Pala Dalam Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(1), p.10.
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W. and 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)(Fakultas Perikanan dan Kelautan-Universitas Airlangga), pp.13–124.
- Atlas, R., 2010. Handbook of Microbiological Media. 4th Ed. *Washington, D.C.:* *CRC Press*.
- AYU SI, 2017. UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA HASIL FRAKSINASI EKSTRAK RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN. *SKRIPSI*, pp.1–102.
- Azizah, A.N. et al., 2019. Efek Kombinasi Fraksi Alkaloid *Imperata cylindrica* L . dengan Amoksisilin atau Kloramfenikol terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus* Effects of Combination of Alkaloid Fraction from *Imperata cylindrica* L . with Amoxicillin or Chloramphenicol on Inhibit. , 8(2), pp.74–82.

- Beatrix Anna Maria Fernandez, 2013. Studi Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Di Kabupaten Manggarai dan Manggarai Barat – NTT Beatrix. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol.2*, 2(April), pp.36–42.
- Bimakr, M. et al., 2011. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves, *Food and Bioproducts Processing*. , 89, pp.67–72.
- Bonang G, 1992. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16. *Jakarta : Buku Kedokteran EGC*.
- BPOM RI, 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik secara In Vitro. , (Jakarta : BPOM RI).
- Bulele, T., Rares, F.E.S. and Porotu'o, J., 2019. Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal e-Biomedik*, 7(1), pp.30–36.
- Chairunnisa, S., Wartini, N.M. and Suhendra, L., 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), p.551.
- Charisma, N.Q.S., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*". *skripsi*, (Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung).
- Cushnie TP and Lamb Andrew J, 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, pp.343–356.
- Departemen Kesehatan RI, 1985. Cara Pembuatan Simplisia. , (Depkes. Jakarta).
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Parameter Standard Umum ekstrak Tumbuhan Obat. , (Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan).
- Depkes RI, 2008. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I. , (Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia).
- Depkes RI, 2006. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Vol.2. , (Jakarta : Departemen Kesehatan RI).
- Depkes RI, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. , pp.1–3.
- Dewi, M. kusuma and dkk, 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Jurnal Lentera Bio*, 3(1), pp.51–57.
- Diyantika, D. and Mufida, D.C., 2014. Perubahan Morfologi *Staphylococcus aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* ) secara In Vitro ( The Morphology Change of *Staphylococcus Aureus* Caused by

- Ethanol extracts of Cocoa Beans ( *Theobroma Cacao* ) in Vitro ). , 2(2), pp.337–345.
- Endarini, L.H., 2016. Farmakognisi dan Fitokimia. , (Jakarta : Pusdik SDM Kesehatan).
- Erikawati, D., Santosaningsih and S., S., 2016. Tingginya Prevalensi MRSA pada Isolat Klinik Periode 2010- 2014 di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29, pp.149– 156.
- Fathurrachman, D.A., 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. , (Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. Jakarta).
- Fatisa, Y., 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), pp.31–38.
- Garrity.G. M., J.A., B. and T.G, L., 2011. Taxonomic Outline of The Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriologi 2th Edition. *United Stated of America, Springer, New York Hendelberg*.
- Ghazali, I., 2011. Aplikasi Analisa Multivariate dengan Program SPSS 19. , (Semarang : BP Universitas Diponegoro).
- Hadi, S., 2012. PENGAMBILAN MINYAK ATSIRI BUNGA CENGKEH (Clove Oil) MENGGUNAKAN PELARUT n-HEKSANA DAN BENZENA. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(2)(ISSN 2303-0623), pp.25–30.
- Hafidh, F. and Waluyo, B., 2020. Analisis Diversitas Morfologi dan Potensi Persebaran Maja (*Aegle marmelos* dan *Crescentia cujete*) di Mojokerto. *Jurnal Agro*, 7(2), pp.213–223.
- Handayani, Hana, Feronika Heppy Srihefyana and Yuanita, 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak metode Uji Ultrasonic Bath (Kajian rasio bahan: pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 4.
- Handoyo, D., 2020. Pengaruh Lama Waktu Maserasi ( Perendaman ) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih ( *Piper Betle* ) The Influence Of Maseration Time ( Immeration ) On The Vocity Of Birthleaf Extract ( *Piper Betle* ). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), pp.34–41.
- Handrianto, P., 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale* Var. *Rubrum* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. , 2(1), pp.1–4.
- Harborne JB, 1996. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Meanganalisis Tumbuhan, Terbitan ke-2. In: *ITB Press, Bandung*.
- Hartati, H., Suryani, I., Putri, S.E. and Hasyim, M., 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Crescentia cujete* L terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. , (Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM),

pp.425–427.

Hasanah, U., Rosdiana, D. and Syaefudin, 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang dan daun berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Current Biochemistry*, 4(1), pp.1–14.

Hasrianti, Nururrahmah and Nurasia, 2016. PEMANFAATAN EKSTRAK BAWANG MERAH DAN ASAM ASETAT SEBAGAI PENGAWET ALAMI BAKSO. , 07(1), pp.9–30.

Hayati, N.. et al., 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), pp.76–82.

Heliawati, L., 2018. KIMIA ORGANIK BAHAN ALAM. , (UNIVERSITAS PAKUAN BOGOR), pp.1–178.

Jayanuddin, 2011. Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun Cengkeh Dari Proses Penyulingan Uap. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 10, pp.37–42.

Juariyah, S. and Sari, W.P., 2018. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp. *Jurnal analisis Kesehatan Klinikal Sains*, 6(1), pp.24–29.

Kadji, M.H., Runtuwene and Citraningtyas, G., 2013. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *MIPA UNSRAT. Manado*.

Karou D et al., 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*, 4(12), pp.1452–1457.

Khilyasari, I., 2017. Antibakteri Perasan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. , (Surabaya: Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.).

Khusnan, IOS, S. and Soegiyono, 2008. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fenotip Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Limbah Penyembelihan dan Karkas Ayam Potong. *Jurnal Veteriner*, 9(1), pp.45–51.

Kursia, S., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil asetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3(2), pp.72–77.

Kusnadi, K. and Devi, E.T., 2017. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVANOID PADA EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) DENGAN METODE REFLUKS. *PSEJ (Pancasakti Science Education Journal)*, 2(1), pp.56–67.

Kusumowati ITD, Melannisa R and Prasetyawan A, 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma affine* D. Don). *Biomedika*, 6(2), pp.22–5.

- Latifah, 2016. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galangal* L. Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil- 2-Pikrilhidrazil). *Skripsi.Malang: Fakultas Sain dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.*
- Laurensius FB, 2019. ANALISIS MESIN PENGHASIL AQUADES MENGGUNAKAN MESIN SIKLUS KOMPRESI UAP DENGAN PENGARUH PUTARAN KIPAS SEBELUM EVAPORATOR. , 1–6.
- Li H, Wang Z and Liu Y, 2003. Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong-Yao-Cai*, 26(6), pp.444–448.
- Lowy, F.D., 2014. Stapylocal Infections In:Harrison’s Principles of Internal Medicine. *19th Edition. The Mac Grow-Hill Companies, Inc.*
- Martina and Maria, N., 2012. Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica*.L.) Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. , (Denpasar: Program Pascasarjana, Universitas UDAYANA.).
- Materia Mediaka Indonesia, 2021. *Determinasi511.pdf*,
- Maulana, A.R., Triatmoko, B. and Hidayat, M., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *jurnal pustaka kesehatan*, 9(Universitas Jember).
- Melati Aprilliana Ramadhani, A.K.H., Lukitasari, N.F., Jusman and Hari, A., 2020. Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (. , 03(February), pp.8–18.
- Najib, A. et al., 2018. Standardisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Daun Jati Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), pp.241–245.
- New Jersey Department Health, 2008. Dichloromethane, Hazardous Substance Fact Sheet.
- Ningrum, D., 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Maja ( *Crescentia Cujete* L .) Sebagai Antibakteri Pada Bakteri *E . coli* dan *S . aureus* Effectiveness Maja Leaves ( *Crescentia Cujete* L . ) As Antibacterial in *E . coli* and *S . aureus* Bacteria. *Proceeding Biology Education Conference*, 16, pp.285–287.
- Ningsih, A.P. and Nurmiati, A.A., 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli*. *Jurnal Biologi*, (Universitas Andalas. Sumatra Barat.).
- Noer I.S and Nurhayati L, 2006. Bioaktivitas *Ulva reticulata* Forsskal. Asal Gili Kondo Lombok Timur Terhadap Bakteri. *Jurnal Biotika*, 5(1), pp.45–60.
- Nugroho, Y., 2012. Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper betle* L.) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus scutellaroides* (L.) R. BR.) Leaf, Madu dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel

- Makrofag. *Media Litbang Kesehatan*, 22(1), pp.1–5.
- Nurhasanah., Harlia., & A., 2014. Uji Bioaktivitas Daun Maja (*Crescentia cujete*) Sebagai Anti Rayap. *Jurnal Kimia*, 3(3), pp.43–45.
- Nurjanah, S. et al., 2021. A Cream Formulation Of Extract Of Maja Leaves (*Crescentia cujete*) As An Antimicrobial Against *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biota*, 7(2), pp.94–100.
- Nurjannah, R., 2017. Uji Aktivitas Bakteri Metode Difusi Sumuran Karya Tulis Ilmiah Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Politeknik Kesehatan Banjarmasin.
- Obenu, N.M., 2019. Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Metabolit Fraksi Diklorometana dan Aquades Ekstrak Metanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *jurnal saintek lahan kering*, 1(Universitas Timor).
- Octaviani, M., Fadhli, H. and Yuneistya, E., 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 6(1), pp.1–7.
- Ogbuagu, M.N., 2008. The Nutritive and Anti Nutritive Compositions of Calabash (*Crescentia cujete* L.) Fruit Pulp. *J Anim Vet Adv*, 7(9), pp.1069–1072.
- Oktavia, J., 2011. Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis. , (Bogor: Institut Pertanian Bogor).
- Parvin MS et al., 2015. Evaluation of in vitro anti-inflammatory and antibacterial potential of *Crescentia cujete* leaves and stem bark. *BMC Research Notes*, 8(DOI: 10.111186/s13104-015-1384-5.), pp.412–418.
- Pasicolan VLL et al., 2014. Flavonoid screening and antiplatelet aggregation activity of miracle fruit. *Root Gatherers*, 7(2014), pp.74–89.
- Pelczar, Michael J. and E.C.S, C., 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. , (Jakarta : UI Press).
- Permenkes, R., 2012. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007. , (Jakarta).
- Pratiwi, 2008. Mikrobiologi Farmasi. In: *Jakarta : Penerbit Airlangga*. pp. 22-24,188-189.
- Prayoga, E., 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Metode Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. , (Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta).
- Purwanto, S., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan*

*Sriwijaya*, 2(2), pp.84–92.

- Rahbiatul Adawiyah, 2017. Analisis Kadar Saponin Ekstrak Metanol Kulit Batang Kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd) dengan Metode Gravimetri. , (Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Makassar.).
- Rahmadani, F., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. , (Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta.).
- Rahmaningsih, S., & J., 2016. Study Tentang Pemanfaatan Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete*) Untuk Penanggulangan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In vitro. , (VI, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang), pp.52–58.
- Ratna, D. et al., 2016. Daya Antibakteri Ekstrak dan Fraksi- Fraksi Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Sensitif dan Multiresisten. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), pp.103–110.
- Retnowati, R., Ismawati, F. and Sutrisno, 2015. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia Student Journal*, 1 (1), pp.785–790.
- Rijayanti RP, 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera indica* L) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. , (Disertasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungura. Pontianak).
- Riska F, S, P. and Sarwiyono, 2014. Inhibition Activity of Moringa oleifera Leaf Juice to Growth of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus uberis* Bacteria Caused Mastitis in Dairy Cows. *Jurnal, Fakultas Pertanian*, (Universitas Brawijaya, Malang).
- Rosidah, I. et al., 2017. Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) Menggunakan Response Surface Methodology. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(2), pp.79–88.
- Rustama MM and Lingga MA, 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp.), dan Udang Rebon (*Mysis Acetes*). *Jurnal Biotika*, 5(2), pp.35–40.
- Saifudin and Azis, 2011. Stansarisasi Bahan Obat Alam. , (Yogyakarta: Graha Ilmu).
- Santosa, H., Sari, W. and Handayani, N.A., 2018. Ekstraksi Saponin dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik suatu Usaha untuk Mendapatkan Senyawa

- Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(2).
- Sapri, Fitriani, A. and Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda*. , (Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim ISBN: 978-602-19421-0-9).
- Sari, M.P., & Susilowati, R.P., 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* (L) Corr) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 27 (1), pp.1–9.
- Sari, V.R., 2012. Variasi Morfologi Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol* Hook. F & Thomson) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda. , (Universitas Airlangga.).
- Sato, A., 2012. DISTILASI UAP PADA PEMISAHAN MINYAK ATSIRI DENGAN MENGGUNAKAN UAP SUPERHEATED. *Jurnal IPTEK*, 16(2), pp.104–110.
- Saxena, G. and Kalra., 2011. Antimicrobial Activity Pattern of Certain Terpenoids. *Internasional Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), pp.87–91.
- Setiabudy, R., 2007. *Framakologi dan Terapi*. , (Jakarta : Gaya Baru).
- Setyowati, W., 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Etanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr). *Varietas Petruk. Kimia Organik Bahan Alam*, (FKIP UNS. Surakarta.).
- Sineke, 2016. Penentuan Kandungan Fenolik Dan Sun Protection Factor (Spf) Dari Ekstrak Etanol Dari Beberapa Tongkol Jagung (*Zea Mays* L.). *PHARMACONJurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 5(1), pp.275–283.
- Smith, B. A & Dollear, F.G., 1947. Oil From Calabash Seed, *Crescentia cujete*, L. *The Journal of The American Oil Chemist Society*, 24(2)(doi: 10.1007/BF02642127), pp.52–54.
- Sogandi, Darma, D.W.S.T. and Raudatul, J., 2019. Potensi Senyawa Antibakteri Dari Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza Glabra* L) Terhadap *Bacillus Cereus*. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(Vol 22, No 4 (2019): Volume 22 Issue 4 Year 2019), pp.105–111. Available at: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/article/view/22122>.
- Sri Rahmaningsih and Andriani, R., 2017. AKTIVITAS BIOLOGIS EKSTRAK DAUN MAJAPAHIT (*CRESCENTIA CUJETE*) DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI *VIBRIO HARVEYI* SECARA INSILICO. , pp.80–87.
- Sugiharto and Setyaningrum, H., 2021. Prosiding Seminar Nasional Kesehatan 2021 Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Gambaran Status Gizi Pada Balita : Literature Prosiding Seminar Nasional Kesehatan 2021 Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah

- Pekajangan. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan*, 1(Anggraeni 2019), pp.385–392. Available at: <https://jurnal.umpp.ac.id/index.php/prosiding/article/view/689>.
- Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R & D*, 80(Bandung: Alfabeta), pp.38–39.
- Sumadi, R.S., 2011. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*), (Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Surakarta).
- Suryanto, E. and Wehantouw, F., 2012. Aktivitas Penangkal Radikal Bebas dari Ekstrak Fenolik Daun Sukun (*Artocarpus altilis F.*). *Chemistry Progress*, 2, pp.1–7.
- Susanto, Sudrajat and Ruga., R., 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11 (12), pp.181–190.
- Susanty and Bachmid, F., 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*) (Susanty, Fairus Bachmid). *KONVERSI*, (ISSN 2252-7311), pp.87–93.
- Tetti, M., 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (2), pp.361–367.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M. and H, K.G.& K., 2011. Phytochemical Screening And Extraction. *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp.98–106.
- Tjay, T.H. and Rahardja, K., 2015. *Obat-Obat Penting*. (Jakarta : PT. Elex Media Komputindo).
- Umboh, P.M.T., Wewengkang, D.S. and Yamlean, P.V.Y., 2018. , Aktivitas Antibakteri Fraksi Teripang Laut *Holothuria atra* terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*, 7(4).
- Uthia, R., Arifin, H. and Efrianti, F., 2017. PENGARUH HASIL FRAKSINASI EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum L.*) TERHADAP AKTIVITAS SUSUNAN SARAF PUSAT PADA MENCIT PUTIH JANTAN. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(1), pp.85–95.
- Wahyu, R, M. and Dewi, i, F., 2018. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale Var Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Vovational Healt Studies*, 01, pp.113–116.
- Wahyusi, K.N., Irnawati, N.D. and Astari, R.Z., 2020. Koefisien Perpindahan Massa Ekstraksi Flavonoid dari Buah Pare dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia*, 14(2), pp.40–44.
- Wijaya Heri, Novitasari Jubaidah and Siti, 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris L.*

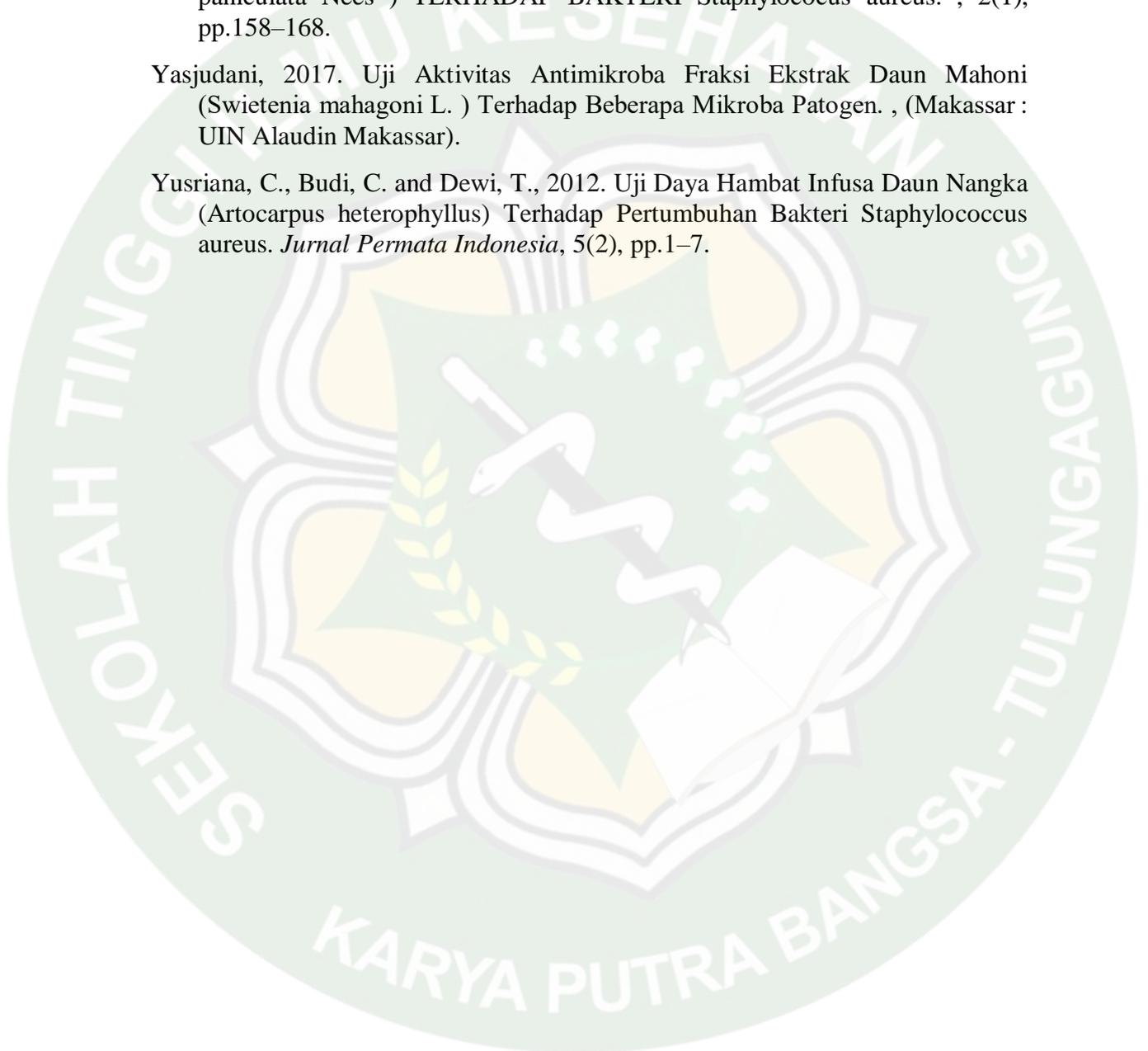
Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), pp.79–83.

Wullur, A.C., Schaduw, J. and Wardhani, A.N.K., 2012. IDENTIFIKASI ALKALOID PADA DAUN SIRSAK ( *Annona muricata* L .).

Yanti, Y.N., Yanti, Y.N. and Mitika, S., 2017. UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBILOTO ( *Andrographis paniculata* Nees ) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. , 2(1), pp.158–168.

Yasjudani, 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Daun Mahoni (*Swietenia mahagoni* L. ) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen. , (Makassar : UIN Alaudin Makassar).

Yusriana, C., Budi, C. and Dewi, T., 2012. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2), pp.1–7.





# LAMPIRAN



## Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Majapahit



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu  
Jl Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan  
Jl Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang  
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 511/ 102.7-A/ 2021  
Sifat : Biasa  
Perihal : Determinasi Tanaman Majapahit

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : NIKEN DESI WULANDHARI  
NIM : 1813206020  
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman majapahit

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Bignoniaceae
Marga	: Crescentia
Jenis	: <i>Crescentia cujete</i> L.
Nama Umum	: Majapahit, mojopahit, mejo, maja, berenek, berunek (Jawa); tabu kayu (Melayu); bila balanda (Makasar); bush no (Ternate).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-16b-286a-287a; Bignoniaceae-1b-3a; Crescentia-3; <i>C. cujete</i> .

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi +10 m. Batang: Berkayu, bulat, percabangan simpodial, beralur, putih kehijauan. Daun: Majemuk, menyirip, lonjong, tepi rata, ujung meruncing pangkal membulat, panjang 10-15 cm, lebar 5-7 cm, bertangkai pendek, hijau, pertulangan menyirip, hijau. Bunga Tunggal, di cabang dan ranting, kelopak bentuk corong, ujung bercangap, hijau pucat, benang sari empat, panjang ±2 cm, putih, putik panjang ±2 cm, kepala putik bentuk corong, putih, mahkota bentuk bibir, putih. Buah: Buni, bulat, diameter ±20 cm, hijau kekuningan. Biji: Kotak, panjang ±5 mm, coklat. Akar: Tunggang, putih kotor.

3. Bagian yang digunakan : Daun

4. Penggunaan : Penelitian

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGI. 2008. *FEORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 24 Agustus 2021

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABRUUR, SKM, M.Kes.  
PEMBINA  
NIP. 19680203 199203 1 004

## Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian



Penyiapan alat dan bahan



Penimbangan serbuk simplisia



Proses maserasi



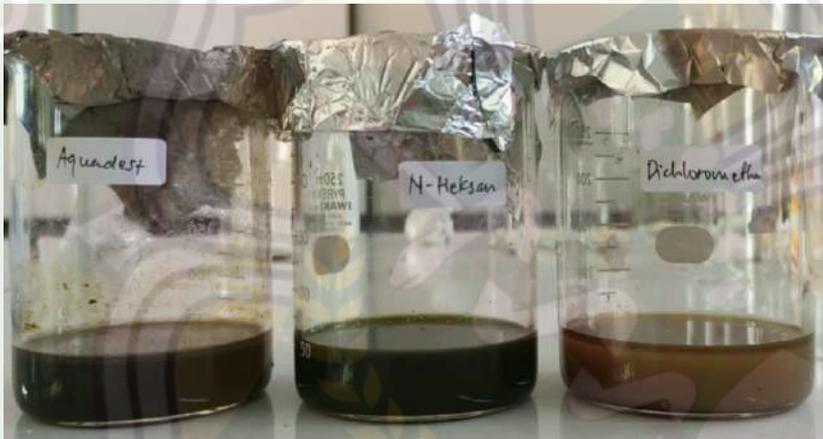
Tahap Penyaringan



Hasil ekstraksi



Fraksinasi



Hasil Filtrat



Uji bebas etanol

### Lampiran 3 Hasil Skrinning Ekstrak



Uji Flavonoid

Uji Saponin

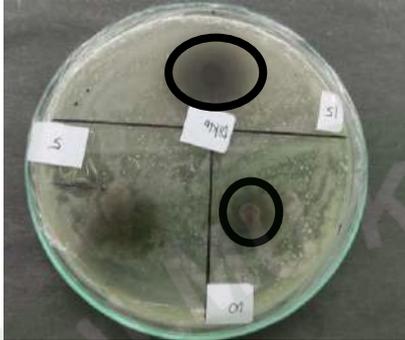
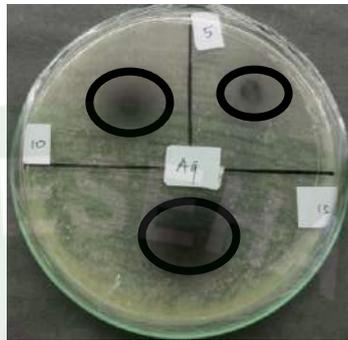
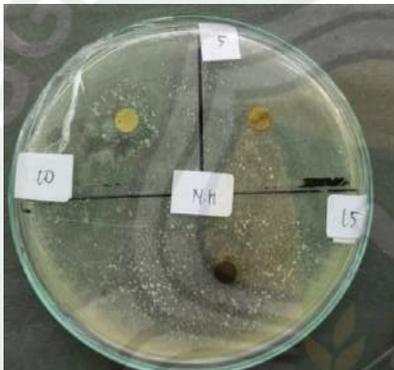
Uji Alkaloid

Mc. Farland

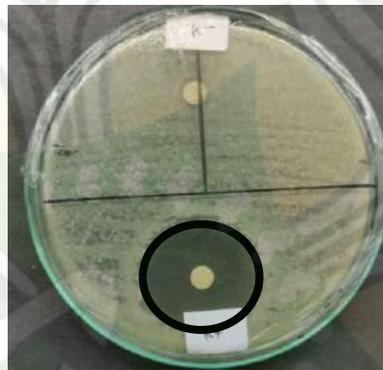


Pewarnaan Gram



**Lampiran 4 Uji Aktivitas Antibakteri**Fraksi *Dichloromethane*Fraksi *aquadestilata*

Fraksi N-Heksan



Kontrol (+) dan kontrol (-)

**Lampiran 5** Perhitungan Bahan

1. Pembuatan Media *Nutrien Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Bobot NB} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,08 \text{ gram}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Bobot NA} &= \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,2 \text{ gram}\end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Uji

- 3.1 Konsentrasi 5%

$$\begin{aligned}\text{Bobot Fraksi} &= \frac{5}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{5}{100} \times 1 \text{ mL} \\ &= 0,05 \text{ gram}\end{aligned}$$

- 3.2 Konsentrasi 10%

$$\begin{aligned}\text{Bobot Fraksi} &= \frac{10}{100} \times \text{Volume} \\ &= \frac{10}{100} \times 1 \text{ mL} \\ &= 0,1 \text{ gram}\end{aligned}$$

- 3.3 Konsentrasi 15%

$$\text{Bobot Fraksi} = \frac{15}{100} \times \text{Volume}$$

$$= \frac{10}{100} \times 1 \text{ mL}$$

$$= 0,15 \text{ gram}$$

#### 4. Perhitungan Hasil

##### 4.1 Uji Kadar Air

$$\text{Rumus \% kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rumus \% kadar air} &= \frac{10 \text{ gr} - 9,35 \text{ gr}}{10 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 6,5\% \end{aligned}$$

##### 4.2 Uji Susut Pengeringan

$$\begin{aligned} \text{Rumus \% susut} &= \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\% \\ &= \frac{2,178 \text{ kg} - 0,753 \text{ kg}}{2,178 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 65\% \end{aligned}$$

##### 4.3 Uji Rendemen Ekstrak

$$\text{Rumus \%} = \frac{\text{bobot awal rendemen yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rumus \%} &= \frac{55 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 10\% \end{aligned}$$

##### 4.4 Uji Rendemen Fraksi

###### 4.4.1 Fraksi *Aquadestilata*

$$\text{Rumus \%} = \frac{\text{bobot awal fraksi yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rumus \%} &= \frac{31 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 5,63\% \end{aligned}$$

###### 4.4.2 Fraksi *Dichloromethane*

$$\text{Rumus \%} = \frac{\text{bobot awal fraksi yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Rumus \%} = \frac{1 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 0,18 \%$$

#### 4.4.3 Fraksi N-Heksan

$$\text{Rumus \%} = \frac{\text{bobot awal fraksi yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Rumus \%} = \frac{3 \text{ gr}}{550 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 0,54 \%$$

### Lampiran 6 Hasil Analisis Data

#### 1. Uji Normalitas

#### Case Processing Summary

	Valid		Cases Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Aquadest	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
Dichlorometan	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
N.Heksan	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Aquadest	,239	9	,146	,911	9	,324
Dichlorometan	,226	9	,200*	,901	9	,259
N.Heksan	,414	9	,000	,629	9	,000

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

a. Lilliefors Significance Correction

## 2. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Konsentrasi	Based on Mean	,449	3	18	,721
	Based on Median	,443	3	18	,725
	Based on Median and with adjusted df	,443	3	13,264	,726
	Based on trimmed mean	,458	3	18	,715

3. *One Way Anova***ANOVA<sup>a</sup>**

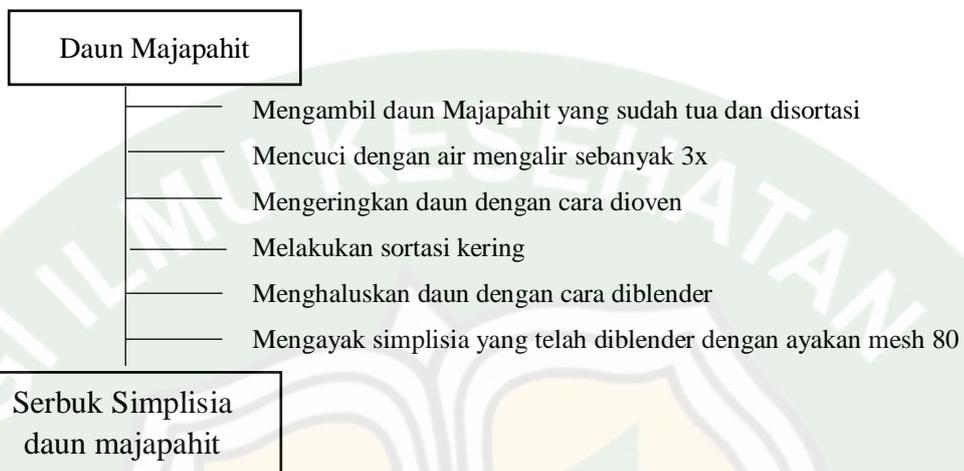
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	14,951	1	14,951	,268	,608 <sup>b</sup>
	Residual	1727,428	31	55,723		
	Total	1742,379	32			

a. Dependent Variable: Zona Hambat

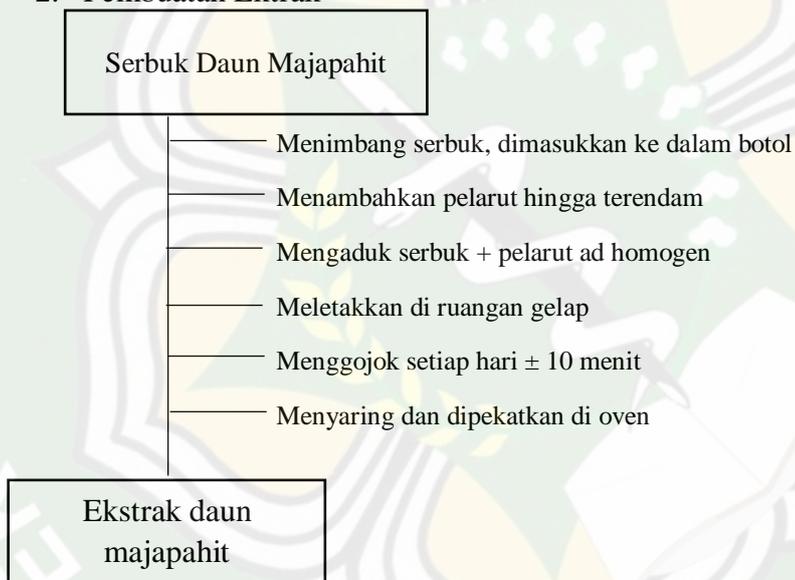
b. Predictors: (Constant), Konsentrasi

## Lampiran 7 Alur Prosedur Kerja

### 1. Pembuatan Simplisia



### 2. Pembuatan Ekstrak



### 3. Fraksinasi

#### Ekstrak Daun Majapahit

1. Menimbang sebanyak 5 gram, dilarutkan 25 mL *aquadest*
2. Memasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 50 mL *aquadest*
3. Menambahkan 25 mL N-Heksan, dikocok
4. Memisahkan fraksi *aquadest* dan fraksi N-Heksan, fraksi N-Heksan ditampung
5. Memasukkan kembali fraksi *aquadest* ke corong pisah dan ditambahkan 25 mL dichlorometan, dikocok
6. Memisahkan fraksi *aquadest* dan fraksi dichlorometan, fraksi dichlorometan ditampung
7. Setiap fraksi di replikasi 3x dan masing-masing fraksi diuapkan di oven

#### Hasil Fraksi

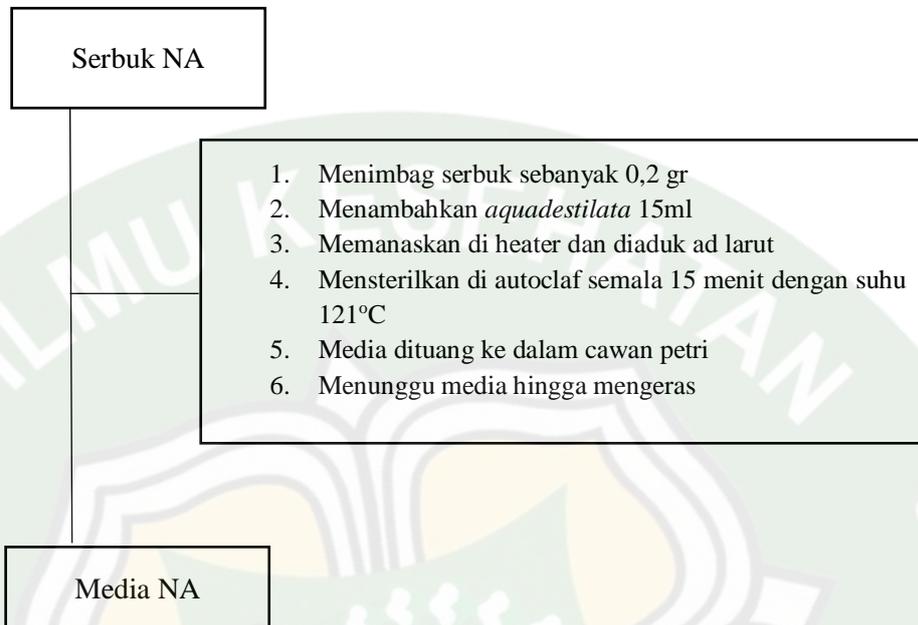
### 4. Sterilisasi Alat dan Bahan

#### Alat dan Bahan Penelitian

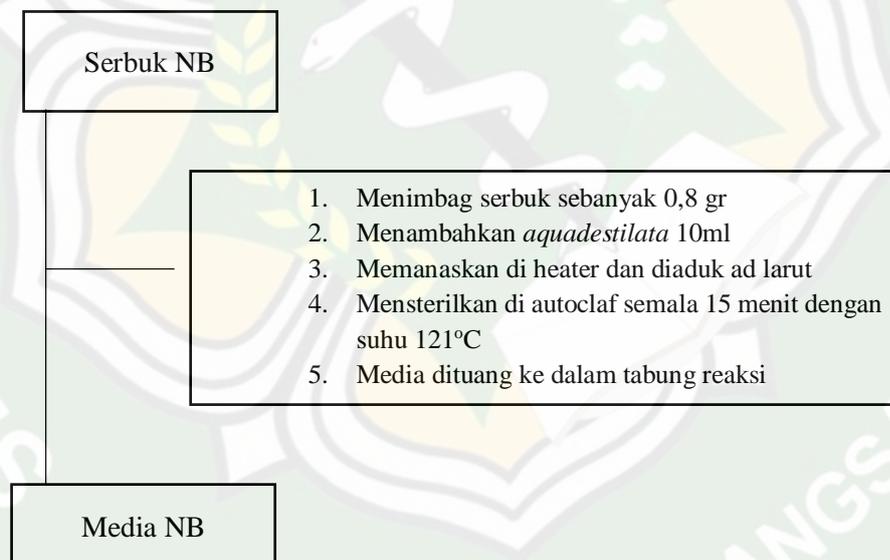
1. Alat : bahan kaca dan stenliss
2. Media : dimasukkan erlenmeyer
3. Membungkus alat dan media dengan alumunim foil
4. Memasukkan ke dalam autoclaf
5. Mengatur suhu autoclaf 121<sup>0</sup>
6. Mensterilkan semala 15 menit dengan suhu 121°C

#### Alat dan bahan steril

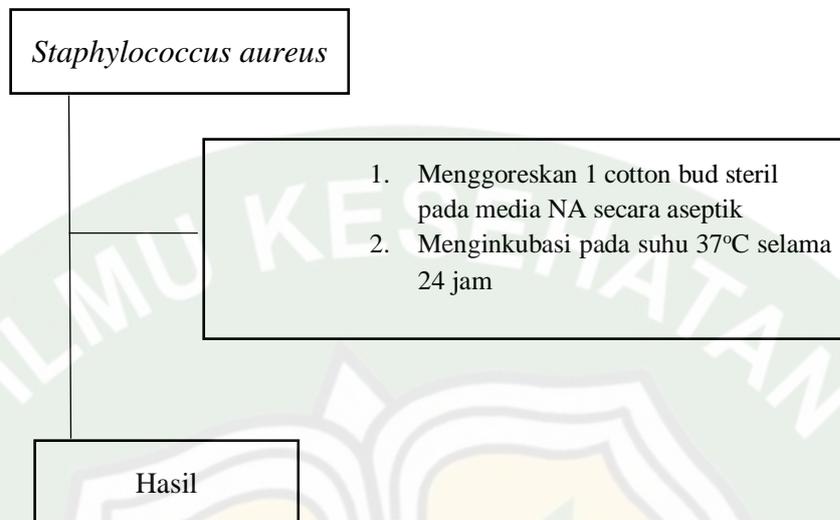
## 5. Pembuatan media NA



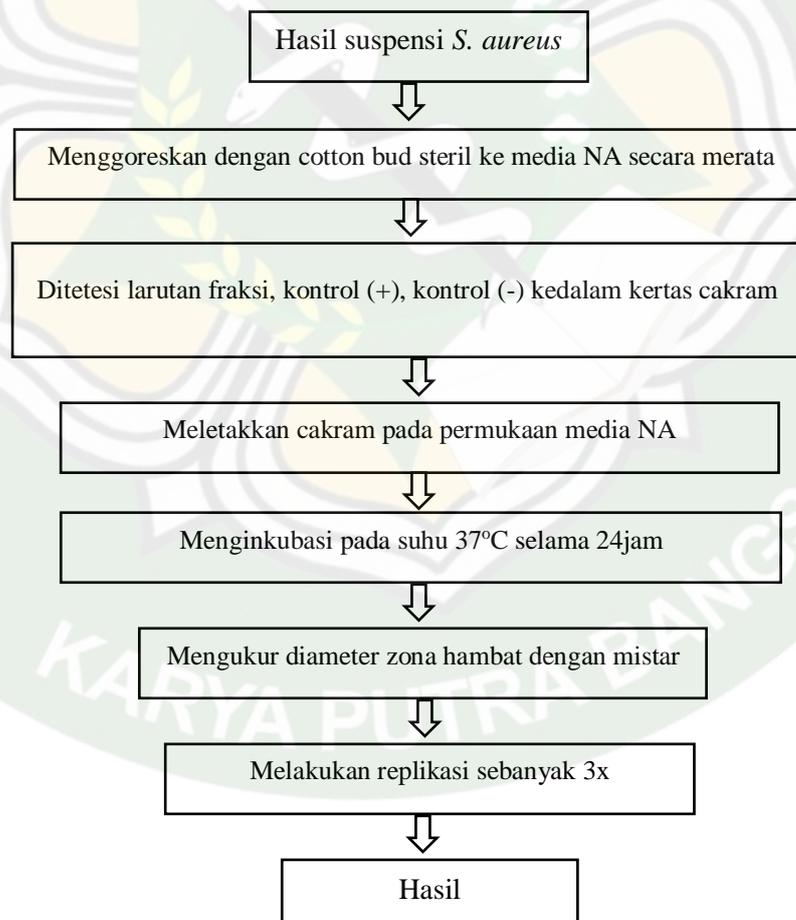
## 6. Pembuatan media NB



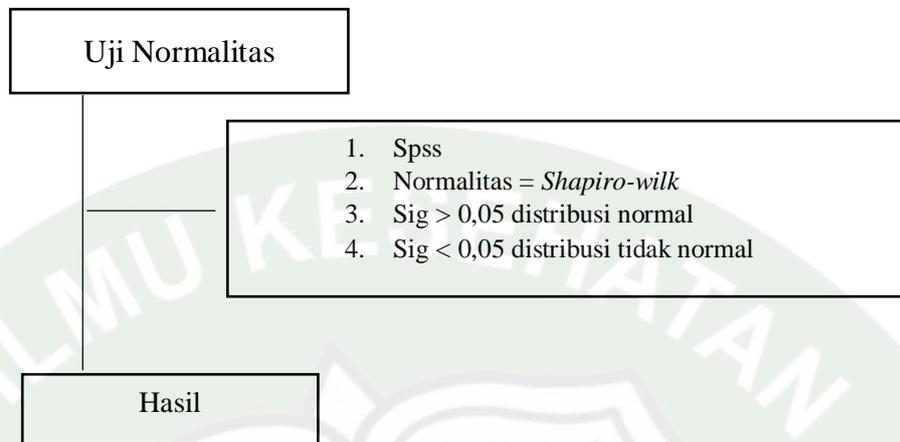
## 7. Peremajaan bakteri



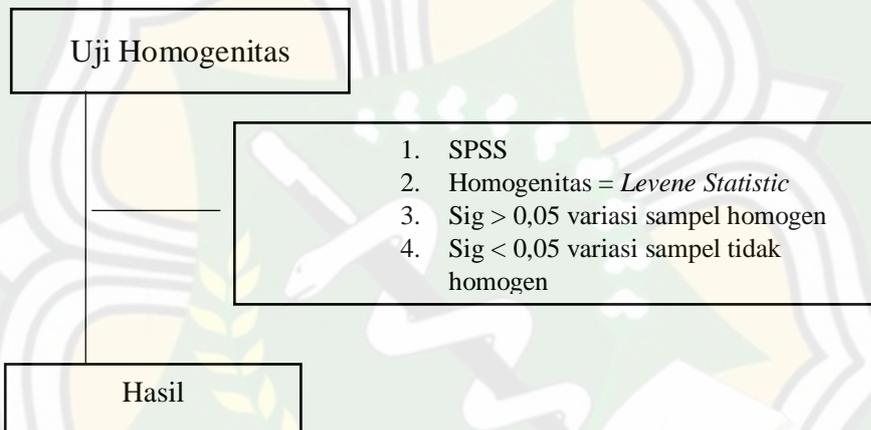
## 8. Uji Aktivitas Antibakteri



## 9. Uji Normalitas



## 10. Uji Homogenitas

11. Uji *One Way ANOVA*