

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi Linn*)
DAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica Papaya
Linn*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* DAN *Eschericia coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



OLEH :

LULUL ULFATUN QORIK'AH

1813206013

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi Linn*)
DAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica Papaya
Linn*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* DAN *Eschericia coli*
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 :

LULUL ULFATUN QORIK'AH

1813206013

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
— DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi Linn*)
DAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica Papaya
Linn*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* dan *Eschericia coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

LULUL ULFATUN QORIK'AH

1813206013

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



apt., Amalia Eka Putri, M.Farm

NIDN 07.28.12.92.01



apt., Choirul Huda, M.Farm

NIDN 07.26.03.85.02

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi Linn*)
DAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica Papaya
Linn*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* dan *Eschericia coli*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

LULUL ULFATUN QORIK'AH

1813206013

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

Tanggal: 03 November 2022

Ketua Penguji : apt. Amalia Eka Putri, M. Farm

(Amalia)

Anggota Penguji : 1. apt. Choirul Huda, M. Farm

(Choirul Huda)

2. apt. Ary Kristijono, M. Farm

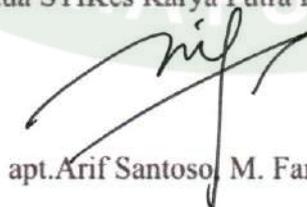
(Ary Kristijono)

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

(Rahma Diyan Martha)

Mengetahui

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santoso, 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 , 25 Oktober 2022

Penulis,

Lulul Ulfatun Qorik'ah

KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena dengan rahmat, karunia, serta taufik dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*“ ini dengan baik meskipun banyak kekurangan didalamnya.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, motivasi dan doa sehingga skripsi dan penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada:

1. Bapak Apt. Arif Santoso, M.Farm., selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
2. Ibu Apt.Dara Pranindya Tilarso, M.Farm., selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
3. Ibu Apt. Amalia Eka Putri, M.Farm., selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan skripsi ini.

4. Bapak Apt. Choirul Huda, M.Farm selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan skripsi ini..
5. Orang tua, yang selalu setiap saat memberi dukungan, semangat dan do'a yang tulus serta selalu membantu baik moril maupun materil yang sangat berarti bagi penulis.
6. Teman teman ugi, nurisma, nungki,shella,siti anisa dan diana yang selalu memberi dukungan dan membantu dalam memberikan saran selama masa penyusunan skripsi ini.
7. Teman kelompok mbak novi dan mas dika yang sudah membantu memberikan dukungan maupun saran nya selama masa penyusunan skripsi ini.
8. Teman teman departemen bahan alam yang sudah membantu dan memberikan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.
9. Teman teman angkatan 2018 yang selalu memberikan dukungan.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk perbaikan skripsi ini sangat diharapkan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulungagung, 08 Februari 2021

Penulis

Lulul Ulfatun Qorik'ah

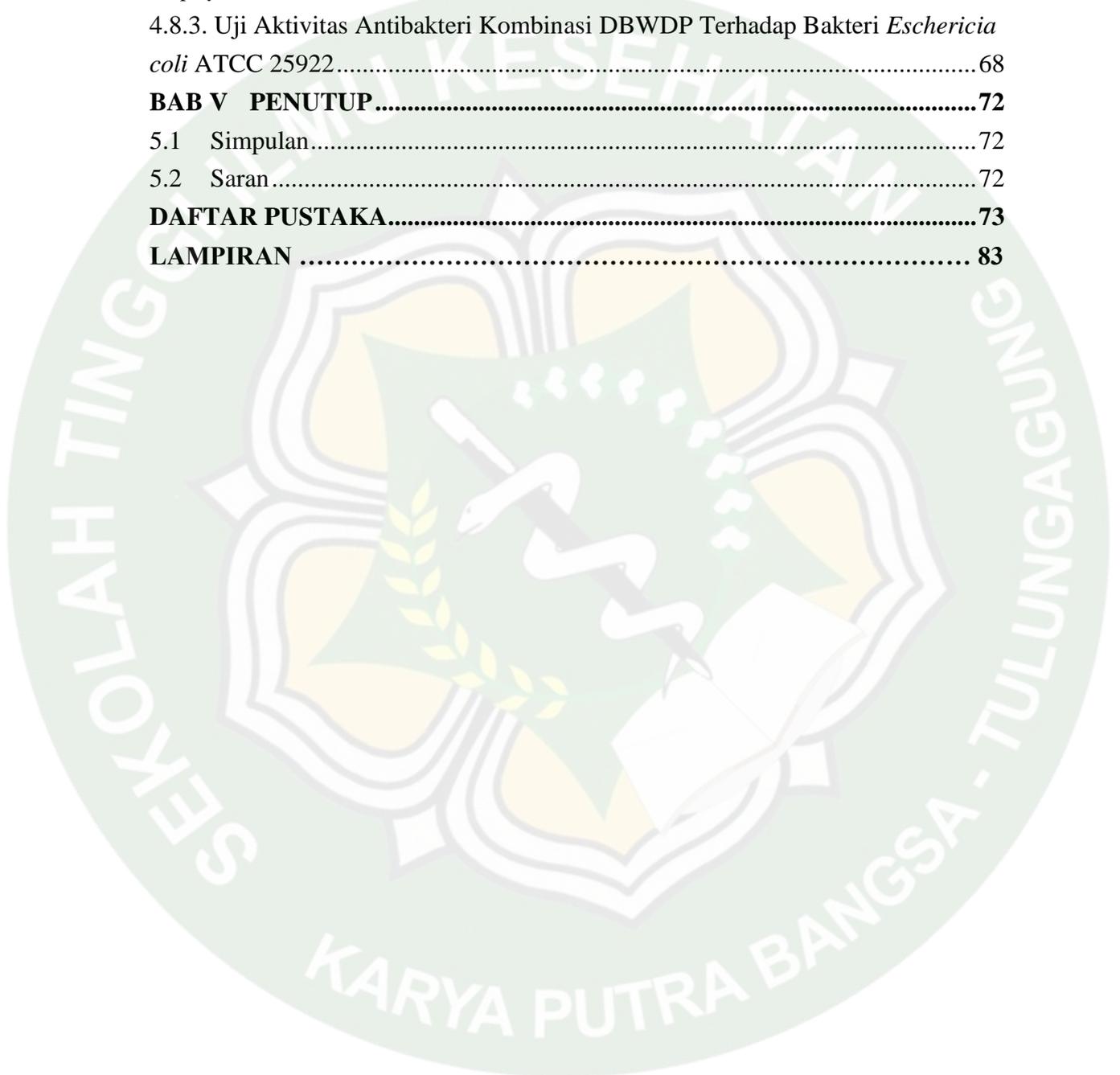
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tanaman belimbing wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	5
2.1.1. Klasifikasi.....	5
2.1.2. Morfologi.....	5
2.1.3. Khasiat tanaman belimbing wuluh	6
2.1.4. Kandungan senyawa tanaman belimbing wuluh	7
2.2. Tanaman pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	10
2.2.1. Klasifikasi.....	10
2.2.2. Morfologi.....	10
2.2.3. Khasiat tanaman pepaya	12
2.2.4. Kandungan senyawa tanaman pepaya	12
2.3. Simplisia.....	15
2.3.1. Pengertian Simplisia	15
2.3.2. Syarat - syarat simplisia.....	16
2.3.3. Pembuatan simplisia	17
2.3.4. Penghalusan simplisia.....	19
2.4. Ekstraksi.....	20

2.4.1. Ekstraksi cara dingin	t20
2.4.2. Ekstraksi cara panas.....	22
2.5. Pelarut	23
2.5.1. Air.....	23
2.5.2. Etanol.....	24
2.5.3. Etil Asetat	25
2.5.4. Eter.....	25
2.5.5. Diklorometana	25
2.6. Bakteri	25
2.6.1. Definisi bakteri	25
2.6.2.1. Bakteri Gram positif	26
2.6.2.2. Bakteri Gram negatif	26
2.7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.7.1. Klasifikasi.....	27
2.7.2. Morfologi.....	27
2.8. Bakteri <i>Eschericia coli</i>	28
2.8.1. Klasifikasi.....	28
2.8.2. Morfologi.....	28
2.9. Antibakteri.....	29
2.9.1. Mekanisme kerja antibakteri	29
2.10. Metode Pengujian Antibakteri.....	30
2.10.1. Metode difusi	31
2.10.2. Metode dilusi	32
2.11. Antibiotik pembanding sebagai kontrol positif	33
2.12. Hipotesis	35
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	35
3.1. Bahan	35
3.2. Alat.....	35
3.3. Populasi Penelitian.....	35
3.4. Sampel Penelitian.....	35
3.5. Variabel Penelitian.....	35
3.5.1 Variabel Bebas.....	36
3.5.2 Variabel Terikat.....	36
3.5.3. Variabel Kontrol	36
3.6. Metode Penelitian	36

3.6.1. Determinasi Tanaman.....	36
3.6.2. Pembuatan simplisia DBW dan DP.....	37
3.6.3. Uji kadar air serbuk simplisia.....	38
3.6.4. Pembuatan ekstrak.....	39
3.6.5. Pemeriksaan karakteristik ekstrak.....	40
3.6.6. Uji Bebas Etanol.....	41
3.6.7. Skrinning Fitokimia.....	41
3.6.8. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dan Daun Pepaya Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS.....	42
3.6.9. Uji aktivitas antibakteri.....	43
3.6.10. Peremajaan bakteri.....	45
3.6.11. Uji Identifikasi Bakteri.....	45
3.6.12. Pembuatan suspensi bakteri.....	45
3.6.13. Uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram.....	46
3.7. Pengukuran zona hambat.....	46
3.8. Jalur Penelitian.....	47
3.9. Analisis Hasil.....	47
3.9.1. Uji normalitas data.....	47
3.9.2. Uji Homogenitas.....	48
3.9.3. Uji One Way Anova.....	48
3.9.5. Uji <i>Mann-Whitney</i>	49
3.10. Kerangka Penelitian.....	49
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	51
4.1. Determinasi Tanaman.....	51
4.2. Uji Kadar Air Simplisia.....	51
4.3. Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak.....	52
4.4. Ekstraksi DBWDP.....	52
4.5. Uji Bebas Etanol.....	54
4.6. Skrinning Fitokimia.....	55
4.6.1 Uji Flavonoid.....	56
4.6.2 Uji Alkaloid.....	57
4.6.3 Uji Tanin.....	58
4.6.4 Uji Saponin.....	58
4.7 Penetapan Kadar Flavonoid ekstrak DBWDP dengan Metode Spektrofotometri UV VIS.....	59

4.8. Uji Aktivitas Antibakteri DBWDP.....	61
4.8.1. Identifikasi Bakteri	62
4.8.2. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	63
4.8.3. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri <i>Eschericia coli</i> ATCC 25922.....	68
BAB V PENUTUP.....	72
5.1 Simpulan.....	72
5.2 Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA.....	73
LAMPIRAN	83



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Belimbing Wuluh.....	5
Gambar 2.2 Tanaman Pepaya.....	10
Gambar 2.7 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Gambar 2.8.1 Bakteri <i>Eschericia coli</i>	28
Gambar 3.10 Gambar Kerangka Penelitian.....	50
Gambar 4.1 Hasil Pengamatan uji bebas etanol 70%.....	54
Gambar 4.6 Identifikasi bakteri.....	60
Gambar 4.7 Grafik rata rata diameter zona hambat.....	61
Gambar 4.8 Uji Aktivitas Antibakteri DBWDP Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i> ATCC 25923.....	62
Gambar 4.9 Grafik diameter zona hambat.....	65
Gambar 4.10 Uji Aktivitas Antibakteri DBWDP Terhadap Bakteri <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk DBWDP.....	52
Tabel 4.2 Hasil Uji organoleptik ekstrak DBWDP.....	52
Tabel 4.3 Hasil rendemen ekstrak DBWDP.....	53
Tabel 4.4 Hasil uji bebas etanol ekstrak DBWDP.....	54
Tabel 4.5 Hasil Skrinning fitokimia ekstrak DBWDP.....	55
Tabel 4.6 Tabel kadar senyawa Flavonoid ekstrak DBWDP.....	58
Tabel 4.7 hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri <i>S.aureus</i> ATCC 25923.....	61
Tabel 4.8 Tabel uji tukey subset kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i> ATCC 25923.....	62
Tabel 4.9 hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	64
Tabel 4.10 hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri <i>E.coli</i> ATCC 25922.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi l</i>).....	83
Lampiran 2. Hasil determinasi daun pepaya (<i>carica papaya l</i>).....	84
Lampiran 3. Keterangan dan hasil uji biokimia bakteri <i>S.aureus</i>	85
Lampiran 4. Keterangan dan hasil uji biokimia bakteri <i>E.coli</i>	86
Lampiran 5. Dokumentasi penelitian.....	87
Lampiran 6. Perhitungan pembuatan media pertumbuhan bakteri.....	94
Lampiran 7. Pembuatan larutan uji.....	94
Lampiran 8. Perhitungan hasil.....	94
Lampiran 9. Uji aktivitas antibakteri ekstrak DBWDP terhadap <i>S.aureus</i>	97
Lampiran 10. Hasil uji mann whitney DBWDP terhadap bakteri <i>S.aureus</i>	97
Lampiran 11. Analisis data ekstrak DBWDP terhadap bakteri <i>S.aureus</i>	98
Lampiran 12. Uji aktivitas antibakteri DBWDP terhadap bakteri <i>E.coli</i>	106
Lampiran 13. Hasil uji mann whitney DPDBW terhadap bakteri <i>E.coli</i>	106
Lampiran 14. Hasil analisis data kombinasi DPDBW terhadap bakteri <i>E.coli</i> ...	107
Lampiran 15. Alur kerja.....	115

DAFTAR SINGKATAN

DBW	Daun Belimbing Wuluh
DP	Daun Pepaya



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASIx EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi Linn*)
DAN EKSTRAK DAUN PEPAYA (*Carica Papaya
Linn*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
Aureus* DAN *Eschericia coli*
SECARA *IN VITRO***

Lulul Ulfatun Qorik'ah

S1 Farmasi

INTISARI

Penyakit infeksi merupakan masalah terbesar dalam dunia kesehatan dan menjadi penyebab utama angka kematian di Indonesia. Bakteri yang menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Pengobatan untuk infeksi bakteri dapat menggunakan antibiotik. Meluasnya penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi antibiotik. Untuk mengurangi adanya resistensi terhadap antibiotik diperlukan pengobatan dengan alternatif lain seperti menggunakan bahan alam yang memiliki senyawa antibakteri sebagai obat tradisional. Salah satunya adalah daun belimbing wuluh dan daun pepaya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak DBWDP sebagai antibakteri. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental. Sampel daun belimbing wuluh dan daun pepaya di maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian di uji fitokimia secara kualitatif dan kuantitatif. Uji aktivitas kombinasi DBWDP digunakan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1. Analisa hasil dilakukan dengan uji *Kruskall Wallis* dan *Mann Whitney*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi daun belimbing wuluh daun pepaya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang lebih poten ke bakteri *Eschericia coli* daripada *Staphylococcus aureus*. Kombinasi DBWDP teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata rata zona hambat sebesar sebesar 7,66 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan sebesar 10 mm terhadap bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922.

Kata kunci : Daun belimbing wuluh, daun pepaya, maserasi, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, antibakteri.

**Antibacterial Activity Test of Combination of Starfruit Leaf Extract
(*Averrhoa Bilimbi Linn*) and Papaya Leaf Extract (*Carica Papaya
Linn*) Against *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli*
*In Vitro***

Lulul Ulfatun Qorik'ah

S1 Pharmacy Study Program

ABSTRACT

Infectious diseases are the biggest problem in the world of health and are the main cause of death in Indonesia. The bacteria that cause infection are *Staphylococcus aureus* and *Eschericia coli*. Treatment for bacterial infections can use antibiotics. The widespread use of inappropriate antibiotics can lead to antibiotic resistance. To reduce the resistance to antibiotics, treatment with other alternatives is needed, such as using natural ingredients that have antibacterial compounds as traditional medicines. One of them is wuluh starfruit leaves and papaya leaves. The purpose of this study was to determine the combined activity of DBWDP extract as an antibacterial. The method used in this research is experimental. The samples of star fruit leaves and papaya leaves were macerated using 70% ethanol solvent which were then tested for phytochemicals qualitatively and quantitatively. The DBWDP combination activity test used a ratio of 1:1, 1:2, 2:1. The results were analyzed using the *Kruskall Wallis and Mann Whitney test*. The results of the antibacterial activity test for the combination of DBWDP showed that there was more potent antibacterial activity against *Eschericia coli* than *Staphylococcus aureus*. The combination of DBWDP was most active in inhibiting bacterial growth with an average inhibition zone of 7.66 mm against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and 10 mm against *Eschericia coli* ATCC 25922.

Key words : star fruit leaves, papaya leaves, maceration, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, antibacterial.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar dalam dunia kesehatan. Sampai saat ini penyakit infeksi masih menjadi penyebab utama angka kematian di dunia meskipun sudah melalui beberapa dekade dalam pengembangan pengobatan (Nor *et al.*, 2018). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, fungi, dan parasit dengan cara mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri yang sering menyebabkan infeksi manusia contohnya seperti *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) dan *Escherichia coli* (*E.coli*) (Novard *et al.*, 2019).

S.aureus adalah bakteri yang hidup di membran mukosa manusia dan merupakan salah satu bakteri Gram positif (Kemalapuri *et al.*, 2017). Gejala infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *S.aureus* berupa abses, peradangan infeksi, jerawat, serta bisul atau nanah (Tuntun, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Iqbal *et al* (2014) juga menemukan sebanyak 179 kasus infeksi kulit yang disebabkan oleh *S.aureus* di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo pada Januari 2009 – April 2013. Menurut penelitian Yulaikha and Wahyu Aji (2019) juga menunjukkan bakteri pada abses terbanyak yaitu *S.aureus* sebanyak 75% pada Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Surakarta.

E.coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, bersifat anerob fakultatif, tidak berspora, dan banyak terdapat di lingkungan sekitar kita (Gomes *et al.*, 2011). *E.coli* hidup sebagai flora normal dalam sistem pencernaan manusia, namun dapat bersifat patogen sehingga menyebabkan infeksi (Nordmann

et al., 2012). Mikroorganisme yang terdapat pada luka dan sering kali menyebabkan infeksi antara lain *E.coli* (Hern *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Yulaikha and Wahyu Aji (2019) menemukan dari data pasien selulitis yang diambil didapatkan bakteri terbanyak yaitu *E.coli* sebanyak 40% dan dari data penderita ulkus diabetikum sebanyak 17,65% di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Surakarta.

Pengobatan untuk infeksi bakteri dapat menggunakan antibiotik (Roni *et al.*, 2019). Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Permenkes, 2011). Meluasnya penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik (Muharni *et al.*, 2017). Resistensi antibiotik disebabkan karena bakteri resisten terhadap antibiotik tersebut dan menjadi penyebab kegagalan pengobatan infeksi (Muharni *et al.*, 2017). Studi mengatakan sekitar 40-62% antibiotik digunakan terhadap penyakit yang seharusnya tidak memerlukan antibiotik (Permenkes, 2011). Untuk mengurangi adanya resistensi terhadap antibiotik diperlukan pengobatan dengan alternatif lain seperti menggunakan bahan alam yang memiliki senyawa antibakteri sebagai obat tradisional (Nor *et al.*, 2018).

Indonesia merupakan negara yang memiliki aneka ragam tumbuhan herbal yang dapat diolah dan dimanfaatkan menjadi obat tradisional (Nor *et al.*, 2018). Pemanfaatan tanaman obat masih merupakan pilihan utama yang dapat digunakan dalam pengobatan di belahan dunia, jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun belimbing wuluh (DBW) (Pramiastuti *et al.*, 2020) dan daun pepaya (DP) (Cahyanta *et al.*, 2020). DBW biasa digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional untuk menyembuhkan penyakit gondok, penurunan panas, encok, dan rematik (Gunawan and Mulyani, 2004). Ekstrak DBW mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang berguna sebagai antibakteri (Faharani, 2009). Salah satu fungsi flavonoid dan tanin adalah sebagai antibakteri dan zat

tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Wijayakusuma *et al.*, 2006).

Pepaya merupakan tanaman yang bisa digunakan untuk pengobatan tradisional (Nor *et al.*, 2018). Ekstrak pada DP memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif secara signifikan (Ristya *et al.*, 2015). Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan oleh Roni *et al* (2019) membuktikan bahwa DP mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin. Pada penelitian Tuntun (2016) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol DP memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Menurut penelitian Roni *et al* (2019) ekstrak DP dengan konsentrasi sebesar 20 % menghasilkan zona hambat 12,3 mm pada bakteri *S.aureus* dan sebesar 12,6 mm pada *E.coli* yang masuk kategori kuat. Ekstrak DBW memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 10% yaitu 14,67 mm yang masuk ke kategori kuat (Wijayanti and Safitri, 2018).

Ekstrak tanaman bila dikombinasikan dapat menimbulkan efek sinergis dan meningkatkan aktivitas antibakteri (Aiyegoro *et al.*, 2009). Saraswati *et al* (2013) menyatakan kombinasi ekstrak mempunyai senyawa aktif lebih banyak sehingga memiliki aktivitas yang besar pula. Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak DBWDP terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.1.1.** Apakah kombinasi DBWDP memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?
- 1.1.2.** Variasi konsentrasi manakah yang paling efektif pada kombinasi DBWDP terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

1.3.2. Mengetahui variasi konsentrasi yang paling efektif pada kombinasi DBWDP terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

Diharapkan dalam penelitian ini memberikan manfaat bagi penulis bahwa kombinasi ekstrak etanol DBW (*Averrhoa Bilimbi Linn*) DP (*Carica Papaya Linn.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

1.4.2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan bermanfaat bagi masyarakat agar masyarakat lebih tahu tentang manfaat DBW (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dan DP (*Carica Papaya Linn.*) sebagai antibakteri.

1.4.3. Bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait dengan penggunaan tanaman obat sebagai antibakteri dan dapat digunakan sebagai bahan referensi untuk penelitian selanjutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn.*)

2.1.1. Klasifikasi

Belimbing wuluh (Gambar 2.1) diklasifikasikan sebagai berikut (Herbie, 2015) :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Roside
Ordo	: Geraniales
Famili	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi L.</i>



Gambar 2.1 Tanaman Belimbing Wuluh (Liantari, 2014)

2.1.2. Morfologi

Averrhoa bilimbi L. umumnya dikenal sebagai belimbing wuluh di Indonesia, merupakan salah satu spesies dari keluarga belimbing (*Averrhoa oxalidaceae*). Tanaman ini tumbuh baik dinegara asalnya sedangkan di Indonesia banyak dipelihara dipekarangan dan kadang-kadang tumbuh secara liar diladang atau tepi hutan. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) adalah pohon tropis

berumur panjang, tinggi batang mencapai 5-10 m dengan batang yang tidak begitu besar. Belimbing wuluh mempunyai batang kasar berbenjol-benjol, percabangan sedikit, yang cenderung mengarah ke atas. Cabang muda berambut halus seperti beludru, warnanya coklat muda (Sutrisna and Sujono, 2015).

Daun berupa daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun, pucuk berwarna coklat muda. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah hijau muda. Perbungaan berupa malai, berkelopak, keluar dari batang atau percabangan yang besar, bunga kecil-kecil berbentuk bintang warnannya ungu kemerahan. Buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10 cm. Warna buah ketika muda hijau, dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apa bila sudah masak, maka buah berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya berair banyak dan rasanya masam. Kulit buahnya mengkilap tipis. Bijinya berbentuk bulat telur, gepeng (Roy *et al.*, 2011).

2.1.3. Khasiat tanaman belimbing wuluh

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) memiliki khasiat obat untuk beberapa penyakit manusia yang efektif. Di beberapa desa di india, buah belimbing digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengendalikan obesitas (Roy *et al.*, 2011). Perasan air buah belimbing wuluh sangat baik untuk asupan kekurangan vitamin C. Ada yang memanfaatkan buah belimbing wuluh untuk dibuat manisan dan sirup, sebagai obat untuk sariawan, sakit perut, gondongan, rematik, batuk, gusi berdarah, sakit gigi berluang, memperbaiki fungsi pencernaan, untuk membersihkan noda pada kain, menghilangkan karat pada keris, menghilangkan bau amis, sebagai bahan kosmetika serta mengkilapkan bahan-bahan yang terbuat dari kuningan (Roy *et al.*, 2011).

2.1.4. Kandungan senyawa tanaman belimbing wuluh

Daun belimbing wuluh memiliki kandungan flavonoid, saponin, tannin, alkaloid. (Pendit *et al.*, 2016). Kandungan kimia yang terdapat di dalam daun belimbing wuluh adalah flavonoid, tanin, saponin, (Saputra and Anggraini, 2016).

2.1.4.1. Flavonoid

Flavonoid adalah pigmen tumbuhan, bertanggung jawab atas warna bunga, buah, dan kadang daun. Bila tidak langsung terlihat, mereka sering bertindak sebagai co-pigmen. Misalnya, pigmen flavon dan flavonol tak berwarna melindungi jaringan tanaman dan senyawa seperti antosianin terhadap kerusakan radiasi ultraviolet (Hoffman, 2003). Flavonoid memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆ yang terdiri dari 15 atom karbon. Kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C₆ yang dihubungkan dengan rantai alifatik 3-karbon (Cook and Samman, 1996).

Dari penelitian senyawa flavonoid bersifat aktif sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Pada suhu 80°C kadar flavonoid menurun menjadi 0,275gr/ml karena titik didih flavonoid mendekati suhu 80°C dan kemungkinan kecil ada flavonoid yang menguap (Cook and Samman, 1996).

Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakan sel jamur. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel jamur. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat menyebabkan

denaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur. Denaturasi protein dapat merusak sel secara permanen dan tidak bisa diperbaiki lagi (Rahayu, 2013).

2.1.4.2. Tanin

Tanin adalah zat organik yang ada dalam ekstrak tumbuhan yang dapat larut dalam air, merupakan senyawa polifenol (C₆-C₃-C₆) yang mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan polisakarida, dan terdiri dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam (Hoffman, 2003). Menurut Affero (2011) Titik didih senyawa tanin 1271 °C. Senyawa tanin memiliki sifat kimia dan fisika. Sifat kimia dari tanin yaitu tanin memiliki gugus fenol, membentuk koloid jika dilarutkan dalam air, membentuk endapan jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin, mengendapkan protein dari larutannya, tanin dapat bereaksi dengan garam besi, tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol apabila dipanaskan pada suhu 99-102°C, tanin dapat terhidrolisa oleh asam, basa dan enzim (Risnasari. I, 2001).

Sifat fisika dari tanin yaitu tanin berbentuk amorf, tanin berwarna putih kekuningan sampai coklat terang, tanin berbentuk serbuk, tanin berwarna gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka, tanin memiliki sifat bakteristatik dan fungistatik (Risnasari. I, 2001). Mekanisme antimikroba tanin berkaitan dengan kemampuan tannin membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri dan bakteri lisis (Sumardjo, 2009).

2.1.4.3. Saponin

Saponin adalah sekelompok glikosida tanaman yang dapat larut dalam air dan dapat menempel pada steroid lipofilik (C₂₇) atau triterpenoid (C₃₀) (Hoffman, 2003). Saponin memiliki rumus kimia C₃₀H₄₆O₅. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Calabria, 2008). Saponin memiliki berat molekul

yaitu 414,6231 g/mol. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu 158°C dan densitas 0,5 g/cm³ pada suhu 20°C (Santosa *et al.*, 2018).

Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hipokolesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolisis (Pradana, 2014).

Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan and Wayan, 2015).

2.1.4.4. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai sistem lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Namun terdapat beberapa alkaloid yang tidak mengandung oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali. Tumbuhan dikotil adalah sumber utama alkaloid. Untuk memperoleh alkaloid dari tumbuhan dapat diisolasi menggunakan cara ekstraksi. Alkaloid sukar larut dalam air namun dapat larut dalam pelarut organik yang umum, seperti kloroform, alkohol, benzene, dan eter (Sumardjo, 2009).

Pemanasan dilakukan pada suhu 250°C untuk dapat menguapkan alkaloid karena memiliki titik didih sebesar 178°C dan pada suhu tersebut diharapkan yang dapat menguap (Wilantari *et al.*, 2019). Alkaloid merupakan golongan zat

tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Saifuddin, 2011).

2.2. Tanaman Pepaya (*Carica Papaya Linn.*)

2.2.1. Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah dari tumbuhan pepaya (Gambar 2.2) menurut Putra (2015) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas.	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Violales
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya linn</i>



Gambar 2.2 Tanaman Pepaya (Priyowidodo, 2017)

2.2.2. Morfologi

Menurut Agustiani *et al* (2017) Batang (caulis) merupakan bagian yang penting untuk tempat tumbuh tangkai daun dan tangkai buah. Bentuk batang pada tanaman pepaya yaitu berbentuk bulat, dengan permukaan batang yang memperlihatkan berkas-berkas tangkai daun, dapat dilihat pada gambar 2.2. Arah

tumbuh batang yaitu tegak lurus yaitu arahnya lurus ke atas. Permukaan batang tanaman pepaya yaitu licin. Batangnya berongga, umumnya tidak bercabang atau bercabang sedikit, dan tingginya dapat mencapai 5-10 m.

Menurut Amir (2014) daun pepaya tersusun spiral menutupi ujung batang. Daunnya termasuk tunggal, bulat, ujung meruncing, pangkal bertoreh, dan memiliki bagian tepi bergigi. Diameter daun berkisar 20-75 cm. Daun pepaya ditopong oleh tangkai daun yang berongga dengan panjang sekitar 20-100 cm. Daun permukaan atas berwarna hijau tua sedangkan permukaan bawah berwarna hijau muda. Daun pepaya memiliki pertulangan daun menjari sehingga helaian daun menyerupai telapak tangan.

Menurut Agustiani *et al* (2017) Akar (*radix*) pepaya merupakan akar dengan sistem akar tunggang (*radix primaria*), karena akar lembaga tumbuh terus menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang lebih kecil. Bentuk akar bulat dan berwarna putih kekuningan. Bunga pepaya ada yang berkelamin tunggal (betina/putik atau jantan/benang sari saja) atau berkelamin sempurna (hermafrodit) yang memiliki putik dan benang sari yang fertil. Dengan demikian ada pohon betina dan pohon jantan (pohon gantung), dan pohon sempurna sesuai dengan bunga yang dikandung. Pepaya tergolong penyerbuk silang dengan perantara angin. Bunganya berbentuk trompet kecil. Mahkota bunga berwarna kekuningan.

Menurut Seftiana (2010) buah pepaya memiliki bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya meruncing. Warna buah pepaya ketika muda berwarna hijau gelap, dan setelah masak berwarna hijau muda hingga kuning. Daging buah berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah, tergantung varietasnya. Bagian tengah buah pepaya berongga dengan biji buah berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir (*pulp*) untuk mencegahnya dari kekeringan.

2.2.3. Khasiat tanaman pepaya

Tanaman pepaya memiliki senyawa nutrisi dan non nutrisi (senyawa aktif) yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Tidak hanya buah pepaya dalam kondisi yang matang saja dapat dikonsumsi sehari-hari. Buah pepaya muda, biji, daun, bunga, dan akar dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan diantaranya sebagai pelancar ASI, mengobati kekurangan darah (anemia). Biji buah pepaya digunakan sebagai obat demam. Bunga digunakan sebagai obat hepatitis. Daun sebagai obat biri-biri dan cacingan. Getah tanaman pepaya dapat digunakan sebagai obat luka bakar, jerawat, dan penyakit kulit lainnya (Agustiani *et al.*, 2017). Air rebusan buah pepaya biasa dijadikan nutrisi untuk bayi. Menurut Susilawati (2017) Air rebusan buah pepaya yang diberikan kepada bayi yang berumur 10 hari keatas dapat mempengaruhi kenaikan berat badan rata-rata sebesar 279,78 gram.

2.2.4. Kandungan senyawa tanaman pepaya

Dari uji fitokimia yang dilakukan oleh Astuti (2009) daun pepaya mengandung flavonoid, saponin, dan alkaloid. Namun pada pengujian fitokimia yang dilakukan Julaily *et al* (2013), ekstrak daun pepaya mengandung berbagai golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, kuinon.

2.2.4.1. Flavonoid

Flavanoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan aseton. Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak digunakan sebagai bahan baku obat-obatan (Parwata, 2016). Flavonoid memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆ yang terdiri dari 15 atom karbon. Pada suhu 80°C kadar flavonoid menurun menjadi 0,275gr/ml karena titik didih flavonoid mendekati suhu 80°C dan kemungkinan kecil ada flavonoid

yang menguap. Kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C₆ yang dihubungkan dengan rantai alifatik 3-karbon (Cook and Samman, 1996).

Flavanoid berkerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri. Flavanoid berkerja dengan cara mengganggu pengikatan hidrogen pada asam nukleat sehingga proses sintesis DNA-RNA terhambat. Selain itu flavanoid, juga dapat mencegah pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu kestabilan membran sel dan metabolisme energi bakteri. Ketidakstabilan ini terjadi akibat adanya perubahan sifat hidrofilik dan hidrofobik membran sel sehingga fluiditas membrane sel berkurang yang berakibat pada gangguan pertukaran cairan dalam sel. Hal ini berdampak pada kematian sel bakteri. Sementara itu, menghambat kerja dari enzim reduktase pada proses transfer elektron bakteri mengakibatkan pertumbuhan bakteri terganggu (Adnyani *et al.*, 2016)

2.2.4.2. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016).

Senyawa tanin memiliki sifat kimia dan fisika. Sifat kimia dari tanin yaitu tanin memiliki gugus fenol, membentuk koloid jika dilarutkan dalam air, membentuk endapan jika dicampur dengan alkaloid dan gelatin, mengendapkan protein dari larutannya, tanin dapat bereaksi dengan garam besi, tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol apabila dipanaskan pada suhu 99-102°C, tanin dapat terhidrolisa oleh asam, basa dan enzim (Risnasari. I, 2001).

Menurut Affero (2011) Titik didih senyawa tanin 1271 ° C. Sifat fisika dari tanin yaitu tanin berbentuk amorf, tanin berwarna putih kekuningan sampai coklat terang, tanin berbentuk serbuk, tanin berwarna gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka, tanin memiliki sifat bakteriostatik dan fungistatik (Risnasari. I, 2001).

Tanin merupakan senyawa fenol bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Ergina *et al.*, 2014)

2.2.4.3. Saponin

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder dari tanaman. Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid. Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya (Simaremare, 2014). Saponin memiliki rumus kimia C₃₀H₄₆O₅. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Calabria, 2008). Saponin memiliki berat molekul yaitu 414,6231 g/mol. Saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu 158°C dan densitas 0,5 g/cm³ pada suhu 20°C (Santosa *et al.*, 2018).

Saponin membentuk kristal berwarna kuning dan berbentuk amorf, memiliki bau menyengat dan memiliki rasa pahit. Saponin merupakan senyawa *non-volatile*, larut dalam air dingin maupun panas dan larut dalam alkohol. Saponin membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat tahan terhadap pemanasan yaitu tahan pada suhu 70°C (Nasution *et al.*, 2021). Senyawa saponin bersifat memecah lapisan lemak pada dinding sel, dimana dinding sel akan mengalami gangguan permeabilitas sehingga mengalami proses difusi bahan zat yang akan

diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan lisis (Arudhina *et al.*, 2012).

2.24.4. Alkaloid

Alkaloid senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan, bersifat basa, dan struktur kimianya mempunyai sistem lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Namun terdapat beberapa alkaloid yang tidak mengandung oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali. Tumbuhan dikotil adalah sumber utama alkaloid. Untuk memperoleh alkaloid dari tumbuhan dapat diisolasi menggunakan cara ekstraksi. Alkaloid sukar larut dalam air namun dapat larut dalam pelarut organik yang umum, seperti kloroform, alkohol, benzene, dan eter (Sumardjo, 2009).

Pemanasan dilakukan pada suhu 250°C untuk dapat menguapkan alkaloid karena memiliki titik didih sebesar 178°C dan pada suhu tersebut diharapkan yang dapat menguap (Wilantari *et al.*, 2019). Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Saifuddin, 2011).

2.3. Simplisia

2.3.1. Pengertian Simplisia

Simplisia atau herbal yaitu bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2008). Simplisia umumnya dalam keadaan kering dan digunakan langsung sebagai obat dalam atau banyak digunakan sebagai obat pada sediaan galenik tertentu maupun

digunakan sebagai bahan dasar dalam memperoleh bahan baku suatu obat. Sediaan galenik merupakan ekstrak total yang mengandung dua atau lebih senyawa kimia yang memiliki aktivitas farmakologi serta didapatkan sebagai suatu produk ekstraksi bahan alam dan secara langsung digunakan sebagai obat maupun digunakan setelah dibentuk menjadi suatu formulasi sediaan obat tertentu yang sesuai (Departemen Kesehatan RI, 1995) Simplisia dibedakan menjadi 3 jenis yaitu:

2.3.1.1. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (Nurhayati, 2008). Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Melinda, 2014).

2.3.1.2. Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat yang dihasilkan dari hewan yang belum berupa zat kimia murni (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.3.1.3. Simplisia pelikan (mineral)

Simplisia pelikan merupakan simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan and Mulyani, 2010).

2.3.2. Syarat - syarat simplisia

Simplisia memiliki beberapa persyaratan yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.
2. Kadar air, harus kurang dari 10%.
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.

5. Bahan tambahan pada simplisia, tidak diperbolehkan mengandung pengawet, pewarna, dan pengharum. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2010).

2.3.3. Pembuatan simplisia

2.3.3.1. Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar (Gunawan and Mulyani, 2010). Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dan tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Melinda, 2014).

2.3.3.2. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali karena pencucian satu kali dapat menghilangkan jumlah mikroba awal sebanyak 25%, sedangkan pencucian sebanyak tiga kali menyebabkan jumlah mikroba yang tertinggal yaitu 42% dari jumlah mikroba awal. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dan mata air, air sumur dan PDAM, karena air untuk mencuci sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba (Gunawan and Mulyani, 2010). Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Melinda, 2014).

2.3.3.3. Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan (Melinda, 2014). Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Gunawan and Mulyani, 2010).

2.3.3.4. Pengeringan

Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dan 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengeringan adalah tidak melebihi 60°, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30° sampai 45°. Terdapat dua cara pengeringan yaitu pengeringan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengeringan buatan dengan menggunakan instrumen (Melinda, 2014).

2.3.3.5. Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak (Gunawan and Mulyani, 2010). Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014)

2.3.3.6. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya (Gunawan and Mulyani, 2010). Untuk persyaratan wadah yang akan digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air (Melinda, 2014).

2.3.4. Penghalusan simplisia

Tahapan pembuatan serbuk simplisia kering atau penyerbukan merupakan proses awal dalam pembentukan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat menggunakan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Umumnya penyarian bertambah baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas. Semakin halus serbuk simplisia seharusnya semakin baik penyariannya sehingga semakin tinggi rendemen yang dihasilkan (Departemen Kesehatan, 2000).

Berdasarkan dari hasil penelitian (Sapri *et al.*, 2012) dapat diketahui bahwa pada rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan dengan perbedaan ukuran serbuk 40 mesh, 60 mesh, dan 80 mesh didapatkan hasil semakin besar ukuran nomor mesh yang digunakan dalam proses pengayakan simplisia akan menghasilkan rendemen yang semakin besar pula. Sehingga serbuk simplisia ukuran 80 mesh menghasilkan rendemen ekstrak tertinggi (Sapri *et al.*, 2014). Ukuran serbuk dari simplisia dapat berpengaruh terhadap hasil rendemen ekstrak yang akan diperoleh, dimana semakin kecil ukuran dari serbuk simplisia maka akan semakin besar pula hasil rendemen yang didapatkan (Sapri *et al.*, 2014).

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 1995).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pada proses ekstraksi dengan pelarut, jumlah dan jenis senyawa yang masuk kedalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi (Voight, R., 1995). Metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dapat dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas (Hamdani, S., 2009).

2.4.1. Ekstraksi cara dingin

2.4.1.1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi (Depkes RI, 1986).

Maserasi digunakan untuk ekstraksi simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirik dan lain-lain. Maserasi dapat dilakukan modifikasi yaitu dengan remaserasi. Cairan penyari pada proses remaserasi dibagi menjadi dua kemudian seluruh serbuk simplisia

dimaserasi menggunakan cairan penyari pertama. Filtrat hasil maserasi pertama dimaserasi kembali dengan cairan penyari kedua (Depkes RI, 1986).

Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Kelebihan dari metode ini yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang (Sarker *et al.*, 2006).

2.4.1.2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Depkes RI, 1986).

Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut (Sarker *et al.*, 2006).

2.4.2. Ekstraksi cara panas

2.4.2.1. Soxhlet

Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Sarker S.D. *et al.*, 2006).

2.4.2.2. Refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, B., 2010).

2.4.2.3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2006). Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang tahan terhadap pemanasan (Depkes RI, 1986).

2.4.2.4. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96- 98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006). Prinsip metode infusa adalah dapat menyari senyawa simplisia dengan pelarut air pada waktu yang singkat (Hamad *et al.*, 2017).

2.4.2.5. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan suhu udara 90°C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam udara dan konstituen yang stabil terhadap panas (Ulfah, 2016). Prinsip metode ekstraksi dekok sama dengan metode infusa, yang membedakan hanya pada proses ekstraksi metode dekok lebih lama (Rahmatika, 2015).

2.5. Pelarut

Pelarut merupakan zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Pemilihan pelarut umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu selektif atau dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, pelarut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar (Depkes RI, 1986). Beberapa pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu sebagai berikut:

2.5.1. Air

Air memiliki bahasa latin aquadestilata yang berarti air suling. Air suling, air yang diperoleh dari pengembunan uap air akibat penguapan atau pendidihan air (HAM, 2006). Air senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan tidak berasa yang memiliki titik didih 100°C (Chandra B, 2012). Air adalah pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas

signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan (Tiwari *et al.*, 2011).

Air digunakan sebagai pelarut memiliki harga murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, dan tidak beracun. Kerugian pelarut air yaitu tidak dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, ekstrak dapat ditumbuhi kapang sehingga cepat rusak dan waktu pengeringan ekstrak memerlukan jangka waktu lama. Air dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (Depkes RI, 1986).

2.5.2. Etanol

Etanol merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid, damar-damar, minyak atsiri dan glukosida, akan tetapi tidak untuk jenis albumin, gom, gula. Etanol memiliki rumus kimia C_2H_5OH dan dikenal juga sebagai alkohol. Pelarut etanol mudah menembus membran sel intraseluler untuk mengekstrak senyawa aromatik dari tanaman. Konsentrasi dari etanol dapat mempengaruhi hasil rendemen ekstrak dan hasil dari uji fitokimia senyawa dalam tanaman. Ekstrak etanol 70% dapat menghasilkan % rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96%. Perbedaan polaritas antara etanol 70% dengan etanol 96% menjadi penyebab terjadinya perbedaan % rendemen yang dihasilkan dari suatu ekstraksi (Fathurrachman, 2014).

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi juga tergantung pada senyawa yang diinginkan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi dalam pemilihan pelarut yaitu jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam melakukan penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut yang digunakan dalam ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5.3. Etil Asetat

Etil asetat atau yang sering disebut Ethyl Acetate dalam nama dagang mempunyai rumus molekul yaitu ($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) atau ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) dengan berat molekul 88,106 g/mol (Mackay *et al.*, 2006). Etil asetat adalah pelarut yang cukup polar yang memiliki keuntungan sebagai Volatile, relatif tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat umumnya dibuat dengan esterifikasi etanol dan asam asetat (Johnston J., 2011).

2.5.4. Eter

Dietil eter merupakan senyawa paling penting dari anggota eter yang memiliki rumus molekul $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$. Produk yang memiliki nama lain etil eter atau etil oksida ini berguna sebagai bahan anestesi umum atau obat bius (Sari, 2012).

2.5.5. Diklorometana

Diklorometana atau metilena klorida merupakan senyawa organik yang cair, tidak berwarna, mudah menguap dan beraroma manis. Diklorometana tidak larut dalam sempurna dengan air, tapi dapat larut dengan pelarut organik. Diklorometana biasanya digunakan untuk pelarut dan juga bahan pembuatan obat-obatan pada industri farmasi (Ahmad *et al.*, 2013).

2.6. Bakteri

2.6.1. Definisi bakteri

Bakteri merupakan uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan dan bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau Bacillus, bentuk spiral. (Dwidjoseputro, 1985).

2.6.2. Penggolongan bakteri

Berdasarkan pewarnaan Gram bakteri dapat digolongkan menjadi dua bagian yaitu :

2.6.2.1. Bakteri Gram positif

Adalah bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna ungu di bawah mikroskop, Perbedaan keduanya didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel yang berbeda dan dapat dinyatakan oleh prosedur pewarnaan gram (Jawetz, 2005).

Bakteri Gram positif memiliki dinding sel relatif tebal, terdiri dari berlapis-lapis polymer peptidoglycan (disebut juga murein). Tebalnya dinding sel menahan lolosnya kompleks crystal violet-iodine ketika dicuci dengan alkohol atau aseton. Bakteri yang termasuk kedalam Gram positif yaitu genus *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, dll. (Bonang, 1992).

2.6.2.2. Bakteri Gram negatif

Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel berupa lapisan tipis peptidoglycan, yang diselubungi oleh lapisan tipis outer membrane yang terdiri dari lipopolysaccharide (LPS). Bakteri yang tergolong Gram negatif yaitu famili *Pseudomonas* (genus *pseudomonas*), *Enterobacteriaceae* (genus *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Alcaligenes*, dll) (Brooks *et al.*, 2005)

Bakteri *Gram* negatif merupakan bakteri yang tidak mampu mempertahankan warna kristal violet pada dinding selnya saat perwarnaan gram dilakukan, pewarnaan gram sangat penting untuk mengetahui klasifikasi bakteri dan mengetahui identifikasinya. (Radji, 2006).

2.7. Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.7.1. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 2.7) menurut Soedarto., (2015) diuraikan sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.7 Bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.*, 2013)

2.7.2. Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat atau lonjong dan memiliki diameter sebesar 0.8-0.9 μm . Bakteri ini termasuk dalam jenis bakteri yang tidak bergerak (nonmotil), tidak memiliki simpai dan spora (Gupte, S., 1990) *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan Gram bersifat Gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan terlihat bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur (Soedarto., 2015).

Morfologi koloni *Staphylococcus aureus* pada agar gizi yang telah diinkubasi selama 24 jam didapatkan koloni berukuran 2-4 mm, bulat, cembung,

licin, berkilat, keruh, memiliki tepi yang rata, mudah diemulsikan dan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Penambahan susu atau 1% gliserol monoasetat dapat meningkatkan pembentukan pigmen (Gupte, S., 1990). Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pigmen staphyloxanthin yang berfungsi sebagai faktor virulensi, sehingga koloni bakteri berwarna kuning (Soedarto., 2015).

2.8. Bakteri *Escherichia coli*

2.8.1. Klasifikasi

Menurut Jawetz; *et al.*, (2005), adapun klasifikasi *Escherichia coli* (Gambar 2.8) sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.8 1 Bakteri *Escherichia coli* (Jawetz *et al.*, 2013)

2.8.2. Morfologi

Escherichia coli termasuk pada family Enterobacteriaceae. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negative yang berbentuk batang pendek atau sering disebut kokobasil. Bakteri (Gambar 2.8) ini mempunyai flagel, yang mempunyai ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm dan memiliki sampai (Radji, 2011). *Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm , dan bersifat

anaerob fakultatif. Dan membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati *et al*, 2016).

Eschericia coli merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup pada keadaan aerob maupun anaerob. Oksigen digunakan untuk sumber karbon dari luar yang berfungsi sebagai tenaga untuk tumbuh baik secara oksidatif. Hidup anaerob dengan menggunakan cara fermentasi sebagai penghasilan energi untuk kelangsungan hidup (Manning, 2010).

2.9. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo., 1971).

2.9.1. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut :

a. Perusakan dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma dibawahnya (Jawetz *et al.*, 2005). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini diantaranya adalah penisilin (Pelczar and Chan, 1988).

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Polimiksin bekerja

dengan merusak struktur dinding sel dalam kemudian antibiotik tersebut bergabung dengan membran sel sehingga menyebabkan disorientasi komponen- komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai perintang osmotik (Pelczar and Chan, 1988).

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam-asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Salah satu antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat dan persenyawaan fenolat (Pelczar and Chan, 1988).

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Sulfonamid merupakan salah satu contoh antibiotik yang bekerja dengan cara penghambatan kerja enzim (Pelczar and Chan, 1988).

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan amat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein (Pelczar and Chan, 1988).

2.10. Metode Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara in vitro. Pengujian tersebut dapat dilakukan

dengan metode penyebaran (*Diffusion method*) dan metode pengenceran (*Dillution method*) (Waluyo, 2007).

2.10.1. Metode difusi

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

2.10.1.1. Metode Disk diffusion

Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (paper disk) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang di dapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18- 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar and Chan, 1988).

2.10.1.2. Metode E-Test

Metode gabungan antara metode dilusi dan metode difusi antibakteri ke dalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastik yang sudah mengandung agen antibakteri dengan konsentrasi terendah sampai tertinggi yang diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa diamati dengan adanya area jernih di sekitar strip tersebut (Pratiwi, 2008).

2.10.1.3. Ditch-plate technique

Pada metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Bonang, 1992).

2.10.1.4. Hole/Cup-plate technique

Metode ini lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang, 1992).

Tabel 2.10. Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto *et al.*, 2012)

Diameter Zona Terang	Respon Hambat Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	sedang
10 – 20 mm	kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

2.10.2. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan Diameter zona hambat Minimum (DZI) atau konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Mahon and Manuselis, 1995).

2.10.2.1 Metode Dilusi cair/ broth dilution test

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair,

kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai Kadar hambat minimum (KHM) (Pratiwi, 2008).

2.10.2.2. Metode dilusi padat/ solid dilution test

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan bakteri kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai diameter zona hambat minimal (Pratiwi, 2008). Uji dilusi membutuhkan sejumlah kontrol, yaitu kontrol sterilitas, kontrol pertumbuhan dan uji secara simultan strain bakteri dengan KHM 21 yang sudah diketahui untuk menunjukkan bahwa seri pengenceran benar. Titik akhir uji dilusi biasanya tajam dan mudah didefinisikan (Smith, 2004).

2.11. Antibiotik pembanding sebagai kontrol positif

Kloramfenikol merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri *Gram* positif dan sejumlah bakteri *Gram* negative (Tjay and Rahardja., 2015). Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri yaitu mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat pada bakteri sehingga dapat merusak sel bakteri (Ganiswara, 2012). Kloramfenikol juga dapat menghambat enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk ikatan-ikatan peptida ketika sintesis protein pada bakteri (Brooks *et al.*, 2005).

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun belimbing wuluh dan daun pepaya yaitu senyawa flavonoid. Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan

penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014).

Karakteristik Kloramfenikol menurut Farmakope Indonesia edisi IV halaman 189 adalah sebagai berikut :

Nama umum	: Kloramfenikol
Nama lain	: Chloramphenicol
Nama kimia	: D(-)-treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol
BM	: 323,13 g/mol
Rumus kimia	: $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$
Suhu Lebur	: 149°C – 153°C
Pemerian	: Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.
Kelarutan	: Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat
Persyaratan	: Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, terlindungi dari cahaya.

2.12. Hipotesis

2.12.1. Kombinasi ekstrak DBWDP mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

2.12.2. Konsentrasi aktif kombinasi DBWDP sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* pada perbandingan 2:1. Semakin besar perbandingan kombinasi ekstrak semakin mempunyai daya hambat yang semakin besar (Pramiastuti *et al.*, 2020).



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Bahan

Daun belimbing wuluh, daun pepaya, pelarut etanol 70%, *aquadestilata*, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Eschericia coli*, Kloramfenikol, media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, $FeCl_3$, serbuk magnesium (*Mg*), HCl pekat, NaCl.

3.2. Alat

Seperangkat alat gelas (*pyrex*), botol maserasi, oven (*memmert*), mikro pipet, lampu spirtus, cawan petri (*pyrex*), rak tabung reaksi, timbangan, spatula, autoclave (*GEA YX2808*), pinset, blender, pinset, penangas air, *laminar air flow* (*biobase*), kapas steril, jarum ose, penggaris, aluminium foil, kertas cakram, spektrofotometer Uv-Vis N4S, sendok tanduk, ayakan 80 mesh, batang pengaduk, tabung maserasi, inkubator, jangka sorong, mikropipet.

3.3. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini merupakan daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dan daun pepaya (*Carica Papaya Linn.*) yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

3.4. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan serbuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dan daun pepaya (*Carica Papaya Linn.*) masing masing sebanyak 500 g diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu , Kota Batu, Jawa Timur.

3.5. Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah 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).

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol DBW 10% dan DP 15% dengan perbandingan 1:1 (10% : 15%) , 1:2 (10% : 30%) , 2:1 (20% : 15%).

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

3.5.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol atau terkendali merupakan 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 yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan metode maserasi.

3.6. Metode Penelitian

3.6.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mendapatkan kebenaran indentitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik *et al.*, 2015). Sampel tanaman daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dan daun pepaya (*Carica Papaya Linn.*) dideterminasi di UPT Materia Medika, Batu , Jawa Timur.

3.6.2. Pembuatan Simplisia

Mengambil daun dan mensortasi basah daun yang sudah diambil bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing. Selanjutnya melakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan air mengalir karena pencucian satu kali dapat menghilangkan jumlah mikroba awal sebanyak 25%, sedangkan pencucian sebanyak tiga kali menyebabkan jumlah mikroba yang tertinggal yaitu 42% dari jumlah mikroba awal (Gunawan and Mulyani, 2010). Selanjutnya melakukan perajangan untuk mempermudah pengeringan. Setelah proses perajangan, mengeringkan daun dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air pada daun. Pengeringan menggunakan oven dapat menggunakan suhu 40°C sampai 50°C karena untuk mencegah bahan yang tidak tahan pemanasan. Daun yang sudah kering di blender hingga halus menjadi serbuk. Selanjutnya melakukan pengayakan pada serbuk simplisia. Pengayakan juga bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin halus serbuk simplisia maka permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.6.2.1. Pembuatan Simplisia Daun Belimbing Wuluh (DBW)

Mengambil daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dengan kriteria daun segar dengan cara di petik satu-persatu dari batangnya (Wijayanti and Safitri, 2018). Kemudian mensortasi basah daun dan melakukan pencucian dengan air mengalir untuk membersihkan daun dari kotoran. Setelah itu mengeringkan daun dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka yang terlindung dari sinar matahari hingga kering. Pengeringan menggunakan oven dapat dilakukan pada suhu 40°C sampai 50°C. Daun belimbing wuluh yang sudah kering diblender sampai halus hingga menjadi serbuk. Selanjutnya melakukan pengayakan pada simplisia daun belimbing wuluh menggunakan ayakan 80 mesh. Pengayakan

dengan menggunakan ayakan 80 mesh untuk memperoleh serbuk simplisia yang lebih halus (Wijaya and Wening, 2021). Pengayakan juga bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin halus serbuk simplisia maka permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas (Departemen Kesehatan RI, 2000). Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi secara maserasi untuk menghasilkan ekstrak.

3.6.2.2. Pembuatan Simplisia Daun Pepaya (DP)

Mengambil daun pepaya (*Carica Papaya Linn.*) dengan memilih sesuai kriteria, yaitu daun belimbing wuluh dan daun pepaya segar yang berwarna hijau tua (Tuntun, 2016). Kemudian mensortasi basah daun dan melakukan pencucian dengan air mengalir untuk membersihkan daun dari kotoran. Setelah itu mengeringkan daun dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka yang terlindung dari sinar matahari hingga kering. Pengeringan menggunakan oven dapat dilakukan pada suhu 40°C sampai 50°C. Daun belimbing wuluh yang sudah kering diblender sampai halus hingga menjadi serbuk. Selanjutnya melakukan pengayakan pada simplisia daun belimbing wuluh menggunakan ayakan 80 mesh. Pengayakan dengan menggunakan ayakan 80 mesh untuk memperoleh serbuk simplisia yang lebih halus (Wijaya and Wening, 2021). Pengayakan juga bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin halus serbuk simplisia maka permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari semakin luas (Departemen Kesehatan RI, 2000). Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi secara maserasi untuk menghasilkan ekstrak.

3.6.3. Uji kadar air serbuk simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan tujuannya yaitu untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Departemen Kesehatan RI, 2000). Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g serbuk dan timbang

seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Perhitungan uji kadar air yaitu sebagai berikut (Departemen Kesehatan RI, 2000) :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

Kadar air pada simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Huda *et al.*, 2019). Kadar air yang melebihi 10% dapat mengakibatkan mudah ditumbuhi jamur (Ratnani *et al.*, 2012).

3.6.4. Pembuatan ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Ditimbang simplisia daun, dimasukkan dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol kemudian diaduk hingga semua simplisia terbasahi oleh pelarut. Larutan disimpan selama 5 hari dengan sesekali pengadukan. Setelah 5 hari larutan disaring untuk mendapatkan maserat dan ditampung dalam beaker. Maserat yang telah diperoleh diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2000).

3.6.4.1. Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (DBW)

Serbuk simplisia daun belimbing wuluh seberat 500 g. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dengan penyari yang digunakan 1:10. Selanjutnya memasukkan serbuk simplisia daun belimbing wuluh kedalam botol maserasi, lalu menambahkan etanol 70% sebanyak 5000 ml dan melakukan pengadukan agar homogen. Wadah maserasi ditutup dan disimpan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama proses perendaman harus dilakukan pengadukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi agar keseimbangan konsentrasi lebih cepat tercapai, Setelah perendaman selama 5 hari ekstrak disaring dan filtrat hasil penyaringan dikumpulkan. Filtrat hasil maserasi dipekatan menggunakan oven pada suhu 50°C. Pemekatan menggunakan suhu 50°C bertujuan untuk mencegah terjadinya

kerusakan senyawa yang terkandung dalam tanaman seperti saponin, flavonoid dan tanin (Nasution *et al.*, 2021). Ekstrak kental dari masing-masing simplisia dikeringkan dalam oven selama 1 hari dan ditimbang hasil rendemen nya (Lukman, 2016).

3.6.4.2. Pembuatan ekstrak daun pepaya (DP)

Serbuk simplisia daun pepaya ditimbang masing-masing seberat 500 g. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk dengan penyari yang digunakan 1:10. Selanjutnya memasukkan serbuk simplisia daun pepaya kedalam botol maserasi, lalu menambahkan etanol 70% sebanyak 5000 ml dan melakukan pengadukan agar homogen. Wadah maserasi ditutup dan disimpan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama proses perendaman harus dilakukan pengadukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi agar keseimbangan konsentrasi lebih cepat tercapai, Setelah perendaman selama 5 hari ekstrak disaring dan filtrat hasil penyaringan dikumpulkan. Filtrat hasil maserasi dipekatkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Pemekatan menggunakan suhu 50°C bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa yang terkandung dalam tanaman seperti saponin, flavonoid dan tanin (Nasution *et al.*, 2021). Ekstrak kental dari masing-masing simplisia dikeringkan dalam oven selama 1 hari dan ditimbang hasil rendemen nya (Lukman, 2016).

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 (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.6.5.2. Rendemen ekstrak

Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap awal berat bahan simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi (Novi *et al.*, 2020). Rendemen ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir yang dihasilkan. Hasil penghitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan persen (%) (Departemen Kesehatan RI, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang dihasilkan} \times 100 \%}{\text{Bobot awal serbuk simplisia}} \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

Bobot awal serbuk simplisia

3.6.6. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015).

Uji bebas etanol dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1ml asam sulfat pekat (Charisma *et al.*, 2020). Campuran dihomogenkan, hasil positif etanol jika terjadi perubahan warna jingga menjadi hijau kebiruan (Ikhsanudin and Mardiyah, 2017).

3.6.7. Skrinning Fitokimia

3.6.7.1. Identifikasi Flavonoid

Ditimbang 0,5 gram sampel ditambahkan 2 mg serbuk Mg, lalu ditambahkan 3 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna orange, merah atau kuning menunjukkan adanya flavonoid. Perubahan warna yang terjadi pada identifikasi flavonoid tersebut disebabkan karena flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl (Latifah, 2015).

3.6.7.2. Identifikasi Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dipanaskan dengan 10 mL akuades, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan (Pramiastuti *et al.*, 2020). Pembentukan warna hitam kebiruan atau hijau disebabkan karena logam Fe dan tanin membentuk senyawa kompleks (Latifah, 2015). Senyawa kompleks tersebut terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Latifah, 2015).

3.6.7.3. Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,2 gram ekstrak ditambahkan 10 mL akuades panas, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk buih putih yang stabil (Pramiastuti *et al.*, 2020). Busa yang terbentuk menunjukkan adanya kandungan glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015).

3.6.7.4. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram sampel dilarutkan dengan etanol dan ditetesi dengan HCl dan disaring. Kemudian filtrat diuji dengan menambahkan satu atau dua tetes pereaksi Dragendorff kedalam tabung reaksi yang berbeda. Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih atau kekuningan pada pereaksi Mayer, endapan coklat pada pereaksi Wagner, dan adanya endapan orange pada pereaksi Dragendorff (Cahyanta *et al.*, 2020).

3.6.8. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dan Daun Pepaya Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS

Uji kadar senyawa flavonoid dalam ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dan daun pepaya (*Carica papaya linn*) dilakukan dengan cara pembuatan larutan standar flavonoid terlebih dahulu yang kemudian dilanjutkan preparasi sampel dan penentuan kadar (Rajendra, 2014). Tahapan pembuatan larutan standar yaitu dengan membuat larutan induk quercetin 100 ppm

dengan cara 10 mg quercetin dilarutkan dengan aquadestilata sampai 100 ml yang kemudian membuat seri 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm, dengan cara memipet larutan sebanyak 0,1 : 0,2 : 0,3 : 0,4 dan 0,5 mL, dilarutkan dalam labu takar 10 mL (Rajendra, 2014). Tahap selanjutnya yaitu penentuan kadar flavonoid. Timbang ekstrak sebanyak 1 g kemudian larutkan dalam labu takar 100 mL menggunakan aquadest hingga batas. Larutan induk 100 ppm diambil sebanyak 0,5 mL ditambahkan 0,5 mL AlCl₃ 2% dan 2,5 mL aquades, kemudian dimasukkan dalam kuvet. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 510 nm yang kemudian dihitung menggunakan persamaan linier $y = a(x) + b$ (Rajendra, 2014).

3.6.9. Uji aktivitas antibakteri

3.6.9.1. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda (Charisma *et al.*, 2020). Sterilisasi alat bahan dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm dengan suhu 121° C selama 15 menit. Sedangkan sterilisasi larutan uji dan media dilakukan dalam Erlenmeyer yang ditutup dengan kapas steril dan dibungkus aluminium foil (Pratiwi, 2008).

3.6.9.2. Pembuatan media

3.6.9.2.1. Pembuatan media *nutrient broth* (Nb)

Media NB digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri uji. Menimbang serbuk NB sebanyak 0,08 g kemudian melarutkan dalam 10 ml aquadestilata, dan memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NB terlarut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

3.6.9.2.2. Pembuatan media *nutrient agar* (Na)

Medium NA digunakan untuk membiakkan bakteri uji. Menimbang serbuk NA sebanyak 0,3 g kemudian melarutkan dalam aquadestilata sebanyak 15 ml dan

memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NA terlarut. Selanjutnya media NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar siap dituangkan pada plate atau cawan petri (Muhamad, 2014). Cawan petri berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan petri berdiameter 9 cm dapat menampung media sebanyak 10 ml (Widodo and Kusharyati, 2013).

3.6.9.3. Pembuatan larutan uji

Pembuatan kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Berdasarkan penelitian Wijayanti and Safitri (2018) dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 2,5 % , 5% dan 10%. Berdasarkan penelitian Tuntun (2016) menggunakan konsentrasi ekstrak daun pepaya sebesar 10%, 20%, 30%,40%, 50%. Dari uji pendahuluan kemudian dibuat larutan uji ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya yang sudah disiapkan masing-masing dibuat dengan konsentrasi 10%, 15%. Untuk membuat konsentrasi 10% dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 1 gram lalu dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 10 ml. Untuk konsentrasi 15% dengan menimbang ekstrak 1,5 gram kemudian dilarutkan dalam 10 ml etanol 70%. Dari larutan uji dengan konsentrasi 10%, 15% dibuat kombinasi dengan perbandingan 1:1,5 (10% : 15%), 1:3 (10% : 30%), 2:1,5 (20% : 15%).

3.6.9.4. Pembuatan larutan kontrol

3.6.9.4.1. Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol 0,1%. Kontrol positif dibuat dengan cara melarutkan 50 mg kloramfenikol dalam 50 ml etanol 70%. Larutan kloramfenikol 0,01% kemudian diencerkan dengan cara dipipet 1 ml larutan induk kloramfenikol dalam etanol 70% hingga 10 ml sehingga didapatkan larutan kloramfenikol 0,1% (Azizah *et al.*, 2020).

3.6.9.4.2. Kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 70%. Penggunaan etanol 70% sebagai kontrol negatif dikarenakan menyesuaikan pelarut yang digunakan pada ekstrak daun tanaman dan memastikan bahwa pelarut yang digunakan tidak menghambat pertumbuhan bakteri (Rokhmatul, 2017)

3.6.10. Peremajaan bakteri

Proses peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* menggunakan media agar yang sedang mencair pada temperatur 45-50 °C dengan suspensi mikroba yang dituangkan ke dalam cawan petri steril (Rahmadani, 2015).

3.6.11. Uji Identifikasi Bakteri

3.6.11.1. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri serta mengetahui kemurnian sel bakteri. Preparat ditetesi pewarna pertama dengan karbol gentian violet selama 2 menit, warna dibuang, ditetesi lugol selama 1 menit, kemudian preparat dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Setelah alkohol dibuang, preparat dicuci dengan akuades dan diberi pewarna kedua yaitu larutan fuschine selama 2 menit. Warna kemudian dibuang dan dibersihkan dengan akuades, dikeringkan dan diamati morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop. Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Dewi, 2013).

3.6.12. Pembuatan suspensi bakteri

3.6.12.1. Biakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dengan menggunakan Ose dan disuspensikan dalam tabung suspensi bakteri dengan cara melarutkan beberapa Ose bakteri dalam 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga kekeruhannya sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland dimana setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Rahmadani, 2015).

3.6.12.2. Biakan Bakteri *Eschericia coli*

Bakteri *Eschericia coli* diambil dengan menggunakan Ose dan disuspensikan dalam tabung suspensi bakteri dengan cara melarutkan beberapa Ose bakteri dalam 5 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga kekeruhannya sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland dimana setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Rahmadani, 2015)

3.6.13. Uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram

Uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun pepaya dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Menyiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, kemudian menyiapkan dan mensterilkan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Suspensi bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang telah dibuat diambil kemudian diratakan menggunakan cotton bud dan diamkan hingga kering. Ekstrak kombinasi DBWDP dengan perbandingan (1:1,5), (1:3), (2:1,5) diambil menggunakan mikro pipet sebanyak 10 μ L dan diletakkan pada masing masing cakram menggunakan pinset steril. Kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan kombinasi ekstrak etanol DBWDP kemudian ditempatkan pada permukaan media dengan cara menekan ke bawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Larutan etanol 70% sebagai kontrol negatif disiapkan dengan cara meneteskan masing masing kedalam kertas cakram steril dan larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dengan cara meneteskan masing masing kedalam kertas cakram steril. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 1x24 jam (Gabriella, 2017).

3.7. Pengukuran zona hambat

Zona hambat dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong atau mistar berskala. Kemudian diperoleh diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan

mikroba termasuk diameter kertas cakram. Dilakukan 3 kali pengukuran dari arah yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang akurat (Yusriana *et al.*, 2014).

3.8. Jalur Penelitian

- Kelompok I : kontrol positif yaitu kloramfenikol.
 Kelompok II : kontrol negatif yaitu etanol 70%.
 Kelompok III : kontrol uji yaitu kombinasi daun belimbing wuluh dan daun pepaya 1:1,5 (10% : 15%)
 Kelompok IV : kontrol uji yaitu kombinasi daun belimbing wuluh dan daun pepaya 1:3 (10% : 30%)
 Kelompok V : kontrol uji yaitu kombinasi daun belimbing wuluh dan daun pepaya 2 : 1,5 (20% : 15%)

3.9. Analisis Hasil

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun pepaya pada *Staphylococcus paureus* dan *Eschericia coli* dianalisis menggunakan program SPSS 26 untuk melihat apakah ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun pepaya mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Pengolahan data dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

3.9.1. Uji normalitas data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-Wilk* sebagai uji normalitas data (Ghazali, 2011).

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

3.9.2. 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

3.9.3. Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata-rata sampel uji. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan sediaan ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya dengan variasi konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan pepaya terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

H_1 : Ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan ekstrak daun pepaya terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.9.4. Uji *Kruskall Wallis*

Uji *Kruskall Wallis* merupakan sebuah uji yang bertujuan untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan antara dua atau lebih kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* (Febrianasari, 2018).

Perumusan hipotesis:

H_0 : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

H_1 : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.9.5. Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* digunakan bertujuan untuk menguji signifikansi hipotesis antar dua sampel (Sriwidadi, 2011).

Perumusan hipotesis :

H_0 : tidak ada perbedaan bermakna

H_1 : ada perbedaan bermakna

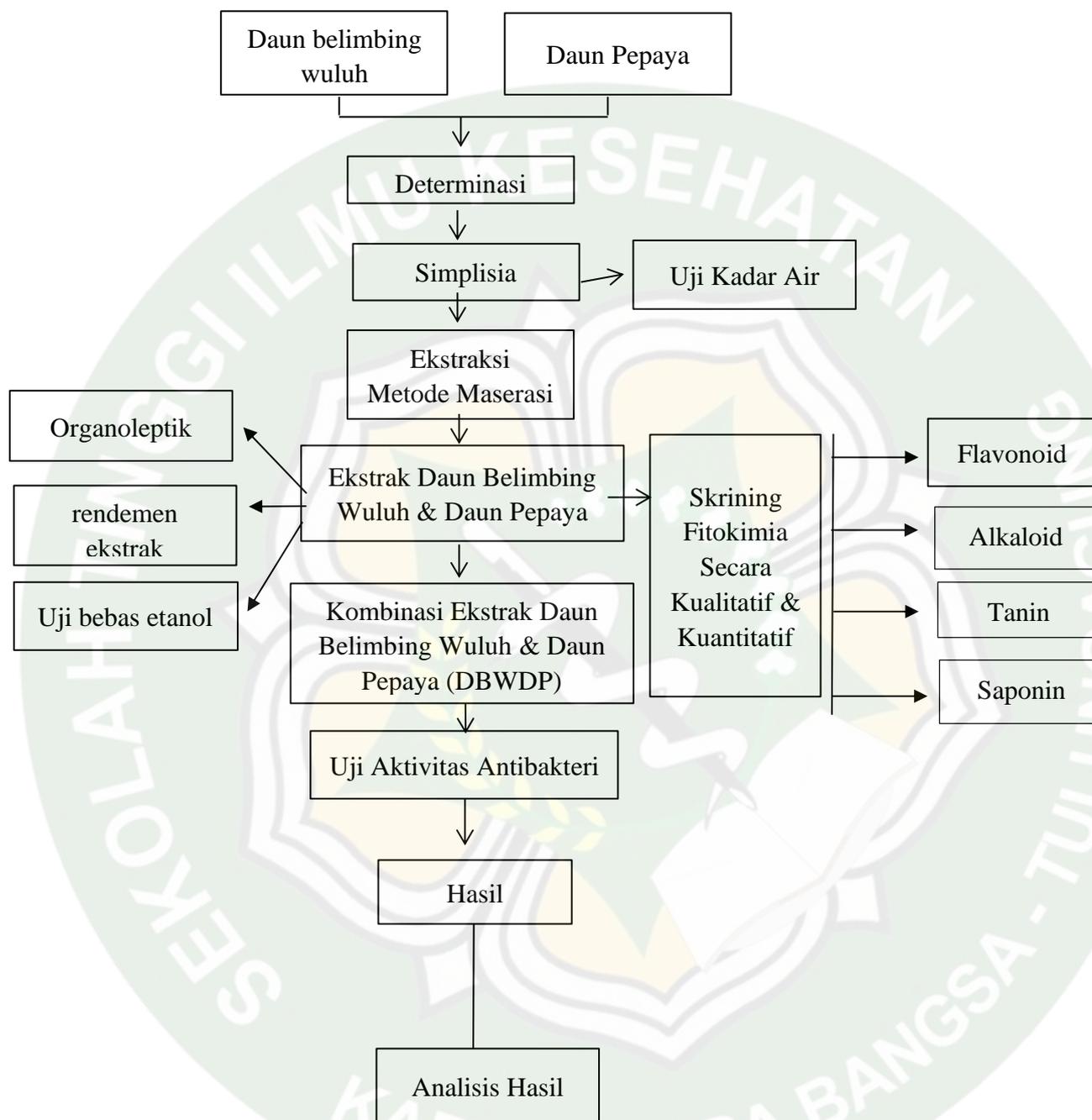
Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.10. Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian digunakan untuk merancang kegiatan penelitian yang akan dilakukan meliputi subjek, variabel yang diteliti dan variabel yang mempengaruhi penelitian (Alimul, 2003).



Gambar 3. 10 Kerangka Penelitian



BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman belimbing wuluh dan pepaya dilakukan di Materia Medika, Batu dengan nomor surat 074/220/102.20-A/2022 dan 074/221/102.20-A/2022. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman belimbing wuluh dan pepaya. Kunci determinasi untuk tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) adalah lb-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-20b-224b-22w5 b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b:Oxalidaceae-a:Averrhoa-Vo A.*bilimbi*. Kunci determinasi untuk tanaman pepaya (*Carica papaya linn.*) adalah lb-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a:Caricaceae-l:C.*papaya*. Hasil determinasi tanaman belimbing wuluh dan pepaya dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

4.2. Uji Kadar Air Simplisia

Uji kadar air simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air pada simplisia, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI.,2000). Kadar air pada simplisia sebaiknya lebih kecil dari 10% (Depkes RI, 2017).

Tabel 4.1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Serbuk DBW dan DP

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	10,00 g	9,19	8,1%
Daun pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	10,00 g	9,12	8,8 %

Hasil uji kadar air simplisia daun belimbing wuluh sebesar 8,1 % dan daun pepaya sebesar 8,8 %. Kadar air yang diperoleh pada simplisia daun belimbing wuluh dan daun pepaya sesuai dengan syarat kadar air untuk simplisia yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2017). Kadar air yang terlalu tinggi >10% dapat menyebabkan tumbuhnya mikroba yang dapat menurunkan stabilitas dari ekstrak (Saifuddin *et al.*, 2011).

4.3 Ekstraksi DBW dan DP

Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dan daun pepaya dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan dikarenakan pada proses ekstraksi tidak menggunakan panas sehingga tidak merusak senyawa flavonoid yang bersifat termolabil (tidak tahan panas). Metode ini juga dinilai ekonomis (murah) dan mudah dilakukan (Riwanti *et al.*, 2020). Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah etanol 70% yang bertujuan untuk menarik semua komponen kimia dalam DBW dan DP. Menurut Padmasari *et al* (2013) pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar. Selanjutnya memasukkan serbuk simplisia daun belimbing wuluh kedalam botol maserasi, lalu menambahkan etanol 70% sebanyak 5000 ml dan melakukan pengadukan agar homogen. Wadah maserasi ditutup dan disimpan didalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama 5 hari. Selama proses perendaman harus dilakukan pengadukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi agar keseimbangan konsentrasi lebih cepat tercapai, Setelah perendaman selama 5 hari ekstrak disaring dan filtrat hasil penyaringan dikumpulkan. Filtrat hasil maserasi dipekatkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Ekstrak kental dari masing-masing simplisia dikeringkan dalam oven selama 1 hari dan ditimbang hasil rendemen nya (Lukman, 2016).

4.4 Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak

Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk pengenalan awal ekstrak telah dihasilkan (Rosidah *et al.*, 2020). Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, warna, dan bau (Depkes RI.,2000).

Tabel 4.4 Hasil uji organoleptik pada ekstrak DBW dan DP

Sampel	Warna	Bau	Bentuk
Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	Hijau kecoklatan	Khas daun belimbing wuluh	Ekstrak kental/pekat
Daun pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	Hijau kecoklatan	Khas daun pepaya	Ekstrak kental/pekat

4.5 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia sebagai bahan baku (Nahor *et al.*, 2018).

Tabel 4.5 Hasil rendemen ekstrak DBW dan DP

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	500 gr	69 gr	13,8 %
Daun pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	500 gr	65 gr	13 %

Berdasarkan tabel 4.5 nilai rendemen yang dihasilkan ekstrak daun belimbing wuluh sebesar 13,8 % dan rendemen ekstrak daun pepaya sebesar 13 %. Rendemen ekstrak daun dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Wardaningrum *et al.*, 2019). Jadi dapat disimpulkan bahwa rendemen ekstrak DBW dan DP pada penelitian ini sudah sesuai dengan persyaratan yaitu >10%. Hasil rendemen juga berhubungan dengan senyawa aktif dari suatu sampel, apabila nilai rendemen tinggi

maka komponen senyawa aktif yang terkandung di dalamnya juga tinggi (Subaryanti *et al.*, 2022). Hal ini didukung oleh pernyataan Harborne (1987), bahwa tingginya senyawa aktif ditunjukkan dengan tingginya rendemen yang dihasilkan.

4.6 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak DBW dan DP yang dihasilkan bebas dari etanol, selain itu etanol juga bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga dapat berpengaruh terhadap pengujian aktivitas antibakteri (Rizky *et al.*, 2017). Berikut hasil uji bebas etanol DBW dan DP pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji bebas etanol ekstrak DBW dan DP

Sampel	Perlakuan	Perubahan warna	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	1 ml asam asetat glasial + 1 ml asam sulfat pekat	tidak terbentuk warna jingga, hijau kebiruan	+	Bebas Etanol
Ekstrak Daun pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	1 ml asam asetat glasial + 1 ml asam sulfat pekat	tidak terbentuk warna jingga, hijau kebiruan	+	Bebas Etanol

Keterangan (+) tidak terjadi perubahan warna (-) terjadi perubahan warna



Gambar 4.1 Hasil Pengamatan uji bebas etanol 70%

Keterangan : (a) Bebas etanol DBW
(b) Bebas etanol DP

Hasil uji bebas etanol ditunjukkan pada gambar 4.6 yang menyatakan bahwa ekstrak DBW dan DP bebas etanol dengan ditandai tidak terbentuknya warna jingga, hijau kebiruan, namun ekstrak berwarna hitam kecoklatan.

4.7 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam DBW dan DP. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti (Rissa and Yustisia, 2018). Hasil uji skrining fitokimia ekstrak DBW dan DP dapat dilihat pada tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Skrinning Fitokimia pada ekstrak DBW dan DP

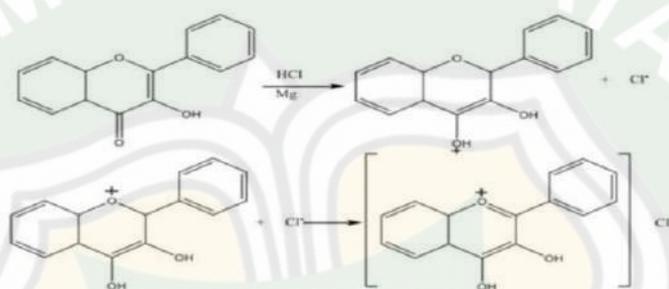
Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	DBW	DP
Flavonoid	Serbuk Magnesium + HCl pekat	+		
Tanin	FeCl ₃	+		
Saponin	Aquadest panas	+		
Alkaloid	HCl + pereaksi Dragendoff	+		

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

4.7.1 Uji Flavonoid

Identifikasi flavonoid bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak DBW dan DP. Uji flavonoid pada ekstrak DBW dan DP menghasilkan warna merah/jingga setelah ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Hal ini menandakan bahwa ekstrak DBW dan DP positif mengandung

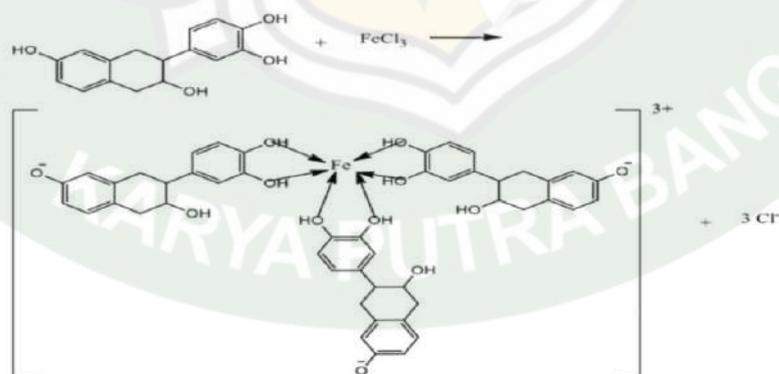
senyawa flavonoid. Penggunaan serbuk Mg dan HCl pekat bertujuan untuk mereduksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam sampel (Pramiastuti *et al.*, 2020). Reduksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak dengan Mg^{2+} dan HCl pekat akan membentuk kompleks $[Mg(OAr)_6]^{4-}$ yang berwarna jingga (Marliana, 2005). Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada tabel 4.7.



Gambar 4.2 Reaksi Flavonoid dengan Magnesium (Setiabudi and Tukiran, 2017)

4.7.2 Uji Tanin

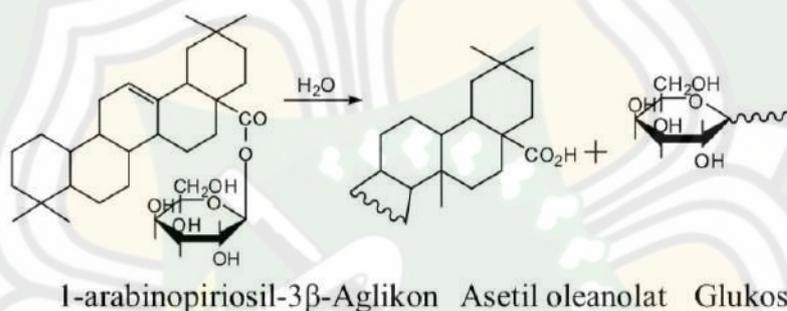
Identifikasi Tanin bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa tanin pada ekstrak DBW dan DP. Ekstrak DBW dan DP mengandung senyawa tanin dengan menghasilkan warna hijau kehitaman setelah ditambahkan $FeCl_3$. Perubahan warna tersebut disebabkan karena adanya reaksi antara salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin dengan $FeCl_3$ sehingga menyebabkan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman dari ekstrak (Pramiastuti *et al.*, 2020). Hasil uji tanin dapat dilihat pada tabel 4.7.



Gambar 4.3 Reaksi Tanin dengan Polifenol dan Ferri Klorida (Sulasmi *et al.*, 2019)

4.7.3 Uji Saponin

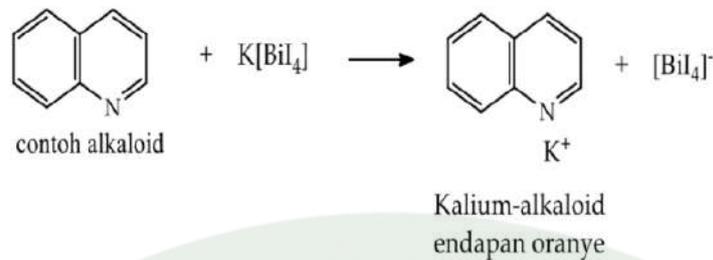
Identifikasi Saponin bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa saponin pada ekstrak DBW dan DP. Uji saponin pada ekstrak DBW dan DP menghasilkan busa yang stabil, hal ini menandakan bahwa terdapat senyawa saponin dalam ekstrak DBW dan DP. Adapun terdapat busa dikarenakan glikosida yang terdapat dalam ekstrak akan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya sehingga menyebabkan terbentuknya busa yang stabil (Pramiastuti *et al.*, 2020). Hasil uji saponin dapat dilihat pada tabel 4.7.



Gambar 4.4 Persamaan Reaksi Pengujian Senyawa Saponin (Setiabudi and Tukiran, 2017)

4.7.4 Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa alkaloid pada ekstrak DBW dan DP. Pada uji alkaloid sejumlah ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditetesi dengan HCl bertujuan untuk menarik alkaloid, dikarenakan alkaloid bersifat basa sehingga dengan penambahan HCl akan terbentuk garam, lalu dipanaskan dan didinginkan (Muthmainnah, 2017). Filtrat yang dihasilkan di uji dengan ditambahkan pereaksi Dragendroff dan diperoleh hasil positif dengan ditandai terbentuknya endapan jingga/orange. Endapan dihasilkan karena terjadi pembentukan kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang akan berikatan dengan ion K^+ dalam pereaksi alkaloid (McMurry & Fay, 2004). Hasil uji alkaloid dapat dilihat pada tabel 4.7.

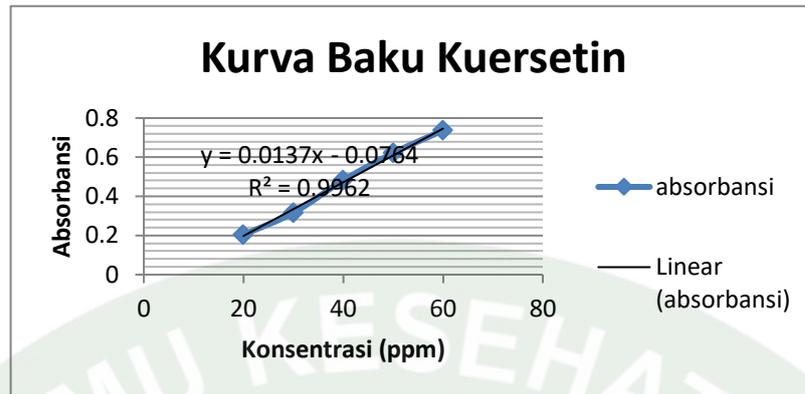


Gambar 4.5 Persamaan reaksi Dragendroff (Setiabudi and Tukiran, 2017).

4.8 Penetapan Kadar Flavonoid ekstrak DBWDP dengan Metode Spektrofotometri UV VIS

Spektrofotometri UV-VIS merupakan alat yang digunakan mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom suatu zat kimia pada daerah UV-VIS (DepKes RI., 1995). Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer yaitu, dapat mendeteksi panjang gelombang dari sinar putih dengan menggunakan alat seperti prisma, greting atau celah optis sebagai pengurai warna-warna, pada panjang gelombang tertentu di fotometer filter (Gandjar I., 2007). Prinsip dari spektrofotometri UV-VIS adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul didalam larutan dimana panjang gelombang yang ditransmisi oleh larutan sebagian energi cahaya akan diabsorbansikan (Nurul A., 2016).

Penetapan kadar senyawa ekstrak daun belimbing wuluh dan pepaya dilakukan di Universitas Brawijaya, Malang. Dalam proses pengujian kadar senyawa diperlukan larutan standar berupa kuersetin untuk senyawa flavonoid. Larutan standar dibuat dalam lima seri konsentrasi, yaitu 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Hasil dari serapan yang diperoleh diplot, dimasukkan kedalam rumus persamaan kurva baku $y = ax + b$ dimana persamaan kurva baku kuersetin menjadi $y = 0,0137x - 0,0764$.



Gambar 4.6 Kurva baku kuersetin

Nilai koefisien korelasi (r) merupakan nilai yang digunakan untuk mengetahui kuat, sedang atau lemahnya hubungan diantara variable yang diteliti. Dimana nilai koefisien korelasi dikatakan sangat kuat apabila nilai (r) mendekati 1. Larutan standar yang digunakan memiliki hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi dengan hasil koefisien korelasi (r) sebesar 0,9962.

Tabel 4.8 Tabel Kadar senyawa Flavonoid ekstrak DBW dan DP

Senyawa	Kadar %
Flavonoid DBW	3,06 %
Flavonoid DP	2,18%

Pemilihan senyawa flavonoid pada DBWDP untuk diketahui kadar totalnya menggunakan spektrofotometri uv-vis didasarkan pada penelitian Sari *et al* (2019) yang menyatakan bahwa senyawa terbanyak pada daun belimbing wuluh adalah flavonoid. Hal ini didasarkan pada kadar total flavonoid daun belimbing wuluh sebesar 21,42 % yang masuk kategori besar. Penelitian Obichi *et al* (2015) menyatakan bahwa senyawa terbesar pada daun pepaya adalah flavonoid yaitu sebesar 23,72% dibandingkan dengan senyawa alkaloid sebesar 17,45%, saponin sebesar 12,49% dan tannin 5,72 %.

Menurut penelitian Sari *et al* (2019) terhadap ekstrak etanol daun belimbing wuluh diperoleh hasil kadar total flavonoid sebesar 21,42%. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Reza *et al* (2022) terhadap ekstrak etanol daun pepaya diperoleh hasil kadar flavonoid total sebesar

9,41 %. Hal ini menyatakan bahwa kadar total flavonoid daun belimbing wuluh dan daun pepaya pada penelitian ini rendah. Perbedaan tersebut bisa terjadi karena tumbuhan dalam satu spesies yang sama, teradaptasi secara berbeda-beda terhadap keadaan suhu yang menyangkut minimum, optimum, dan maksimum untuk hidupnya secara keseluruhan (Reza *et al.*, 2022).

4.9 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi DBWDP

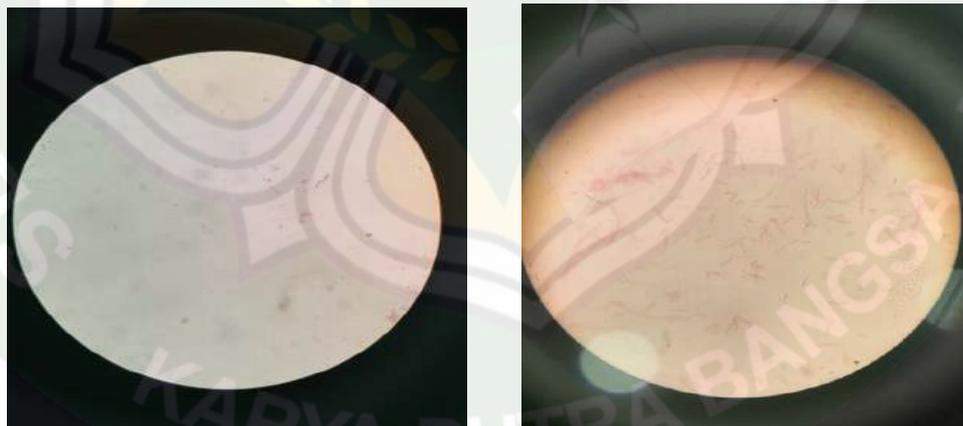
Uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi kampus Stikes Karya Putra Bangsa, Tulungagung. Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi dari kombinasi DBWDP sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC 25922. Penelitian ini sebelumnya sudah melakukan uji orientasi menggunakan konsentrasi sebesar 1:2 (DBW 10% : DP 20%), 1:4 (DBW 10% : DP 40%), 2:2 (DBW 20% : DP 20%). Berdasarkan penelitian Wijayanti and Safitri (2018) ekstrak DBW pada konsentrasi 10% sudah dapat menghambat *S.aureus* dengan zona hambat 14,67 mm yang masuk kategori kuat. Penelitian Roni *et al* (2019) ekstrak DP dengan konsentrasi 20% sudah menghambat *S.aureus* dan *E.coli* dengan rata rata 12,3 mm pada bakteri *S.aureus* dan 12,6 mm pada *E.coli* yang masuk kategori kuat. Namun, pada saat uji orientasi menggunakan kontrol negatif DMSO tidak dapat menghasilkan zona hambat, dikarenakan absorpsi senyawa kedalam media agar kurang maksimal dan pelarutan sampel oleh DMSO tidak larut sempurna sehingga pada saat uji aktivitas tidak dapat mengeluarkan zat aktifnya (Wildan *et al.*, 2015). Sehingga pada saat uji orientasi kontrol negatif yang dipakai diubah menggunakan pelarut etanol 70% dikarenakan menyesuaikan pelarut yang digunakan pada ekstrak daun tanaman dalam penelitian ini (Rokhmatul, 2017).

Pada saat uji orientasi menggunakan etanol 70% dapat menghasilkan zona hambat sebesar 10 mm pada *S.aureus* dan 13 mm pada *E.coli*, maka dari itu penelitian dilanjutkan menggunakan konsentrasi sebesar 1:1,5 (DBW 10% : DP

15%), 1:3 (DBW 10% : DP 30%), dan 2:1,5 (DBW 20% : DP 15%) yang diharapkan dapat menimbulkan efek sinergisme dan meningkatkan aktivitas antibakteri (Aiyegoro *et al.*, 2009). Penelitian ini dilakukan pengkombinasian yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang dimiliki pada masing masing ekstrak. Masing masing ekstrak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC 25922. Menurut Maharini *et al* (2020) dengan penelitiannya yang berjudul uji aktivitas antibakteri kombinasi etanol daun kelor dan daun salam, apabila kedua ekstrak dikombinasikan dapat meningkatkan aktivitas antibakteri yang dimiliki.

4.9.1. Identifikasi Bakteri

Pengujian bakteri ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah *S.aureus* ATCC 25923 dan *E.coli* ATCC 25922. Sampel bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dan bakteri *E.coli* ATCC 25922 yang berasal dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya. Identifikasi bakteri yang digunakan menggunakan metode uji pewarnaan gram.



(a)

(b)

Gambar 4.7 Identifikasi bakteri

Keterangan : (a) Pewarnaan bakteri *S.aureus* ATCC 25923

(b) Pewarnaan bakteri *E.coli* ATCC 25922

Uji pewarnaan Gram dalam penelitian ini menggunakan 2 jenis bakteri yaitu Gram positif dan Gram negatif. Tujuan dari pewarnaan Gram untuk memperjelas ukuran, bentuk bakteri dan membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Dalam pewarnaan bakteri Gram positif akan berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah. Hasil yang didapatkan dalam pewarnaan Gram pada gambar 4.7 (a) menunjukkan bakteri *S.aureus* ATCC 25923 ditandai dengan warna ungu dan berbentuk *coccus* (bulat). Sedangkan pada pewarnaan Gram pada gambar 4.7 (b) merupakan bakteri *E.coli* ATCC 25922 ditandai dengan warna merah dan berbentuk *bacillus* (batang). Perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan Gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Sri *et al.*, 2015).

4.9.2 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri

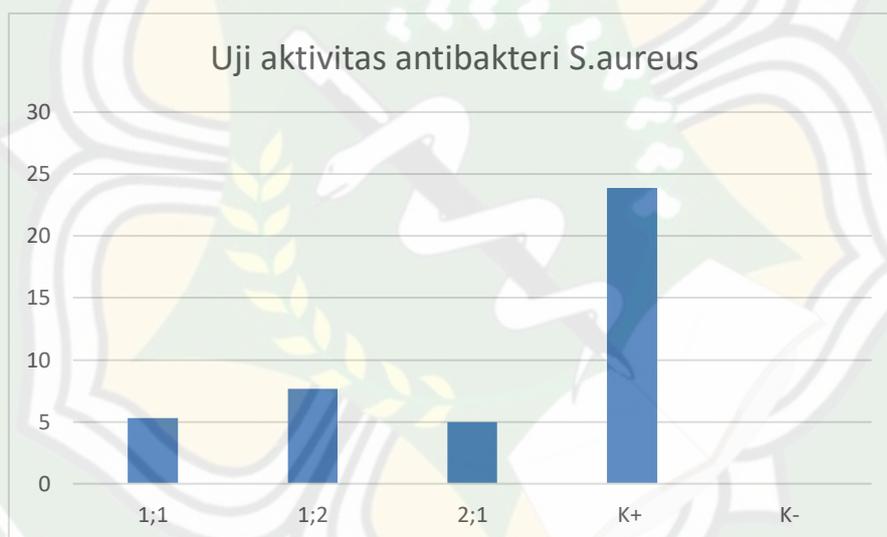
***S.aureus* ATCC 25923**

Uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP dilakukan bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri dari DBWDP terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923. Pengujian antibakteri kombinasi DBWDP terhadap *S.aureus* ATCC 25923 dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram.

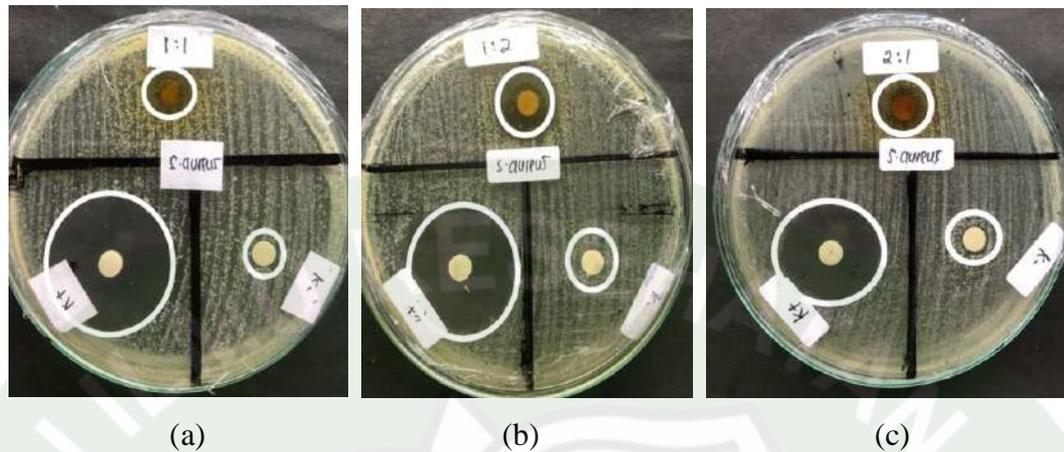
Tabel 4.9 hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri*S.aureus* ATCC 25923

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata ± Standar deviasi
		RI	RII	RIII	
DBWDP	1:1,5	7	8	1	5,33 ± 3,78
DBWDP	1:3	7	13	3	7,66 ± 5,03
DBWDP	2:1,5	8	5	2	5 ± 3
K+		23,66	26,33	21,66	23,88 ± 1,34
K-		0	0	0	0

Keterangan : (a) ekstrak 1:1,5 (DBW 10% :DP 15%), K-, K+
 (b) ekstrak 1:3 (DBW 10%: DP 30%), K-, K+
 (c) ekstrak 2:1,5 (DBW 20%: DP 15%), K-, K+

**Gambar 4.8** Grafik rata rata diameter zona hambat

Keterangan : (a) ekstrak 1:1 (DBW 10% :DP 15%), K-, K+
 (b) ekstrak 1:2 (DBW 10%: DP 30%), K-, K+
 (c) ekstrak 2:1 (DBW 20%: DP 15%), K-, K+



Gambar 4.9 Uji Aktivitas Antibakteri DBWDP Terhadap Bakteri *S.aureus* ATCC 25923

Keterangan : (a) ekstrak 1:1 (DBW 10% :DP 15%), K-, K+
 (b) ekstrak 1:2 (DBW 10%: DP 30%), K-, K+
 (c) ekstrak 2:1 (DBW 20%: DP 15%), K-, K+

Tabel 4.10 Tabel Uji Tukey Subset Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri *S.aureus* ATCC 25923

		Diameter zona hambat (mm)	
		N	Subset for alpha = 0.05
Tukey HSD	K-	3	1 0,00
	DBWDP 2:1,5	3	5,00
	DBWDP 1:1,5	3	5,33
	DBWDP 1:3	3	7,66
	K+	3	23,88
Sig.			0,098 1,000

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1 %. Hal ini mengacu pada penelitian Utomo *et al* (2018) bahwa kloramfenikol konsentrasi 0,1% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Kloramfenikol juga dipilih karena bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol digunakan dalam penelitian ini karena

memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam DBWDP yaitu flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Amalia *et al.*, 2017). Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu menghambat pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino (Putri Dayu, 2013). Dapat dilihat pada tabel 4.8 bahwa kontrol positif kloramfenikol memberikan zona hambat sebesar 23,88 mm yang masuk kategori sangat kuat. Pada SPSS kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negatif maupun dengan dengan perbandingan kombinasi DBWDP 1:1,5, 1:3, 2:1,5. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif kloramfenikol dapat memberikan respon hambatan dalam pertumbuhan bakteri dan menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri. Hasil ini sesuai dengan penelitian Riwanti *et al* (2021) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% berpotensi dalam menghambat bakteri *S.aureus* dengan rata rata zona hambat sebesar 31,29 mm yang masuk kategori sangat kuat.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Penggunaan etanol 70% sebagai kontrol negatif dikarenakan menyesuaikan pelarut yang digunakan pada ekstrak daun tanaman dan memastikan bahwa pelarut yang digunakan tidak menghambat pertumbuhan bakteri (Rokhmatul, 2017). Penggunaan etanol 70% sebagai kontrol negatif juga didasarkan karena pada saat uji orientasi menggunakan DMSO tidak dapat menghasilkan zona hambat, dikarenakan absorpsi senyawa kedalam media agar kurang maksimal dan pelarutan sampel oleh DMSO tidak larut sempurna sehingga pada saat uji aktivitas tidak dapat mengeluarkan zat aktifnya (Wildan *et al.*, 2015). Pada SPSS kontrol negatif

berbeda bermakna dengan kontrol positif dikarenakan pada kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak DBWDP digunakan perbandingan 1:1,5, 1:3, dan 2:1,5 untuk mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus* ATCC 25923. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DBWDP tidak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Hal ini disebabkan karena adanya kemampuan biologis setiap bakteri yang berbeda dalam merespon bahan antibakteri. Salah satu faktor yang paling berpengaruh adalah adanya perbedaan struktur dinding sel antara bakteri *S.aureus* (Yulianti *et al.*, 2018). Struktur lapisan dinding sel pada bakteri Gram positif (*S.aureus*) memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sehingga lapisan tersebut tidak mudah dirusak oleh agen antibakteri atau pemberian antibiotik (Rastina *et al.*, 2015). Bakteri Gram positif (*S.aureus*) merupakan bakteri yang memiliki dinding sel terdiri dari 90% peptidoglikan yang mampu mengikat senyawa polar sehingga lebih memberi efek penghambat terhadap senyawa yang lebih polar (Jawetz *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian Dewantoro *et al* (2017) pada ekstrak daun belimbing wuluh juga tidak berpotensi dalam menghambat bakteri *S.aures* dikarenakan tidak menghasilkan zona hambat sama sekali. Perbedaan aktivitas hambatan bakteri juga dipengaruhi oleh senyawa aktif, konsentrasi yang tersaring dan adanya bahan organik asing dapat menurunkan keefektifan zat kimia antimicrobial dengan cara menonaktifkan bahan kimia tersebut (Pelczar dan Chan, 1988).

Data hasil penelitian selanjutnya di uji statistik menggunakan SPSS 26. Analisis diawali dengan dilakukan nya uji normalitas data untuk memastikan data berdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa nilai signifikansi data ($>0,05$) yang menunjukkan data berdistribusi normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada lampiran.

Kemudian dilakukan uji homogenitas untuk melihat apakah data homogen atau tidak. Hasil menunjukkan nilai *p-value* signifikansi 0,046 ($< 0,05$) yang berarti data tidak homogen. Namun syarat untuk uji *One way anova* bahwa data harus berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada lampiran. Kemudian dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dan *Mann Whitney*.

4.9.3 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri *E.coli* ATCC 25922

Uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP dilakukan bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri dari DBWDP terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922. Pengujian antibakteri kombinasi DBWDP terhadap *E.coli* ATCC 25922 dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram.

Tabel 4.11 hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata ± Standar deviasi
		RI	RII	RIII	
DBWDP	1:1,5	4	2	8	4,66 ± 3,05
DBWDP	1:3	13	14	3	10 ± 6,08
DBWDP	2:1,5	5	12	7	8 ± 3,60
K+		22,33	25,66	22,66	23,55 ± 1,50
K-		0	0	0	0 ± 0

Keterangan : (a) ekstrak 1:1,5 (DBW 10% :DP 15%), K-, K+
 (b) ekstrak 1:3 (DBW 10%: DP 30%), K-, K+
 (c) ekstrak 2:1,5 (DBW 20%: DP 15%), K-, K+

Tabel 4.12 Tabel Uji Tukey Subset Kombinasi DBWDP Terhadap Bakteri *E.coli* ATCC 25922

		Diameter zona hambat (mm)				
		Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
				1	2	3
Tukey HSD	K-		3	0,00		
	DBWDP 1:1,5		3	4,66	4,66	
	DBWDP 2:1,5		3	8,00	8,00	
	DBWDP 1:3		3	10,00	10,00	
	K+		3			23,55
	Sig.		3	0,112	0,402	1,000

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1 %. Hal ini mengacu pada penelitian Utomo *et al* (2018) bahwa kloramfenikol konsentrasi 0,1% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Kloramfenikol juga dipilih karena bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol digunakan dalam penelitian ini karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam DBWDP yaitu flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Amalia *et al.*, 2017). Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu menghambat pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino (Putri Dayu, 2013). Dapat dilihat pada tabel 4.9 bahwa kontrol positif kloramfenikol memberikan zona hambat sebesar 26,33 mm pada kombinasi 1:1,5 dan 2:1,5 sedangkan pada kombinasi 1:3 sebesar 28,66 mm yang masuk kategori sangat kuat. Pada SPSS kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negatif maupun dengan perbandingan kombinasi DBWDP 1:1,5, 1:3, 2:1,5. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif

kloramfenikol dapat memberikan respon hambatan dalam pertumbuhan bakteri dan menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri. Hasil ini sesuai dengan penelitian Santoso *et al* (2021) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% berpotensi dalam menghambat bakteri *E.coli* dengan menghasilkan zona hambat 25,83 mm yang masuk kategori sangat kuat.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Penggunaan etanol 70% sebagai kontrol negatif dikarenakan menyesuaikan pelarut yang digunakan pada ekstrak daun tanaman dan memastikan bahwa pelarut yang digunakan tidak menghambat pertumbuhan bakteri (Rokhmatul, 2017). Penggunaan etanol 70% sebagai kontrol negatif juga didasarkan karena pada saat uji orientasi menggunakan DMSO tidak dapat menghasilkan zona hambat, dikarenakan absorpsi senyawa kedalam media agar kurang maksimal dan pelarutan sampel oleh DMSO tidak larut sempurna sehingga pada saat uji aktivitas antibakteri tidak dapat mengeluarkan zat aktifnya (Wildan *et al.*, 2015). Pada SPSS kontrol negatif berbeda bermakna dengan perbandingan 1:1,5, 1:3, 2:1,5 dan kontrol positif dikarenakan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak DBWDP digunakan perbandingan 1:1,5, 1:3, dan 2:1,5 untuk mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap *E.coli*. Hasil pada tabel 4.11 menunjukkan bahwa ekstrak DBWDP mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan ditandai nya zona bening di daerah cakram (Gambar 4.10). Perbandingan 1:2 merupakan yang paling mendekati kontrol positif. Dapat dilihat bahwa ekstrak DBWDP 1:1,5, 1:3, 2:1,5 memiliki sinergisme sehingga pengkombinasian ekstrak tersebut dapat menghambat bakteri (Pramiastuti *et al.*, 2020). Hasil zona hambat yang dihasilkan ekstrak DBWDP terhadap bakteri *E.coli* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *S.aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak DBWDP lebih berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Hal ini dapat terjadi karena bakteri *E.coli* merupakan bakteri Gram negatif sehingga memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Struktur dinding sel pada bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga dinding bakteri gram negatif akan mudah rusak (Rastina *et al.*, 2015). Perbedaan lainnya pada zona hambat tersebut dikarenakan faktor perbedaan kepolaran dari senyawa yang terkandung dalam sampel uji. Diduga ekstrak yang aktif lebih bersifat non polar, sehingga senyawa aktif yang keluar lebih banyak bersifat nonpolar dan membuat lebih mudah terikat pada dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih banyak mengandung lipid (Jawetz *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian Agastia *et al* (2021) ekstrak daun belimbing wuluh berpotensi dalam menghambat *E.coli* yang menghasilkan rata rata zona hambat yang masuk kategori kuat. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Tuntun (2016) bahwa pemberian ekstrak daun pepaya potensial dalam menekan pertumbuhan bakteri *E.coli*.

Data hasil penelitian selanjutnya di uji statistik menggunakan SPSS 26. Analisis diawali dengan dilakukan nya uji normalitas data untuk memastikan data berdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa nilai *p-value* signifikansi ($>0,05$) yang menunjukkan data berdistribusi normal. Hasil uji normalitas data dapat dilihat pada lampiran. Kemudian dilakukan uji homogenitas untuk melihat apakah data homogen atau tidak. Hasil menunjukkan nilai *p-value* signifikansi $0,19 (< 0,05)$ yang berarti data tidak homogen. Namun syarat untuk uji *One way anova* bahwa data harus berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada lampiran. Kemudian dilanjutkan uji nonparametrik menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dan *Mann Whitney*.



BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak DBWDP mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Eschericia coli* ATCC 25922 secara *in vitro*.
2. Ekstrak DBWDP yang memiliki zona hambat paling luas yaitu DBWDP pada perbandingan 1:3 dengan rata rata diameter zona hambat sebesar 7,66 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan sebesar 10 mm terhadap bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922.

5.2 Saran

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan metode ekstraksi simplisia yang lain seperti fraksinasi.
2. Pada proses penguapan ekstrak sebaiknya menggunakan alat yang lebih mutakhir agar menghasilkan ekstrak yang lebih baik.
3. Perlu dilakukan uji lanjutan seperti *in vivo* untuk melihat aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak DBWDP
4. Pada saat pengambilan dokumentasi seperti skrinning fitokimia diharapkan menggunakan background hitam agar terlihat formal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, N.M.R.D., Parwata, I.M.O.A. and Negara, I.M.S. (2016) 'Potensi Ekstrak Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lam.) Sebagai Antioksidan Alami', *Jurnal Kimia, Program Studi Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali*.
- Affero, I. (2011) 'Improving the Development of Postgraduates' Research and Supervision', *Journal of International Education Studies*, 8(1).
- Agustiani, D., Kharisma, Y. and Romadhona, N. (2017) 'Efek Antibakteri Ekstrak Air Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Muda terhadap *Lactobacillus acidophilus*.', *Bandung Meeting on Global Medicine & Health (BaMGMH)*, 1(1).
- Ahmad, A., Husain, A. and Mujeeb, M. (2013) "A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb".', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp. 337-352.
- Aiyegoro, A.O., Afolayan, A.J. and Okoh, A.I. (2009) 'In Vitro Antibacterial Activities of Crude Extracts of The Leaves of *Helichrysum longifolium* In Combination with Selected Antibiotics', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(6), pp. 293-300.
- Alimul, H. (2003) 'Riset Keperawatan dan Teknik Penulisan Ilmiah. Edisi I.', *Jakarta: Salemba Medika*
- Amalia, A., Sari, I., dan Nursanty, R., (2017) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) (D.C) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA' *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, pp. 387-391)
- Amir, H. (2014) '9 Jurus Sukses Bertanam Pepaya California', *PT Agro Media Pustaka, Jakarta*
- Anna, K.S., *et al.* (2019) 'Analisis Kualitatif Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) di Banjarmasin Dengan Metode Spektrofotometri *Uv-Vis*'. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), pp. 7-17.
- April (2019) 'Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid', *jurnal Zarah*, 6.
- Arudhina, E., Soegihardjo, C.J. and Sidharta, B.R. (2012) 'Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alamanda (*Allamanda cathartica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap *Candida albicans* Dan *Pityrosporum ovale* Secara In Vitro.', *Jurnal*

- Teknologi Farmas*, 2(1), pp. 1–15.
- Banu, R.H.Nagarajan, N. (2014) “‘TLC and HPTLC fingerprinting pf leaf extracts of wedelia chinensis (Osbeck) Merrill’,” *Jornal of Pharmacognosy an Phytochemitry*, 2(6), pp. 29–23.
- Bonang, G. (1992) ‘Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16.’, in *Jakarta : Buku Kedokteran EGC*.
- BPOM (2008) ‘Informatorium Obat Nasional Indonesia’, *Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta*
- BPOM, R. (2010) *Acuan Sediaan Herbal*,. Edisi I. Edited by B.P.O. dan M.R.I. Direktorat Obat Asli Indonesia. Jakarta.
- Brooks, G.F., Janet, S.B. and A.M., S. (2005) *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Buku I, Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L.*
- Cahyanta, A.N. *et al.* (2020) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya dan Kulit Jeruk Manis Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat Secara *In-vitro*’, 9(1), pp. 22–28.
- Calabria, L.M. (2008) ‘The Isolation and Characterization of Triterpene Sapions Form Silphium and the chemosystematic and Biological Significance of Saponins in the Asteraceae’, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. England: John Wiley & Sons Ltd.*
- Chandra B (2012) ‘Pengantar Kesehatan Lingkungan.’, *Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC*, p. 105.
- Cook, N.C. and Samman, S. (1996) *Flavonoids : Chemistry, Metabolism, Carsioprotective Effects, and Dietary Sources, Nutr. Biochem.*
- Departemen Kesehatan, R. (2000) ‘Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama’, *Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.*, pp. 3–11, 17–19.
- Departemen Kesehatan, R. (2008) *Profil kesehatan Indonesia 2007*. Jakarta: Depkes RI Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI (1995) ‘Farmakope Indonesia edisi IV’, (551–713).
- Departemen Kesehatan RI (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*,. Cetakan Pe. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI (1986) *Sediaan Galenik, 2 & 10*, *Departemen Kesehatan RI, Jakarta*. Edited by Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Diniatik, S., Dwi, A. and Ibnu, A. (2015) ‘Uji antioksidan ekstrak etanol daun dan kulit batang manggis.’, *Pharmaciana*, 6, pp. 21-30.
- Dwidjoseputro, D. (1985) ‘Dasar-dasar Mikrobiologi.’, *Jakarta: Djambatan*.
- Ergina, N., Siti, P. and Indarini, D. (2014) ‘Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol’, *Jurnal Akademi Kimia*, 3(3), pp. 65–172.
- Faharani, B.G.. (2009) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Daun Belimbing wuluh

- (Averrhoa Bilimbi L) terhadap Bakteri Staphlococcus aureus dan Escherichia coli Secara Bioautografi', *Skripsi FMiPA UII Yogyakarta*
- Gandjar I. (2007). Kimia Farmasi Analisis. *Penerbit Pustaka Pelajar*.
- Ghazali, I. (2011) *Aplikasi Analisa Multivariate dengan Program SPSS 19*. Semarang: BP Universitas Diponegoro.
- Gomes, T.A. *et al.* (2011) 'Adhesin- encoding genes from Shiga toxin-producing Escherichia coli are more prevalent in atypical than in typical enteropathogenic E. coli.', *Journal of Clinical Microbiology*, 49, pp. 334–3337. doi:10.1128/JCM.00779-11.
- Gunawan, D. and Mulyani, S. (2004) 'Ilmu Obat Alam', *Penerbit Swadaya*
- Gunawan, D. and Mulyani, S. (2010) 'Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I.', *Penerbit Swadaya. Jakarta.*, p. 144.
- Gupte, S. (1990) 'Mikrobiologi Dasar, alih bahasa oleh Julius, E. S., Edisi ketiga, 43', *Binarupa Aksara, Jakarta*
- HAM, M. (2006) 'Kamus Kimia.', *Jakarta: PT Bumi Aksara*.
- Hamdani, S. (2009) 'Metoda Ekstraksi, terdapat di dalam <http://catatankimia.com>, diakses 14 April 2017.'
- Hanani, E. (2014) *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG .
- Harbone, J.B., (1987), *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, terbitan kedua*, ITB. Bandung, Indonesia.
- Harborne, J.B., (1996) *Metode Fitokimia, Cetakan II, diterjemahkan oleh Kosasih Padma Winata dan Iwang Soediro*. ITB Press, Bandung,.
- Herbie, T. (2015) 'Kitab Tanaman Berkhasiat Obat-226 Tumbuhan Obat untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh', *Yogyakarta: Octopus Publishing House*,
- Hern, T., Rahman, R.A. and Siew, H.. (2009) 'The antibacterial properties of malaysian tualang honey against wound and enteric microorganism in comparison to manuka honey', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, p. 34.
- Hidayah, N. (2016) 'Uji Efektivitas Ekstrak Sargassum muticum Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas Staphylococcus aureus', *Journal of Creativity Students*
- Hoffman, D. (2003) *Medical Herbalism The Science And Practice Of Herbal Medicine. 2nd edition, India: Healing Arts Press Rochester, Vermont*.
- Iqbal, M.H.P., Suhendro, S.T.L. and Murdani, A. (2014) 'Faktor Resiko Methicillin Resistant Staphylococcus aureus pada Pasien Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak Di Ruang Rawat Inap', *Jurnal Penyakit Dalam*, 1(1), pp. 3-14.
- Irawan, B. (2010) 'Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut', *Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia*.

- Jacob, S.W. and de la Torre, J.C. (2015) 'Dimethyl Sulfoxide (DMSO) in Trauma and Disease.', *CRC Press, Boca Raton*, pp. 1-4.
- Jawetz, Melnick; and Adelberg's. (2005) 'Mikrobiologi Kedokteran.', *Salemba Medika. Jakarta*
- Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. (2005) 'Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L.', *Salemba Medika, Jakarta.*, p. 327-335, 362-363.
- Jawetz, Melnick and Adelberg's. (2013) 'Medical microbiology.', *International edition.*, pp. 229–251.
- Johnston J., V. (2011) 'Process For Producing an Ethyl Acetate Solvent and Co-Production Of Ethanol.'
- Kemalapuri, D., Jannah, S. and Budiharjo, A. (2017) 'Deteksi MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) pada Pasien Rumah Sakit dengan Metode Maldi-Tof MS dan Multiplex PCR', *Biologi*, 6(4), pp. 51–61.
- Kurniawan, B. and Wayan, F.A. (2015) 'Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth', *J Majority*
- Kurniawati, E. (2015) 'Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara *In vitro*', pp. 193–199.
- Maharani, M. D., Gama, S. I., & Masruhim, M. A. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Etanol Daun Kelor (*Moringa oliefera* Lam) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthun* Walp). *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, 48– 53
- Mahon, C.R. and Manuseelis, J.R. (1995) 'Textbook of Diagnostic Microbiology, WB Saunders Company, Philadelphia USA.', *WB Saunders Company, Philadelphia USA.*
- Manning, D. (2010) 'Escherichia coli Infection.', *New York: Chelsea House Pub.*
- Melinda (2014) 'Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lowsonia inermis* L)', *Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.*
- Muharni, M., Elfita, E. and Emil, P. (2017) 'Aktivitas Antibakteri Santon Dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang *Garcinia picrorrhiza* Miq', *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 13(2), pp. 252–263.
- Mukhriani (2014) 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif', *Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin, Jurnal kesehatan, Makassar. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin, Jurnal kesehatan, Makassar.*
- Muthmainnah, B., (2017) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna', *Media Farmasi Poltekkes Makassar*, 8(2).
- Nasution, W. *et al.* (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak

- Liman (*Elephantopus Scaber L*) Terhadap Bakteri *Shigella Dysenteriae* Dengan Metode Difusi Cakram The effectiveness of liman tread leaves (*Elephantopus Scaber L*) ethanol extract against shigella dysenteria', *Biospecies*, 14(1), pp. 18–23.
- Nor, T.A. *et al.* (2018) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* Secara *In vitro*', 15(5), pp. 327–337.
- Nordmann,P., L, P. and L., D. (2012) 'Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.', *Emerging Infection Disease.*, 18, pp. 1503–1507.
- Novard, A.M.F., Suharti, N. and Roslaili, R. (2019) 'Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr . M .Djamil Padang Tahun 2014-2016', 8(Supplement 2), pp. 26–32.
- Novi, F.U. *et al.* (2020) 'Screening of Mango Leaves (*Mangifera Indica L.*) Varieties In Indonesia For Antibacterial Activity *S. aureus.*', *Intl Journal Res. Ayurveda Pharm*, 11(2), pp. 77–80.
- Nurhayati, T. (2008) 'Uji efek sediaan serbuk instan rimpang kencur (*Kaempferia galanga L*) sebagai tonikum terhadap mencit jantan galur Swiss webster.', (*Skripsi*). *Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.*
- Nurul A. (2016). Penentuan Kadar Alkaloid Pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode NIR dan Kemometri. *Universitas Jember Prees.*
- Padmasari, P.D., Astuti, K.W., Warditiani, N.K., (2013) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*), Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, Bali.
- Pelczar, M.J. and Chan, E.C.S. (1988) 'Dasar-Dasar Mikrobiologi.', *Jakarta: Universitas Indonesia Press.*
- Permenkes, R. (2011) 'PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 1691/MENKES/PER/VIII/2011', pp. 1–13.
- Pramiastuti, O. *et al.* (2020) 'Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Dan Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) Terhadap *Staphylococcus aureus*', 9(2), pp. 33–41. doi:10.30591/pjif.v.
- Pratiwi, S.T., (2008) 'Mikrobiologi Farmasi.', *Jakarta: Erlangga.*
- Priyowidodo, T. (2017) 'Panduan Teknis Budidaya Pepaya.' Available at: <https://alamtani.com/>.
- Putra, W.S. (2015) 'Kitab Herbal Nusantara Kumpulan Resep dan Ramuan Tanaman Obat Untuk Berbagai Gangguan Kesehatan'. (Andien, Ed.)', *Yogyakarta: Katahati.*
- Putri, D.N., (2013) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir

- (*Cosmos caudatus Kunth.*) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*.
- Radji, M. (2011) 'Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran', in *Jakarta, Buku Kedokteran EGC.*, pp. 107, 118, 201–207, 295.
- Rahayu, P. (2013) 'Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans.*', *Skripsi. Makassar : Universitas Hasanudin.*
- Rahmadani, F. (2015) 'Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% dari kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa.*', *Fakultas Farmasi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.*
- Rajendra, V.D. and (2014) 'Estimation of Total Phenol, Tannin, Alkaloid and Flavonoid in hibiscus tiliaceus Linn, Wood Extracts', *journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 2(4).
- Ratnani D.R., I., H. and L., K. (2012) 'Potensi Produksi Andrographolide dari Sambiloto (*Andrographis paniculata Ness*) melalui Proses Ekstraksi Hidrotropi', 8(1), pp. 12–20.
- Reza, A., Yusuf, M., and Tutik. (2022) 'Analisis Kadar Senyawa Alkaloid dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Menggunakan Spektrofotometri *Uv-Vis*', *Jurnal Farmasi Mahalayati*, 5(1), pp. 108-120.
- Risnasari. I (2001) 'Pemanfaatan Tanin sebagai Bahan Pengawet Kayu', *Skripsi. Medan. Universitas Sumatera Utara.*
- Rissa, L.V., and Yustisia, D.A., (2018) 'Skrinning Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa B.*)', *Prosiding Seminar Nasional Unima*, 1, pp. 8-14.
- Ristya, H., Suswati, I. and Setiawan, I. (2015) 'TERHADAP SHIGELLA DYSENTERIAE SECARA IN VITRO DENGAN METODE', 11(1), pp. 1–8
- Riwanti, P., Izazih, F., Amaliyah. (2020) 'Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura', *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2).
- Rizky, S.A., Bhagawan, W.S., Annisa, R., (2017) 'Formulation and Antibacterial Activity Test *Staphylococcus Epidermidis* as Microemulsion Preparation of Cherry Leaf Extract (*Muntingia Calabura L.*) Using the Oil Phase Isopropyl Myristate (IPM)'. *Proceedings of the International Conference on Green Technology, [S.I.]*, v. 8, n. 1, p. 27-32,
- Rokhmatul, M. 2017. 'Skrinning Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Sepuluh Daun Tanaman Terhadap *Bacillus cereus.* Skripsi UM Surakarta.
- Roni, A., Sayyidatunnisa, Z. and Budiana, W. (2019) 'Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF GANDARIA (*Bouea macrophylla Griff*) AGAINTS Staphylococcus aureus

- AND *Escherichia coli*', VI(1), pp. 17–21.
- Rosidah, I. *et al.* (2020) 'Standarisasi Ekstrak Etanol 70% Buah Labu Siam (*Sechium edule (jacq.) Sw.*)', *Journal Farmasains*, Vol 7, No.1.
- Roy, A., Geetha, R.V. and Lakshmi, T. (2011) 'Averrhoa bilimbi Linn', *International Journal of Drug & Development & Research*, 3, pp. 101–106.
- Saifuddin, *et al* (2011) 'standarisasi bahan obat alam', *Graha Ilmu*
- Sapri, S., D, S. and R., K. (2012) 'Pengaruh Penggunaan Pati Biji Cempedak (*Arthocarpus Champeden Lour*) Sebagai Bahan Pengikat Terhadap Sifat Fisik Tablet Parasetamol Secara Granulasi Basah.', *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 2(1), p. 28.
- Sari, I.R.M. (2012) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus Ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Teraktif', *Skripsi UI Jakarta*, p. 70.
- Sarker S.D., Z., L. and A.I., G. (2006) 'Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey).', *Humana Press Inc.*, 18, pp. 6–10.
- Seftiana, L. (2010) 'Analisis Kelayakan Usahatani Pepaya di Desa Blendung, Kecamatan Purwadadi Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor Kabupaten Subang', *Bogor: [Skripsi] Departemen Agribisnis Fakultas Ekonomi dan Manajemen Institut Pertanian Bogor.*].
- Simaremare, E.S. (2014) 'SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAUN GATAL (*Laportea decumana (Roxb.) Wedd*) Eva', *PHARMACY*, 11(01), pp. 98–107.
- Soedarto. (2015) 'Mikrobiologi Kedokteran.', *Jakarta: CV. Sagung Seto*
- Subaryanti., Meianti, D.S.D., Manalu, T.R., (2022) 'Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Urticastrum decumanum (Roxb.) Kuntze*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*', *Jurnal Kefarmasian*, 15(2), pp. 93-102.
- Sulistyo. (1971) 'Farmakologi dan Terapi.', *Penerbit EKG : Yogyakarta*
- Sumardjo, D. (2009) 'Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta', *Jakarta: EGC*
- Sutrisna, E.M. and Sujono, T.A. (2015) 'The combination of belimbing wuluh fruit (*Averrhoa bilimbi L.*) and leaves of tapak dara (*Catharanthus roseus G.*) from Indonesia as a candidate hypoglycemic agents and thin layer chromatography profiles', *Biomedical and Pharmacology Journal*, 8(1), pp. 39–46.
- Tiwari, P. *et al.* (2011) 'Phytochemical Screening And Extraction: A Review', *International Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp. 98–106.
- Tjay., T.. and Rahardja., K. (2015) 'Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek - Efek Sampingnya, PT Elex Media Komputindo, Jakarta, pp. 523–531.', in *PT Elex Media Komputindo, Jakarta, pp.*, pp. 523–531.
- Tuntun, M. (2016) 'Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*',

- Jurnal Kesehatan*, 7(3), p. 497. doi:10.26630/jk.v7i3.235.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Utomo SB, Fujiyanti M, Lestari WP, Mulyani S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4- Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium- Bromide terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia* 3(30) : 109-209.
- Voight, R. (1995) ‘Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, diterjemahkan oleh Soendari Noerono’, in *Gajah Mada University Press, Yogyakarta*, pp. 566-567.
- Waluyo, L. (2007) ‘Mikrobiologi Umum Edisi Revisi.’, *Malang: UMM Press*, p. 319 dan 330.
- Wardaningrum, R. Y., Susilo, J., & Dyahariesti. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dengan Vitamin E. Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan. Ungaran: Universitas Ngudi Waluyo
- Wijayakusuma, H., Dalimartha, S. and Wirian, A. (2006) *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*.
- Wijayanti, T.R.A. and Safitri, R. (2018) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Infeksi Nifas’, *Care : Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 6(3), p. 277. doi:10.33366/cr.v6i3.999.
- Wilantari, P.D. *et al.* (2019) ‘Isolasi Kafein Dengan Metode Sublimasi dari Fraksi Etil Asetat Serbuk Daun Teh Hitam (*Camelia sinensis*)’, *Jurnal Farmasi Udayana*, 8(1), pp. 53–62.
- Wildan, N.F., Yuliawati, M.K., and Syafnir, L. (2013) ‘Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi Klt terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia Esculenta* L.)Schott’, *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*, pp. 583-590.
- Yulaikha, P. and Wahyu Aji, W. (2019) ‘Spectrum Of Bacteria In Ulcer , Abscess , And Cellulitis In RS PKU Muhammadiyah untuk menyebutkan hilangnya seluruh dan ulkus dekubitus .’, pp. 472–482.
- Yusriana, C.S., Budi, C.S. and Dewi, T. (2014) ‘Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.’, *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*
Linn)



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/ 220/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Belimbing Wuluh**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : LULUL ULFATUN QORIK'AH
NIM : 1813206013
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman belimbing wuluh

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Geraniales
Suku : Oxalidaceae
Marga : *Averrhoa*
Jenis : *Averrhoa bilimbi* L.
Nama Daerah : Limeng, selimeng, thlimeng (Aceh); balimbieng (Minangkabau); belimbing asam (Melayu); Balimbing (Lampung); calincing, balingbing (Sunda); belimbing wuluh (Jawa); bhalingbhing bulu (Madura); blingbing buloh (Bali).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b:Oxalidaceae-a:Averrhoa-1b:*A.bilimbi*.

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 5-10 m. Batang: Tegak, bercabang-cabang, permukaan kasar, banyak tonjolan, hijau kotor. Daun: Majemuk, menyirip, anak daun 25-45 helai, bulat telur, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 7-10 cm, lebar 1-3 cm, bertangkai pendek, pertulangan menyirip, hijau muda, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, panjang 5-20 cm, kelopak ± 6 mm, merah, daun mahkota bergandengan, bentuk lanset, ungu. Buah: Buni, bulat, panjang 4-6 cm, hijau kekuningan. Biji: Lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Akar: Tunggang, coklat kehitaman.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 17 Maret 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.

PEMBINA

NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Pepaya (*Carica Papaya Linn.*)



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/ 221/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Pepaya**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : LULUL ULFATUN QORIK'AH
NIM : 1813206013
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman pepaya

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Violales
Suku : Caricaceae
Marga : Carica
Jenis : *Carica papaya* L.
Nama Umum : Pepaya (Indonesia), Rente (Aceh), Pertek (Gayo), Pastela (Batak), Embelik (Karo), Gedang (Lampung), Gedang (Sunda), Kates (Jawa), Kates (Madura), Gedang (Bali), Kustela (Banjar).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109b-119b-120b-121b-124b-125a-126a:Caricaceae-1:*C.papaya*.

2. Morfologi

Habitus: Perdu, tinggi ±10 m. Batang: Tidak berkayu, silindris, berongga, putih kotor. Daun: Tunggal, bulat, ujung runcing, pangkal bertoreh, tepi, bergerigi, diameter 25-75 cm, pertulangan menjari, panjang tangkai 25-100 cm, hijau. Bunga: Tunggal, bentuk bintang, di ketiak daun, berkelamin satu atau berumah dua; bunga jantan terletak pada landan yang serupa malai, kelopak kecil, kepala sari berangkai pendek atau duduk, kuning, mahkota bentuk terompet, tepi bertaju lima, bertabung panjang, putih kekuningan; bunga betina berdiri sendiri, mahkota lepas, kepala putik lima, duduk, bakal buah beruang satu, putih kekuningan. Buah: Buni, bulat memanjang, berdaging, masih muda hijau setelah tua jingga. Biji: Bulat atau bulat panjang, kecil, bagian luar dibungkus selaput yang berisi cairan, masih muda putih setelah tua hitam. Akar: Tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan.

3. Bagian yang digunakan

: Daun.

4. Penggunaan

: Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 17 Maret 2022
KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri *Staphylococcus aureus*



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
 BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Karanggeneng No. 19 Surabaya - 60261
 Telp: (031) 501998, 111, 1011502141, Sukorejo, 601540858
 Website: BLS-surabaya.id, Sppt.ebtisnark - BLSsurabaya.go.id



Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Mita Uly Andini
 Instansi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Sengani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

Keterangan jenis strain
 Bakteri : *Staphylococcus aureus*
 ATCC : ATCC 25923
 Passage : #3

Hasil Uji Biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

No	Jenis Uji	Hasil
1	Pengcatan Gram	Gram positif coccus bergerombol
2	Glukose	Positif (+)
3	Sukrose	Positif (+)
4	Mantol	Positif (+)
5	Katalase	Positif (+)
6	Koagulase	Positif (+)
7	DNase	Positif (+)
8	Haemolisa	β Haemolitik

Manajer Teknis

 dr. Titiek S, M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 190207252010122002




Lampiran 4. Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri *Escherichia coli*



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PELAYANAN KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Kuninganrejo No. 18, Surabaya - 60234
 Telp: (031) 400396, (031) 8531201451, Faksimil: (031) 5014584
 Website: balaihsy.com, surabaya.kemkes.go.id, balaihsy.kemkes.go.id



Surabaya, 23 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Mita Uly Andini
 Instansi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 04 April 2022
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Senggang (*Molostoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

Keterangan jenis strain
 Bakteri : *Escherichia coli*
 ATCC : ATCC 25922
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

NO	JENIS UJI	HASIL	
1	Pengecatan Gram	Gram negatif batang	
2	KKA	Larung	Acid
		Dyok	Acid
		Gas	Positif
		H ₂ S	Negatif
3	Glukosa	Positif, Gas Positif	
4	Laktosa	Positif, Gas Positif	
5	Maltosa	Positif, Gas Positif	
6	Manitosa	Positif, Gas Positif	
7	Sukrosa	Negatif	
8	Indol	Positif	
9	Methyl Red	Positif	
10	Voges Proskauer	Negatif	
11	Simon citrat	Negatif	
12	Ureasa	Negatif	
13	Motilitas	Positif	
14	Lysin Decarboxilase	Positif	

Manajer Teknis

dr. Titiek S., M.Ked Klin, Sp.MK
 NIP. 198207262010122002




SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN KARYA PUTRA BANGSA - TULUNGAGUNG

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan ekstrak



Simplisia Serbuk DP



Simplisia Serbuk DBW



Maserasi Daun Pepaya



Maserasi Daun Belimbing Wuluh



Penyaringan DP



Penyaringan DBW



Pemekatan dengan oven DP



Pemekatan dengan oven DBW



Hasil Maserat DP



Hasil Maserat DBW



Penimbangan Maserat DP



Penimbangan Maserat DBW

2. Bebas etanol ekstrak DBWDP



(DP)



(DBW)

3. Skrinning fitokimia ekstrak DBWDP



Flavonoid DP



Flavonoid DBW



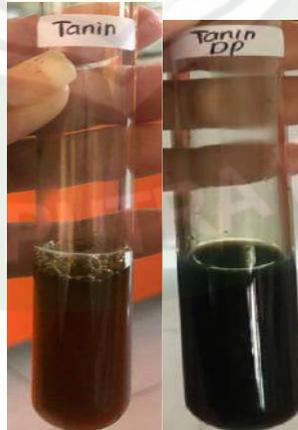
Alkaloid DP



Alkaloid DBW



Tanin DP



Tanin DBW

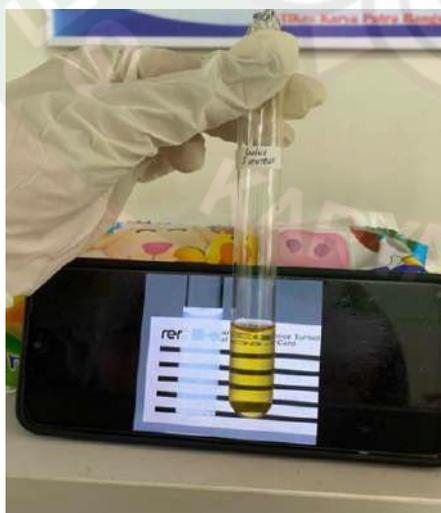


Saponin DP Saponin DBW

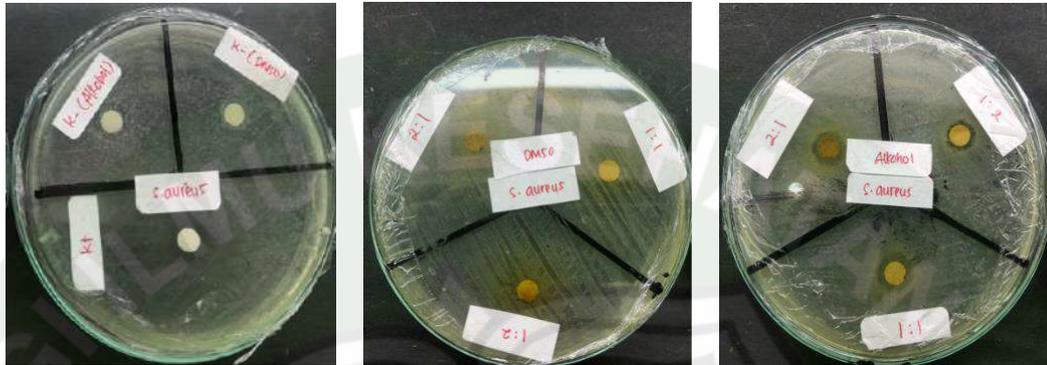
4. Peremajaan bakteri



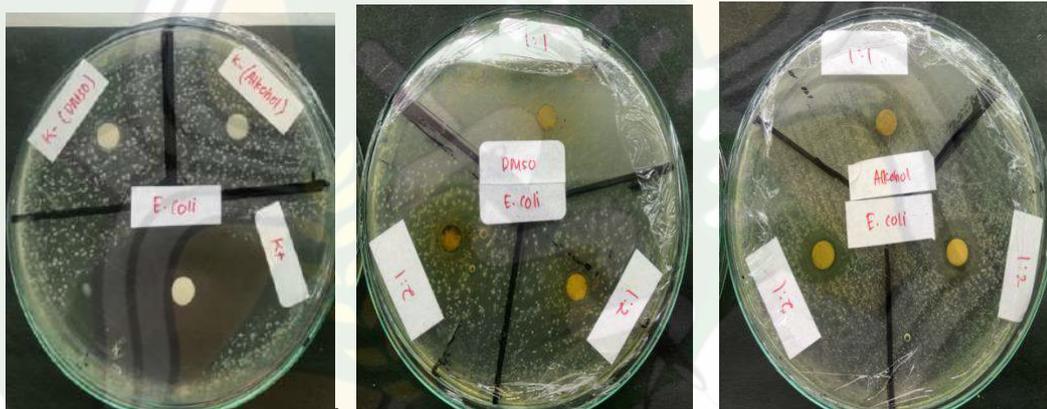
5. Suspensi bakteri



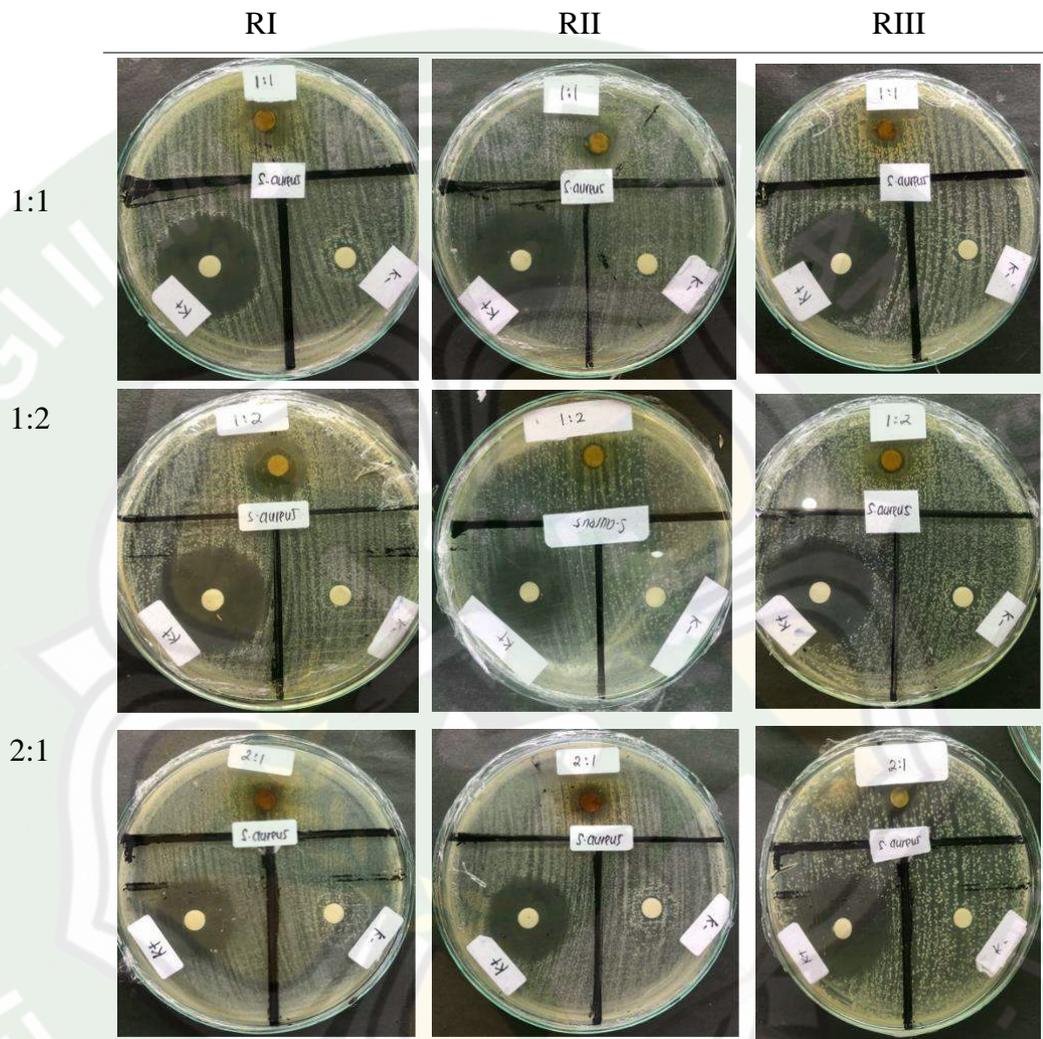
6. Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak DBWDP terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

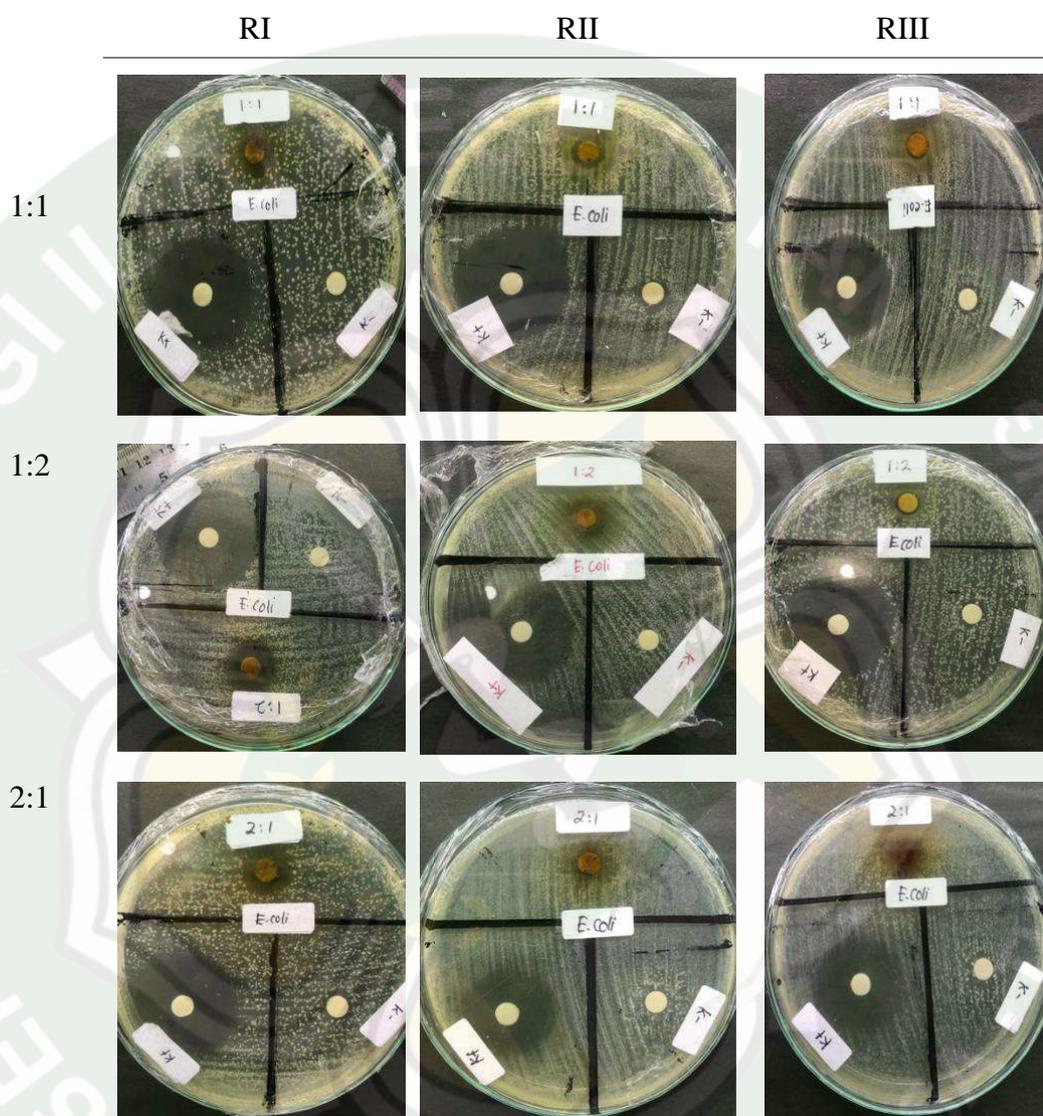


7. Uji aktivitas antibakteri orientasi ekstrak DBWDP terhadap bakteri *Escherichia coli*



8. Uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



9. Uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri *Escherichia coli*

Lampiran 6. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan bakteri

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g} \end{aligned}$$

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned} \text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 15 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 7. Pembuatan Larutan Uji

$$\begin{aligned} 1. \text{Konsentrasi } 10 \% &= \frac{10}{100} \times \text{volume} \\ &= \frac{10}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{Konsentrasi } 15\% &= \frac{15}{100} \times \text{volume} \\ &= \frac{15}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1,5 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Hasil

Uji kadar air

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Belimbing	10 g	9,19	8,1%
Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi</i> Linn.)			
Daun pepaya (<i>Carica Papaya</i> Linn.)	10 g	9,12	8,8 %

$$\begin{aligned}
 1. \text{Rumus \% kadar air DBW} &= \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100 \% \\
 &= \frac{10 \text{ g} - 9,19 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 8,1 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{Rumus \% kadar air DP} &= \frac{\text{Bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100 \% \\
 &= \frac{10 \text{ g} - 9,12 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 8,8 \%
 \end{aligned}$$

Rendemen ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa Bilimbi Linn.</i>)	500 gr	69 gr	13,8 %
Daun pepaya (<i>Carica Papaya Linn.</i>)	500 gr	65 gr	13 %

$$\begin{aligned}
 1. \text{Rumus \% rendemen ekstrak DBW} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100 \% \\
 &= \frac{69 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 13,8 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{Rumus \% rendemen ekstrak DP} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100 \% \\
 &= \frac{65 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 13 \%
 \end{aligned}$$

Penetapan kadar flavonoid

1. Rumus % penetapan kadar flavonoid DBW

$$\% = \frac{C_p \times \frac{A_u}{A_p} \times V \times f}{W} \times 100\%$$

C_p = Kadar larutan pembanding

A_u = Serapan larutan uji

A_p = Serapan larutan pembanding

V = volume larutan uji sebelum pengenceran

F = faktor pengenceran larutan uji

W = bobot bahan uji

$$\% = \frac{0.02 \times \frac{0.125}{0.204} \times 100 \times 25}{1000} \times 100\%$$

$$= 3,06 \%$$

2. Rumus % penetapan kadar flavonoid DP

$$\% = \frac{C_p \times \frac{A_u}{A_p} \times V \times f}{W} \times 100\%$$

C_p = Kadar larutan pembanding

A_u = Serapan larutan uji

A_p = Serapan larutan pembanding

V = volume larutan uji sebelum pengenceran

F = faktor pengenceran larutan uji

W = bobot bahan uji

$$\% = \frac{0.02 \times \frac{0.089}{0.204} \times 100 \times 25}{1000} \times 100\%$$

$$= 2,18 \%$$

Standart Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi
20	0.204
30	0.316
40	0.482
50	0.621
60	0.737

Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri DBWDP terhadap bakteri

Staphylococcus aureus

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata ± Standar deviasi
		RI	RII	RIII	
DBWDP	1:1	7	8	9	8 ± 1
K-	1:1	0	0	8	2,66 ± 4,61
K+	1:1	28	26	25	26,33 ± 1,52
DBWDP	1:2	7	13	10	10 ± 3
K-	1:2	0	0	7	2,33 ± 4,04
K+	1:2	29	29	28	28,66 ± 0,57
DBWDP	2:1	8	12	9	9,66 ± 2,08
K-	2:1	0	7	7	4,66 ± 4,04
K+	2:1	25	26	28	26,33 ± 1,52

Lampiran 10. Hasil uji *mann whitney* DPDBW terhadap bakteri

Staphylococcus aureus

	<i>Uji Mann Whitney</i>	<i>Sig.</i>
	Ekstrak DBWDP 1:2	0.658
Ekstrak DBWDP 1:1	Ekstrak DBWDP 2:1	0.658
	K- DBWDP	0.037*
	K+ DBWDP	0.05*
Ekstrak DBWDP 1:2	Ekstrak DBWDP	0.658
	Ekstrak DBWDP	0.513
	K- DBWDP	0.037*
	K+ DBWDP	0.05*
Ekstrak DBWDP 2:1	Ekstrak DBWDP 1:1	0.658
	Ekstrak DBWDP 1:2	0.513
	K- DBWDP	0.037*
	K+ DBWDP	0.05*

Analisis :

a. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

b. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

Kesimpulan : Berdasarkan lampiran 10 menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara ekstrak DBWDP 1:1, DBWDP 1:2 dan DBWDP 2:1 dengan K- maupun K+ ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($< 0,05$).

Lampiran 11. Hasil analisis data ekstrak DBWDP terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Tabel input data

	diamater zona hambat	konsentrasi	var											
1	7.00	1.00												
2	8.00	1.00												
3	9.00	1.00												
4	.00	2.00												
5	.00	2.00												
6	8.00	2.00												
7	28.00	3.00												
8	26.00	3.00												
9	25.00	3.00												
10	7.00	4.00												
11	13.00	4.00												
12	10.00	4.00												
13	.00	5.00												
14	.00	5.00												
15	7.00	5.00												
16	29.00	6.00												
17	29.00	6.00												
18	28.00	6.00												
19	8.00	7.00												
20	12.00	7.00												
21	9.00	7.00												

2. Tabel uji normalitas

Tests of Normality S.aureus

		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	DBWDP 1:1	0.337	3	.	0.885	3	0.253
zona	DBWDP 1:2	0.219	3	.	0.987	3	0.780

hambat	DBWDP 2:1	0.175	3	.	1.000	3	1.000
(mm)	K-	.	3	.	.	3	.
	K+	0.205	3	.	0.993	3	0.842

Analisis :

- Jika $p\text{-value} > 0,05$: Data berdistribusi normal.
- Jika $p\text{-value} < 0,05$: Data berdistribusi tidak normal.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil signifikansi ($> 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi normal.

3. Tabel uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances S.aureus					
		Levene Statistic	Df1	Df2	Sig.
Diameter zona hambat	Based on Mean	2.271	4	10	0.046
	Based on Median	0.909	4	10	0.495
	Based on Median and with adjusted df	0.909	4	5.856	0.516
	Based on trimmed mean	2.075	4	10	0.159

Analisis :

- Jika $p\text{-value} > 0,05$: Data homogen
- Jika $p\text{-value} < 0,05$: Data tidak homogen

Kesimpulan : Berdasarkan analisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil signifikansi 0,046 ($< 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak homogen.

4. Tabel uji *Kruskall-Wallis*

Ranks			
	Konsentrasi	N	Mean Rank
Diameter zona hambat	DBWDP 1:1	3	7.67
	DBWDP 1:2	3	8.83
	DBWDP 2:1	3	7.50
	K-	3	2.00
	K+	3	14.00
	Total		15

Test Statistics	
	diameter zona hambat (mm)
Kruskall-Wallis H	11.077
df	4
Asymp. Sig	0.026

Analisis :

a. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

b. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,026 ($< 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

5. Tabel uji *Mann-Whitney*

a. ekstrak DBWDP 1:1 dan DBWDP 1:2

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	3.17	9.50
hambat	DBWDP 1:2	3	3.83	11.50
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	9.500
Z	-.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.658
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700

b. Ekstrak DBWDP 1:1 dan DBWDP 2:1

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	3.17	9.50
hambat	DBWDP 2:1	3	3.83	11.50
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	9.500
Z	-.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.658
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700

c. Ekstrak DBWDP 1:1 dan K+

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

d. Ekstrak DBWDP 1:1 dan K-

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	0.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

e. Ekstrak DBWDP 1:2 dan DBWDP 2:1

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	4.00	12.00
hambat	DBWDP 2:1	3	3.00	9.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700

6. Ekstrak DBWDP 1:2 dan K-

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

7. Ekstrak DBWDP 1:2 dan K+

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

8. Ekstrak DBWDP 2:1 dan K+

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 2:1	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

9. Ekstrak DBWDP 2:1 dan K-

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 2:1	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
Zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

10. K- dan K+

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	K-	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
Zona hambat (mm)	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

Lampiran 12. Hasil uji aktivitas antibakteri DBWDP terhadap bakteri

Eschericia coli

hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi DBWDP terhadap bakteri *Eschericia coli*

ATCC 25922

Sampel	Konsentrasi	Diameter (mm)			Rata-rata ± Standar deviasi
		RI	RII	RIII	
DBWDP	1:1	11	9	8	9,33 ± 1,52
K-	1:1	7	7	0	4,66 ± 4,04
K+	1:1	29	28	24	27 ± 2,64
DBWDP	1:2	13	14	11	12,66 ± 1,52
K-	1:2	0	0	8	2,66 ± 4,61
K+	1:2	28	29	28	28,33 ± 0,57
DBWDP	2:1	13	12	7	10,66 ± 3,21
K-	2:1	8	0	0	2,66 ± 4,61
K+	2:1	28	24	24	25,33 ± 2,30

Lampiran 13. Hasil uji *mann whitney* DPDBW terhadap bakteri *Eschericia*

coli

	<i>Uji Mann Whitney</i>	<i>Sig.</i>
	Ekstrak DBWDP 1:2	0.275
Ekstrak DBWDP 1:1	Ekstrak DBWDP 2:1	0.275
	K-	0.037*
	K+	0.05*
Ekstrak DBWDP 1:2	Ekstrak DBWDP 1:1	0.275
	Ekstrak DBWDP 2:1	0.513
	K-	0.037*
	K+	0.05*
Ekstrak DBWDP 2:1	Ekstrak DBWDP 1:1	0.275
	Ekstrak DBWDP 1:2	0.513
	K-	0.037*
	K+	0.05*

Analisis :

a. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Eschericia coli*.

b. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Eschericia coli*.

Kesimpulan : Berdasarkan lampiran 13 menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara ekstrak DBWDP 1:1, DBWDP 1:2 dan DBWDP 2:1 dengan K- maupun K+ ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($< 0,05$).

Lampiran 14. Hasil analisis data kombinasi DPDBW terhadap bakteri *Eschericia coli*

1. Tabel input data

The screenshot shows the SPSS Data Editor window with a data table. The table has two main columns: 'diameterr zona hambat' and 'konsentrasi'. The data is as follows:

	diameterr zona hambat	konsentrasi
1	11.00	1.00
2	9.00	1.00
3	8.00	1.00
4	7.00	2.00
5	7.00	2.00
6	00	2.00
7	29.00	3.00
8	28.00	3.00
9	24.00	3.00
10	13.00	4.00
11	14.00	4.00
12	11.00	4.00
13	00	5.00
14	00	5.00
15	8.00	5.00
16	28.00	6.00
17	29.00	6.00
18	28.00	6.00
19	13.00	7.00
20	12.00	7.00
21	7.00	7.00

2. Tabel uji normalitas

Tests of Normality E.coli

		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	DBWDP 1:1	0.253	3	.	0.964	3	0.637
zona	DBWDP 1:2	0.356	3	.	0.818	3	0.157
hambat	DBWDP 2:1	0.276	3	.	0.942	3	0.537

(mm)	K-	.	3	.	.	3	.
	K+	0.353	3	.	0.824	3	0.172

Analisis :

- c. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Data berdistribusi normal.
- d. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Data berdistribusi tidak normal.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil signifikansi ($< 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi normal

3. Tabel uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances S.aureus					
		Levene Statistic	Df1	Df2	Sig.
Diameter zona hambatan	Based on Mean	4.910	4	10	0.019
	Based on Median	0.650	4	10	0.640
	Based on Median and with adjusted df	0.650	4	3.825	0.658
	Based on trimmed mean	4.266	4	10	0.029

Analisis :

- c. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Data homogen
- d. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Data tidak homogen

Kesimpulan : Berdasarkan analisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil signifikansi 0,19 ($< 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak homogen.

4. Tabel uji *Kruskall-Wallis*

Ranks			
	Konsentrasi	N	Mean Rank
Diameter zona hambat	DBWDP 1:1	3	6.33
	DBWDP 1:2	3	9.33
	DBWDP 2:1	3	8.33
	K-	3	2.00
	K+	3	14.00
	Total		15

Test Statistics	
	diameter zona hambat (mm)
Kruskall-Wallis H	11.583
Df	4
Asymp. Sig	0.021

Analisis :

c. Jika $p\text{-value} > 0,05$: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922

d. Jika $p\text{-value} < 0,05$: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,021 ($< 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922

5. Tabel uji *Mann-Whitney*

a. ekstrak DBWDP 1:1 dan DBWDP 1:2

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	2.67	8.00
hambat	DBWDP 1:2	3	4.33	13.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
	Diameter zona hambat (mm)
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400

b. Ekstrak DBWDP 1:1 dan DBWDP 2:1

Ranks				
Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	2.67	8.00
hambat	DBWDP 2:1	3	4.33	13.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic	
	Diameter zona hambat (mm)
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275

Ranks

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] .400

c. Ekstrak DBWDP 1:1 dan K+

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	2.00	6.00
hambat	K+ 1:1	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U .000
 Wilcoxon W 6.000
 Z -1.964
 Asymp. Sig. (2-tailed) .050
 Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] .100

d. Ekstrak DBWDP 1:1 dan K-

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:1	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

e. Ekstrak DBWDP 1:2 dan DBWDP 2:1

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	4.00	12.00
hambat	DBWDP 2:1	3	3.00	9.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700

f. Ekstrak DBWDP 1:2 dan K-

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

g. Ekstrak DBWDP 1:2 dan K+

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 1:2	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

h. Ekstrak DBWDP 2:1 dan K+ 2:1

Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 2:1	3	2.00	6.00
hambat	K+	3	5.00	15.00
(mm)	Total	6		

Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

i. Ekstrak DBWDP 2:1 dan K-

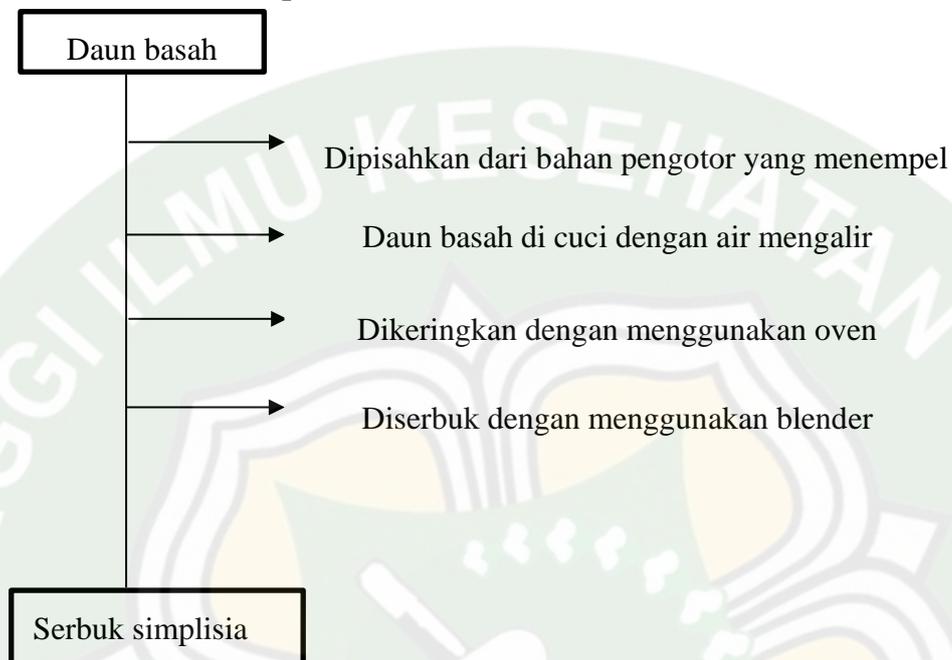
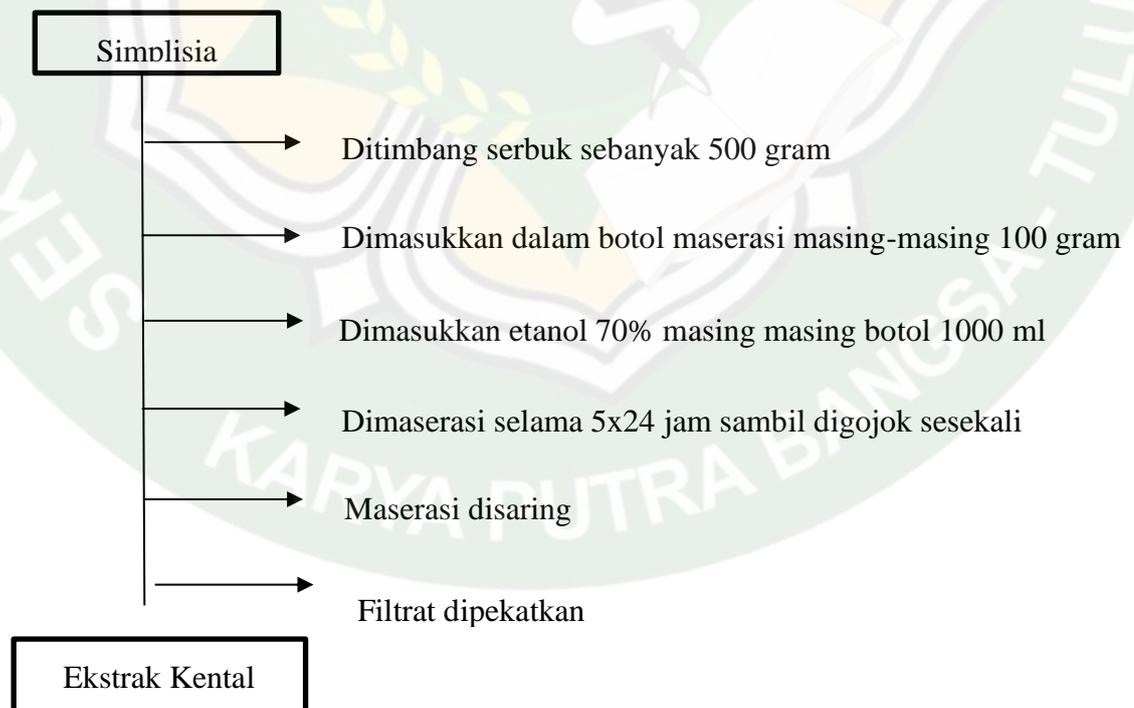
Ranks

Diameter	Konsentrasi	N	Mean Rank	Sum of Rank
zona	DBWDP 2:1	3	5.00	15.00
hambat	K-	3	2.00	6.00
(mm)	Total	6		

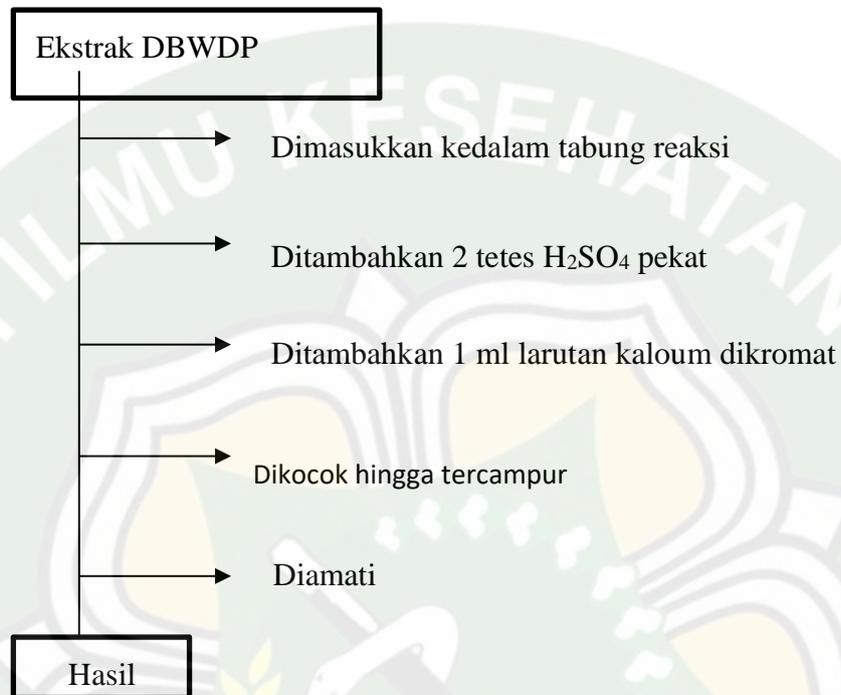
Test Statistic

zona hambat (mm)

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100

Lampiran 11. Alur kerja**1. Pembuatan simplisia****2. Pembuatan ekstrak dengan menggunakan metode maserasi**

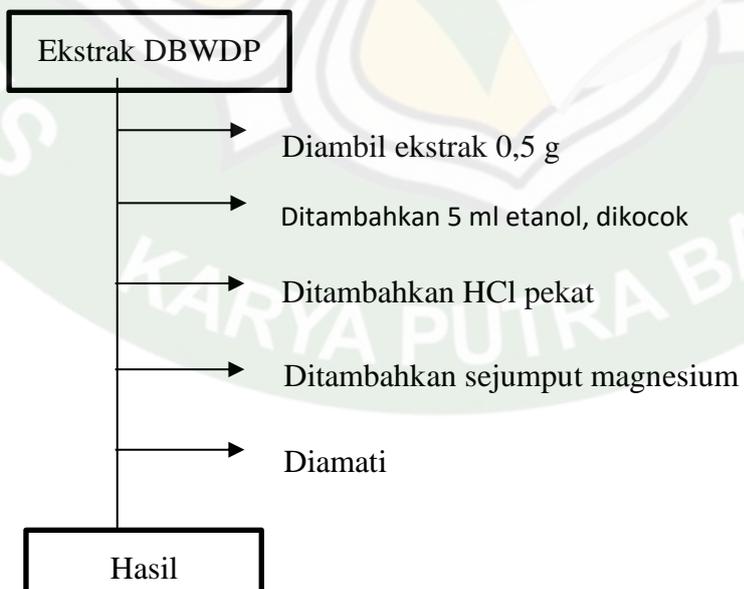
3. Uji bebas etanol



*keterangan : tidak adanya perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan menunjukkan bahwa ekstrak bebas etanol.

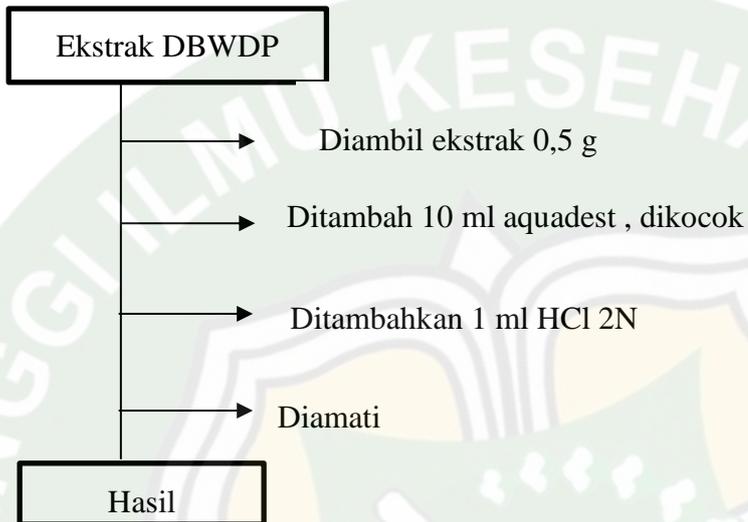
4. Skrining fitokimia

a. Flavonoid



Keterangan : positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah

b. Saponin

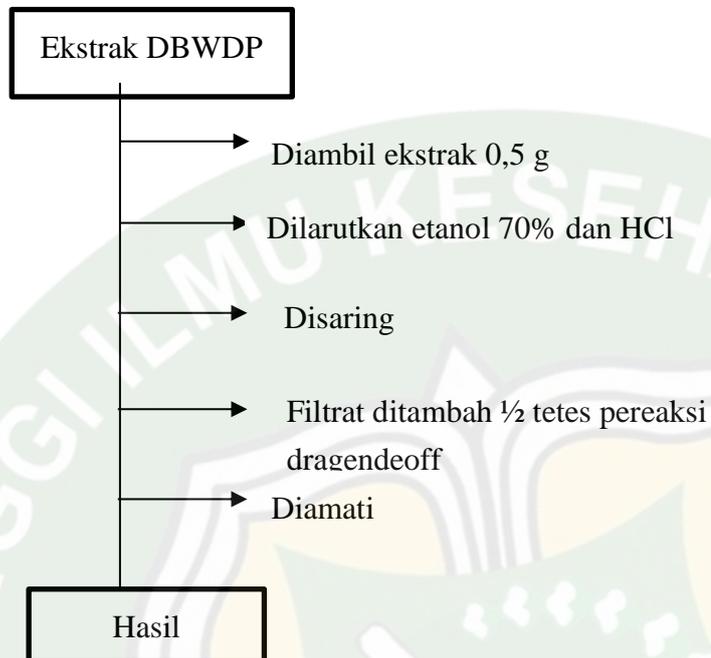


*keterangan : positif saponin dengan terbentuknya busa stabil

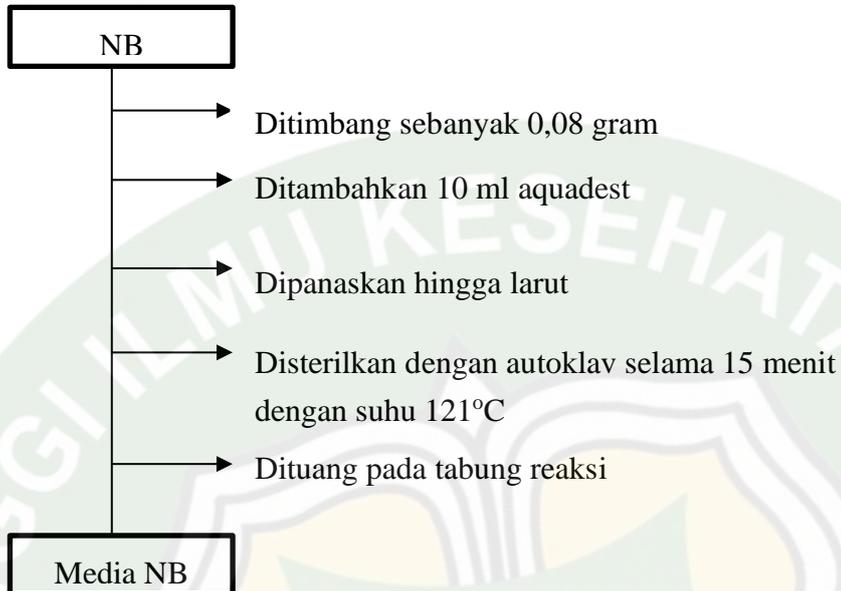
c. Tanin



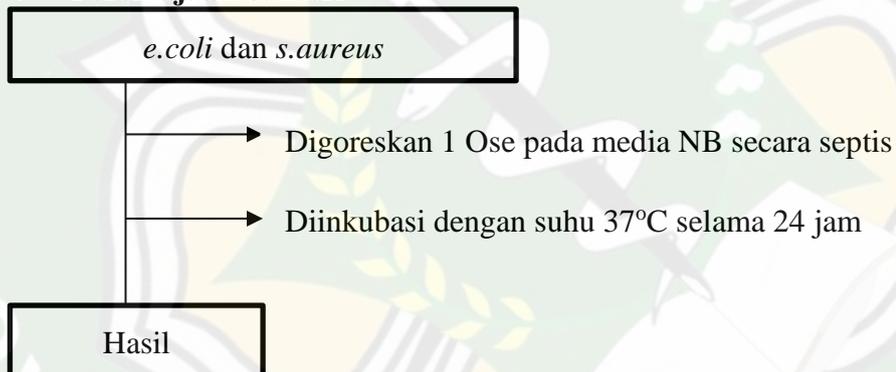
*keterangan : positif tanin ditunjukkan dengan terbentuknya larutan kuning kecoklatan

d. Alkaloid**5. Pembuatan media pertumbuhan bakteri**

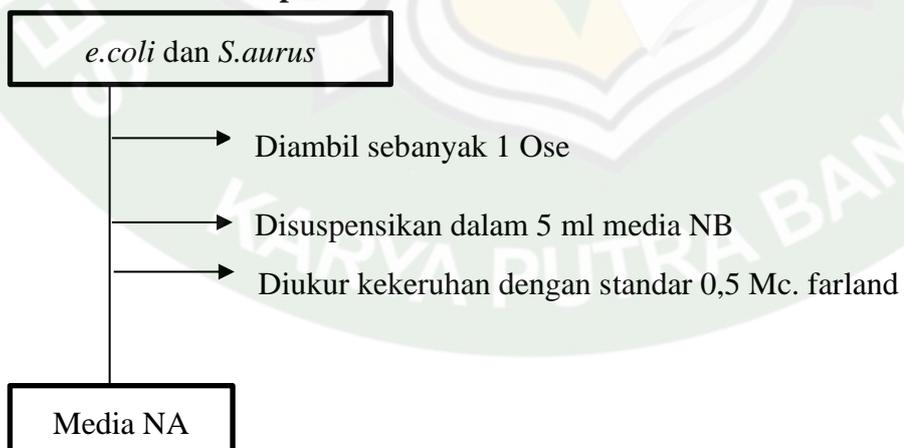
6. Pembuatan media NB



7. Peremajaan bakteri



8. Pembuatan suspense bakteri



9. Uji aktivitas antibakteri ekstrak DBWDP